

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

Calcul:

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

E_1 = extincția singelui complet hemolizat diluat 1/100

E_2 = extincția serului hemolizat diluat 1/20

E_2 = extincția serului nebratat diluat 1/20

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

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

VITEZA DE SEDIMENTARE A ERIKROCYTILOR

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

Metoda Westergren este cea mai mult utilizată.

Material și reactivi:

— seringă și ac de puncție venoasă;

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

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

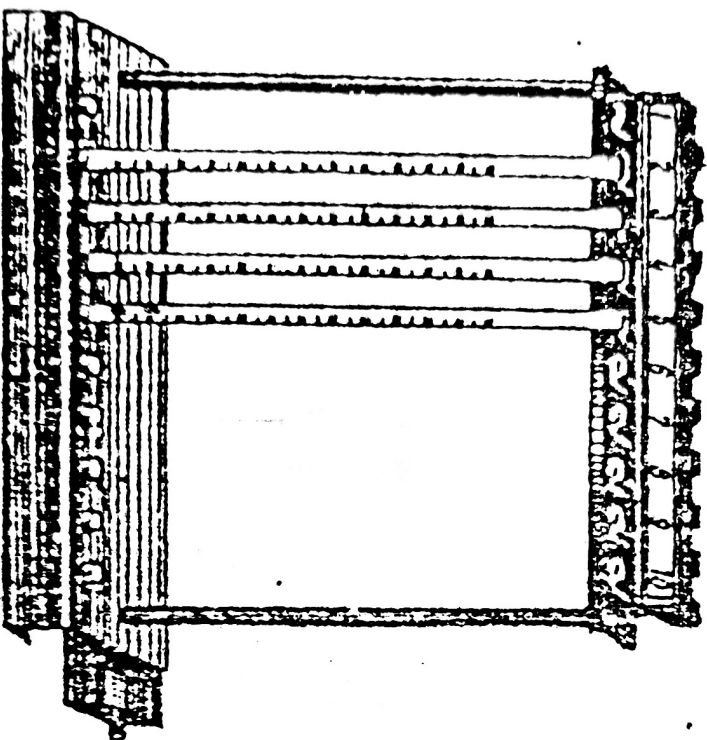


Fig. 39. Aparat Westergreen.

uscată. Se aspiră imediat 1,6 ml sînge cu ajutorul unei pipete gradate de 2 ml și se adaugă în eprubeta care conține 0,4 ml citrat 3,8%; se amestecă, se aspiră sîngele în pipeta Westergreen plină la diviziunea 0, apoi se astupă cu arătătorul partea de sus, pentru a se opri pe loc coloana de sînge. Vîrfurile pipetei se aplică pe dopul de cauciuc de la partea inferioară a stativului, iar capătul superior al pipetei se fixează în partea de sus a stativului (fig. 39). Pipeta trebuie să fie în poziție perfect verticală. Se notează ora. Citirea se face după 1 și 2 ore. Rezultatele se dau în milimetri.

Citire normale de adulți:

1 oră

bărbați: 1—10 mm
femele: 2—13 mm
copii mici și sugari:

2 ore

7—15 mm
12—17 mm
9—12 mm

Metoda colorației duble

1. Colorația Gram

- Lama se acoperă cu violet de gențiană (proaspăt filtrat, precipitate) 1 - 2 minute.

- Se îndepărtează colorantul și lama se acoperă cu lugol (de mordant); lugolul se menține pe lamă 3 minute.

- Se îndepărtează lugolul; pentru decolorare pe lamă se plou alcool - acetona amestec 3 părți alcool 96° și 1 parte acetona) și lama se spală cu apă de robinet. Se repetă de atâtea ori această decolorare pînă cînd alcool - acetona se scurge incoloră după lamă.

- Frotiul se acoperă cu fuxină 1/10 (diluată extemporaneu) 1 minut.

- Frotiul se spală cu apă de robinet; se usucă.

- Frotiul se coloră cu fuxină 1/10 (diluată extemporaneu) 1 minut.

TESTELE COAGULABILITĂȚII GLOBALE

1. TIMPUL DE COAGULARE

(Metoda Leo și White).

Materialul necesar:

- seringi și ace pentru puncția venoasă
- eprubete de coagulare
- baie de apă la 37°
- cronometru

Tehnica: se puncționează vena cu o seringă mică și se scot 1—2 ml sînge, care se trece de o parte; se demonțenează seringă de la ace și se procedează ca la coagulogramă. Se repartizează direct de la ace în două eprubete câte 1 ml sînge și eprubetele se pun în baie de 37°. Cronometrul se pornește din momentul cînd sîngele pătrunde în seringă.

Din minut în minut, eprubeta nr. 1 este citită prin înclinare la 45°, cu precauție. Timpul de coagulare este determinat în momentul cînd eprubeta poate fi complet răsturnată fără ca sîngele să se scurgă. În acest moment începe citirea eprubetei nr. 2, care, fiind lăsată nemiscată, coagulează mai tîrziu. Citirea se face tot din minut în minut. Se oprește cronometrul cînd apare coagularea în eprubeta a doua.

La individul normal coagularea în prima eprubetă apare între 6 și 10 minute, iar în eprubeta a doua, între 8 și 12 minute.

Timpul de coagulare este timpul scurs de la pornirea cronometrului pînă la apariția coagulării în eprubeta a doua.

O. U r i n a

Tehnica prelevării. Prelevarea se face în timpul eliminării spon-tane a urinei din mijlocul jetului, în condiții de asepsie după dezinfecta-rea locală a organelor genitale externe, într-un recipient cu gât larg cu capac, sterilizat la 180° , timp de o oră la pupinel sau în lipsă, prin fier-bera 30 minute.

Cantitatea de urină trebuie să fie de minimum 10 ml și să nu depă-șească $3/4$ din capacitatea recipientului.

Recoltarea sterilă a urinei cu sondă se va face numai în cazuri excepționale în spitale.

Pentru cercetarea b.Koch se recoltează aproximativ 1 litru urină,

Genul *Escherichia*

COLETTE GEORGESCU

Caractere generale, definiție, istoric. Genul *Escherichia* cuprinde germeni comensali, constituenți obișnuiți ai florei normale intestinale la om și animale, dar care în anumite condiții pot manifesta evidente caractere de patogenitate; se găsesc ubicvitar răspândiți în mediul extern (aer, apă, sol etc.). În intestinul omului, germenii joacă un rol important în sinteza unor vitamine din grupul B.

Genul *Escherichia* este format din bacili gram negativi mobili sau imobili, care pot utiliza acetatul, dar nu utilizează citratul, ca sursă unică de carbon; glucoza și alți carbohidrați sînt fermentați cu producere de piruvat ulterior convertit în acizi lactic, acetic și formic; parte din acidul formic este desfăcut de un sistem enzimatic complex — hidrogenliaza — în cantități egale de CO_2 și H_2 (Ley — 1962).

Unele tulpini sînt anaerogene. Lactoza este fermentată de majoritatea tulpinilor, dar reacția poate fi întîrziată sau absentă. Alte caractere enzimatiche sînt redate în tabelul nr. 1.

Conținutul în G + C al ADN variază între 50—51 moli %.

Specia tip: *Escherichia coli* (Migula) Castellani și Chalmers 1919, 941.

Denumirea de *Escherichia* provine de la numele lui Theodor Escherich cel care a izolat specia tip a genului (1885).

Caractere morfologice. Bacili drepecți sau ușor încurbați cu dimensiuni cuprinse între 1—3 μ lungime/0,4—0,7 μ grosime; uneori prezintă forme filamentoase (8 μ lungime) iar altele forme cocobacilare; sînt mobili datorită cililor peritrichi sau imobili; în general la izolarea din organism prezintă o mobilitate redusă; unele tulpini prezintă capsule sau structuri similare mai puțin dezvoltate (microcapsule); multe tulpini prezintă fimbrii (pili); pe baza reacției de hemaglutinare directă sau pe diferențele morfologice, tulpinile de *E. coli* pot fi clasificate în mai multe tipuri fimbriale (Duguid 1955, Brinton — 1965).

Caractere de cultură. Se dezvoltă bine pe medii simple de cultură; pe geloză pot dezvolta colonii „S” convexe, umede, cu suprafață lucioasă, margini netede, ușor emulsionabile în ser fiziologic sau colonii „R” uscate cu marginile crenelate care se emulsionează greu și neuniform în ser fiziologic; există forme intermediare între coloniile „S” și „R” după cum există și colonii mucoide („M”). Sub acțiunea unor agenți

turii în bulion simplu.

II. Identificarea b. proteus izolat din produs

Identificarea b. proteus se face în mod obișnuit prin studiul caracterelor morfo-tinctoriale de cultură și blochimo. Identificarea serologică (studiul structurii antigenice) se face numai la nivelul laboratoarelor de specialitate folosind seruri aglutinante anti "O" și seruri aglutinante anti "H".

B. proteus este un germene Gram negativ, mobil datorită cililor peritrichi. Mobilitatea se pune în evidență prin examenul între lamă și lamelă a culturilor în bulion, prin înșămânțare pe mediul multitest MTU, sau prin evidențierea fenomenului de invazie prin înșămânțare, pe medii solide cazeale (geloză simplă, geloză sînge, AABTL).

B. proteus tulbură uniform bulionul.

Pe mediile de cultură solide cu geloză simplă, geloză sînge, AABTL, b. proteus invadează suprafața mediului, caracter ce permite identificarea lui.

Pe medii selectiv-diferențiale care inhibă fenomenul de invazie (Mao Conkey, AD5CL, mediul Iatrati-Metert) b. proteus se dezvoltă sub formă de colonii izolate care nu modifică culoarea mediului, fapt datorat lipsei de fermentare a lactozel.

In mediul Istrati-Melttert sau ADCL coloniile pot avea uneori centrul negru (aspect de ochi de pisică).

B. proteus fermentează cu producere de gaz glucoza, nu fermentează lactoza, produce hidrogen sulfurat, descompune ureea, produce fenil alanin, desaminază, în general produce indol, crește pe medii cu citrat de sodiu ca unică sursă de carbon.

De subliniat importanța a două teste pentru identificarea b. proteus și anume testul ureazel și al fenil alanin desaminazel, ambele fiind pozitive la b. proteus.

Punerea în evidență a caracterelor enzimatice se face prin însușirea tulburărilor izolate pe medii speciale (T.S.I., M.I.U., mediul simon-mediu cu fenilalanină).

Caracterele biochimice permit subdivizarea genului Proteus în subtipuri biochimice: Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus morgani și Proteus retgerii.

În tabelul următor sînt redate caracterele biochimice ale subtipurilor.