

# PRELEVAREA, TRANSPORTUL, CONSERVAREA PRINCIPALELOR PRODUSE BIOLOGICE ÎN PRACTICA EPIDEMIOLOGICĂ



S.L. Dr. Luminița Bădițoiu

# Pentru o recoltare corectă

- care este produsul patologic ce poate conține germenii suspectați, în funcție de diferitele etape evolutive ale bolii;
- care este momentul optim de recoltare;
- dacă produsul biologic este în mod normal steril sau contaminat cu floră saprofită;
- care este tehnica corectă de recoltare, cu respectarea asepsiei;
- care este cantitatea necesară din acel produs patologic;
- cum trebuie să fie ambalat și transportat acel produs;
- care este timpul optim pentru a ajunge la laborator
- și cum se poate conserva, atunci când nu poate fi transportat imediat.

# Tehnica de recoltare

- Recipientul va fi inscripționat cu numele/prenumele pacientului, produsul patologic și examenul solicitat, iar în biletul de trimitere se menționează în puls, numărul foi de observație, diagnosticul prezumtiv, data/ora recoltării, eventual și alte date semnificative ce pot ghida analiza microbiologică.
- Timpul optim în care proba trebuie să ajungă la laborator este 1-2 h, în funcție de produsul patologic, dar și de germenii suspicionați.
- Produsele recoltate în practica epidemiologică pot fi secreții, excreții, fragmente de țesuturi obținute prin biopsie sau autopsie, produse alimentare, apă, aer, etc. Majoritatea probelor provin de la bolnavi, dar sunt investigați și convalescenții, putătorii sănătoși, contacții sau decedații.



# Infecții ale aparatului respirator



## Prelevarea exudatului nazal (în sinuzite, angine, portaj de germeni)

- se realizează prin ștergerea pe rând a vestibulului foselor nazale cu un tampon steril de unică folosință (câte unul pentru fiecare cavitate).
- Pacientul se poziționează cu capul în extensie și se introduce tamponul cu blândețe până atinge peretele posterior, după care se rotește ușor pentru a se încărca cu secreție nazală.
- Manevra poate fi repetată pentru a crește cantitatea de mucus recoltat.
- Ulterior, tamponul se retrage ușor, se reintroduce în tubul protector (cu sau fără mediu de transport Amies/Stuart) și se trimite la laborator în maxim 2 h.

# Infecții ale aparatului respirator



## Prelevarea exudatului faringian (în angine, scarlatină, portaj de germeni)

- se poate realiza dimineața, înainte de toaleta cavității bucale și a alimentației, sau după 3-4 h de la ingestia de alimente, periajul dentiției sau utilizarea de antiseptice orale.
- Pacientul cu capul în extensie, va deschide cavitatea bucală la maxim și va pronunța vocala A.
- Cu o spatulă sterilă (sau de unică folosință) se deprimă fața dorsală a limbii și se introduce cu grijă tamponul, fără a atinge palatul, lueta sau limba.
- Se șterge cu o mișcare circulară peretele posterior al faringelui, amigdalele palatine, insistându-se pe zonele inflamate, ulcerate sau cu depozite purulente.
- Se retrage tamponul cu precauție (pentru a nu declanșa reflexul de vomă), se reintroduce în tubul protector (cu sau fără mediu de transport) și se trimite la laborator în maxim 2 h.



# Infecții sangvine

- **Sângele** poate fi recoltat în vederea unor examinări biochimice, imunologice, hematologice sau bacteriologice (pentru izolarea bacteriilor existente în bacteremii/septicemii de etiologie diversă, febră tifoidă, endocardite, etc.).
- Hemocultura se efectuează în cazul apariției de novo a unui frison sau în cazul creșterii temperaturii corporale peste valoarea de  $38,5^{\circ}\text{C}$ , printr-o puncție venoasă nouă, evitându-se recoltarea sângelui din cateterele venoase preexistente.
- Se preferă efectuarea hemoculturii înainte instituirii tratamentului antimicrobian. Volumul optim este 10 ml de sânge per probă/respectiv 3-5 ml la copil.
- Cum majoritatea bacteriemiei sunt intermitente, o singură prelevare asigură o sensibilitate de 80%, în timp ce trei prelevări în 24 ore, asigură o sensibilitate de 100%.



# Infecții sangvine



- Puncția venoasă se realizează în plica cotului sau la nivel venelor jugulare (pentru nou-născuți sau sugari), după o antiseptizare cât mai largă cu Betadină, apoi cu alcool sanitar, pentru a lăsa tegumentul uscat.
- Personalul medical ce efectuează această manoperă va purta mănuși sterile, de unică folosință. După aplicarea garoului, se imobilizează vena cea mai evidentă cu arătătorul mâinii stângi, iar cu dreapta se puncționează în axul venei, sub un unghi de  $30^\circ$ , acul fiind cu bizoul în sus.
- La retragerea pistonului, sângele trebuie să pătrundă în seringă, în caz de poziționare corectă. Ulterior, se îndepărtează garoul, se retrage acul din venă și se exercită o presiune constantă, cu un tampon steril, până la hemostaza completă.
- După recoltare, sângele este repartizat în flacoanele de hemocultură pentru germenii aerobi, anaerobi, eventual fungi (cu dopurile dezinfectate în prealabil), agitând ușor pentru omogenizarea cu mediul.
- Aceste flacoane sunt trimise la laborator în cel mai scurt timp posibil (maxim 1 h) și introduse în sisteme automate (ex: BACTEC), unde sunt monitorizate timp de 10 zile.







# Infecții ale aparatului urinar



**Recoltarea urinii pentru urocultură** (în infecții ale tractului urinar inferior/superior) se realizează din jetul mijlociu de urină în cazul pacienților necateterizați, într-un recipient steril cu gâtul larg, identic la bărbați și femei, după o prealabilă și riguroasă toaletă locală, cu apă și săpun a organelor genitale externe.

- Se preferă prelevarea din prima urină de dimineață sau după cel puțin 4 ore de la micțiunea anterioară.
- La pacienții cu cateterizare prelungită (din cauze urologice sau neurologice), recoltarea se efectuează după decontaminarea capătului distal al cateterului, cu alcool 70%. Se recoltează 5 ml de urină cu o seringă sterilă, apoi se trece, în condiții aseptice, în urocultor. Se interzice prelevarea probei direct din punga de drenaj sau cultivarea vârfului cateterului.
- Puncția suprapubiană transcutană este rezervată cazurilor atent selecționate, fiind executată în condiții de asepsie chirurgicală. Se indică pentru identificarea infecțiilor cu bacterii anaerobe, fiind foarte eficientă în evitarea contaminării uretrale a probelor.
- Probele trebuie prelucrate în aproximativ 2 h după recoltare, pentru a se împiedica înmulțirea florei microbiene. În cazul în care nu se poate respecta această condiție, urina se păstrează la +4°C, până în momentul prelucrării.

# Infecții tegumentare

- a. **Din colecții purulente închise** (abcese, flegmoane, furuncule, hidrosadenite, etc.) - se recoltează de către chirurg la deschiderea colecției sau prin puncție aspirativă cu o seringă cu ac fin, din profunzime, după o prealabilă antisepsie a tegumentelor. Produsul se transferă într-un sistem de transport steril ce asigură anaerobioza și este trimis la laborator imediat.
- b. **Din colecții purulente deschise, fistulizate** - tegumentul intact din jur se antiseptizează cu Betadină, iar exudatul de la suprafața leziunii se șterge în prealabil cu ser fiziologic steril. Se introduce tamponul steril pe traiectul fistulei, se chiuretează cât mai profund, după care se inseră în tubul cu mediul de transport Amies și se trimite imediat la laborator.
- c. **Din secreții de plagă** (plăgi chirurgicale, ulcere cutanate, arsuri) - după o prealabilă toaletă a plăgii cu ser fiziologic steril (Betadină pentru aria circumscrisă), se învâрте vârful tamponului timp de 5 secunde pe o arie de 1 cm<sup>2</sup>, suficient de ferm pentru a provoca o ușoară sângerare, după care se introduce în tub și se asigură transportul la laborator, în maxim 1 oră.



# Infecții digestive



- **Materiile fecale** eliminate spontan, pot fi recoltate în vederea efectuării examenului coproparazitologic sau coproculturii (în parazitoze intestinale, toxiinfecții alimentare, gastro-enterite, colite, febră tifoidă, dizenterie bacilară, holeră, etc.).
- Pacientul va defeca spontan într-un recipient sterilizat prin fierbere, opărire sau autoclavare (în caz de coprocultură), fără să contamineze conținutul cu urină.
- Nu se vor folosi soluții dezinfectante ce pot împiedica dezvoltarea germenilor. Apoi se prelevează cu lingurița sterilă a coprorecoltorului, fragmente din porțiuni diferite ale scaunului sau din zone potențial patologice - cu aspect mucos, sangvinolent, purulent, riziform, în volum minim de 3 cm<sup>3</sup>.
- Fragmentele recoltate se suspensionează în mediul de transport din coprorecoltor și se trimite imediat la laborator.

# Infecții digestive



- Pentru depistarea portajului de enterobacterii patogene (*Salmonella* spp., vibriion holeric, etc.), se recoltează al doilea și al treilea scaun, după administrarea unui purgativ (15 g sulfat de magneziu în 250 ml apă, pentru adulți), cu prelevarea părții lichide ce conține flora intestinului subțire.
- La pacienții cu sindrom dizenteriform, recoltarea de fecă cu ajutorul unui tampon steril ce se introduce prin orificiul anal, sub control rectoscopic și se șterge mucoasa. După prelevare, tamponul este introdus în mediul de transport al coprorecoltorului și se trimite la laborator.
- Materiile fecale din sigmoid pot fi recoltate și cu ajutorul unei sonde Nelaton sterile, introduse 15-20 cm la adulți și aproximativ 10 cm la copil. Cu ajutorul unei seringi sterile de 10 ml, se aspiră conținutul și se decantează într-un coprorecoltor cu mediu de transport.



# Infecții digestive



- Examenul coproparazitologic are o tehnică similară cu coprocultura, cu singura diferență că nu necesită recipiente sterilizate.
- Prelevatele care nu se însămânțează pe medii de izolare, într-un interval de 2 h, trebuie supuse unui proces de conservare:
- Prin refrigerare la + 4°C, maxim 24 h;
- Utilizarea de medii speciale de transport, cum ar fi: mediul Stuart (util pentru prezervarea enterobacteriilor, dar și pentru enteropatogenii din genul *Vibrio* sau *Campylobacter*) sau mediul Cary-Blair ce asigură o bună conservare la temperatura mediului ambiant, până la 7 zile (recomandat pentru *Enterobacteriaceae* și *Vibrio* spp.).
- Mediile lichide sunt mai rar folosite în prezent, datorită transportului dificil și a prezervării inconstante a unor patogeni enterici.

# Infecții digestive

- Probele de **aspirat gastric a jeun** (utile pentru depistarea bacililor de *M.tuberculosis*, mai ales la sugari și copii mici) sau cele de **vomă**, trebuie neutralizate cu soluție de bicarbonat de Na 10%, în prezența unui indicator de pH (soluție de albastru de brom-timol).
- Tehnica recoltării probelor de vomă pentru cultură bacteriană este similară cu coprocultura din emisie spontană. Ca recipiente se folosesc plăci Petri sterile.
- Selectarea **alimentelor** pentru examinare, în cadrul unei anchete epidemiologice pentru toxiinfecție alimentară, se face în funcție de perioada de incubație (doar alimentele consumate în ultimele 72 h).



NR. .	ALIMENTUL	ETIOLOGIE POSIBILĂ
1.	Afumături (carne, păsări, pește)	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale), <i>Clostridium botulinum</i> (și neurotoxinele sale)
2.	Alimente vidate	<i>Clostridium botulinum</i> (și neurotoxinele sale), <i>Listeria monocytogenes</i>
3.	Brânză	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale), <i>E.coli</i>
4.	Carne și derivate	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale), <i>Clostridium perfringens</i> (și enterotoxina sa), <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>E.coli</i> 0157:H7
5.	Cartofi	<i>Bacillus cereus</i> (și toxinele sale), <i>Clostridium botulinum</i> (și neurotoxinele sale)
6.	Cereale și alimente din porumb	<i>Bacillus cereus</i> (și toxinele sale), micotoxine
7.	Ciorbe, supe, tocănițe	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> (și enterotoxina sa)
8.	Conserve de casă	<i>Clostridium botulinum</i> (și neurotoxinele sale)
9.	Crustacee	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>V.cholerae</i> 01
10.	Hamburger	<i>E.coli</i> 0157:H7, <i>Salmonella</i>
11.	Inghețată	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale)
12.	Lapte crud și derivate	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale), <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>

13.	Lapte praf	<i>Salmonella</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale)
14.	Maioneza	<i>E.coli</i> 0157:H7
15.	Leguminoase, boabe	<i>Clostridium perfringens</i> (și enterotoxina sa), <i>Bacillus cereus</i> (și toxinele sale)
16.	Orez	<i>Bacillus cereus</i> (și toxinele sale)
17.	Ouă, produse cu ouă	<i>Salmonella</i>
18.	Produse de patiserie cu lapte și ouă	<i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale), <i>Salmonella</i> , <i>Bacillus cereus</i> (și toxinele sale)
19.	Pește și derivate	<i>V.cholerae</i> 01, non-01, <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Morganella spp.</i>
20.	Salate de legume cu ouă sau carne/pește	<i>Staphylococcus aureus</i> (și enterotoxinele sale), <i>Salmonella</i> , <i>E.coli</i> , <i>Shigella spp.</i>



# Recoltarea alimentelor

- Din alimentele lichide se recoltează aseptically 200 ml iar din cele solide 150-200 g (mai multe fragmente cubice, din diferite regiuni și din toate straturile), în recipiente sterile, ce vor fi sigilate, etichetate și transportate la laborator.
- Eticheta trebuie să conțină:
  - Denumirea alimentului;
  - Denumirea unității;
  - Data recoltării;
  - Numărul lotului de producție;
  - Numărul procesului verbal de recoltare



# Recoltarea alimentelor



- **Laptele** - se va recolta un ambalaj ca atare sau dacă acesta depășește 1 l, se ridică o probă de 200-500 ml;
- **Preparatele din carne** - se taie aseptice 150-200 g din diferite porțiuni sau se recoltează un ambalaj întreg (în cazul concentratelor);
- **Conservelor casnice** - se prelevă un ambalaj nedesfăcut din același lot;
- **Resturile alimentare consumate** - se adună cu spatula sterilă, cât mai mult;
- Toate acestea vor fi ținute în frigider, la +4°C și trimise în geantă izotermă la laborator;
- **Alimentele congelate** - se prelevă un ambalaj întreg sau se forează/se cioplește cu instrumente sterile, în carcusele mari, în așa fel încât să existe probe atât de la suprafață, cât și din profunzime. Acestea vor fi menținute congelate, până la examinare;
- **Din orez, legume** - se iau probe de la suprafață, dar și din profunzimea ambalajului și se introduc în recipiente sterile, închise, la adăpost de umezeală.
- Toate probele trebuie să ajungă în maxim 6 h la laborator.



# Recoltarea apei



- Din **instalații centrale de apă** - se flambează robinetul, se deschide complet și se lasă să curgă apa 5-10 minute; apoi se reglează debitul astfel încât să existe o coloană de apă continuă, cu diametrul de maxim 1 cm, se scoate dopul de la flaconul steril și se umple până la 2 cm sub dop. Ulterior se închide recipientul și se etichetează. O probă conține 1-5 l apă;
- **Din rezervoare și bazine** - după scoaterea dopului, flaconul steril se introduce în rezervor/bazin, se umple până la 2 cm sub dop și se închide;
- **Din fântâni, izvoare** - proba se recoltează direct din fântână sau prin turnarea din găleată;
- Dacă apa recoltată este clorinată, înainte de sterilizarea flaconului se introduce 10 mg tiosulfat de sodiu pentru fiecare 500 ml apă de analizat;
- Etichetarea va conține obligatoriu denumirea punctului de recoltare, data /ora recoltării și numărul probei;
- Transportul spre laborator se face în lăzi izoterme, în maxim 2 h (6 h dacă se asigură o temperatură de +4°C).

# Recoltarea microaeroflorei

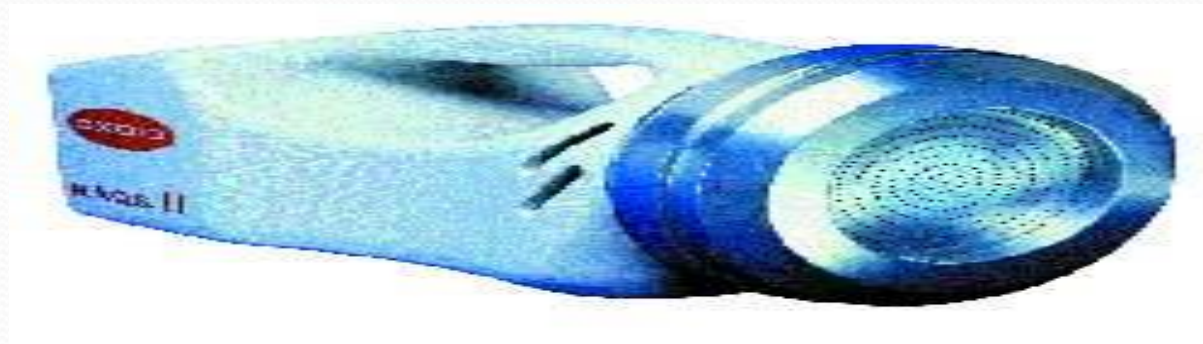
- este utilizată în practica epidemiologică în mediul nosocomial, în încăperi cu risc mare de infecție pentru pacienții asistați - săli operatorii, de naștere, compartimente de Anestezie-Terapie Intensivă, saloane de neonatologie.
- Se poate realiza prin:
  - **Metoda sedimentării Koch** - în fiecare încăpere se expun 2 seturi de cutii Petri, fiecare set cuprinzând o placă cu geloză - sânge și una cu geloză nutritivă. Primul set se poziționează în mijlocul încăperii, pe o masă, iar celălalt într-un colț, pe o noptieră/etajeră. Se ridică capacele cutiilor Petri, se așează cu deschiderea în jos și se lasă 10 minute. După expirarea intervalului, se închid și se transportă imediat la laborator.
  - **Metoda prin aspirare** - recoltarea se realizează cu ajutorul unor aparate așa cum este analizorul M.A.Q.S (Microbiological air quality sampler – Oxoid). Acest aparat presupune atașarea plăcilor Petri cu mediu de cultură într-un adaptor special, aerul este aspirat cu o viteză între 0,5-2 l/s, fiind analizat un volum cuprins între 1-999 litri. Ulterior, după incubare, se numără coloniile iar numărul de germeni se calculează după o formulă matematică.





# Recoltarea microaeroflorei

- Numarul total de germeni/m<sup>3</sup> aer **nu trebuie sa depaseasca 500-1500 dupa gradul de activitate din incapere, inceputul sau sfarsitul zilei de lucru.**
- In salile de operatii (in timpul lucrului), in saloanele de nou-nascuti si sugari se admit **maximum 300 germeni/m<sup>3</sup> aer, cu absenta florei hemolitice.**
- **Nu se admite nicio colonie de stafilococ coagulazo-pozitiv sau streptococ  $\beta$ -hemolitic per placă.**

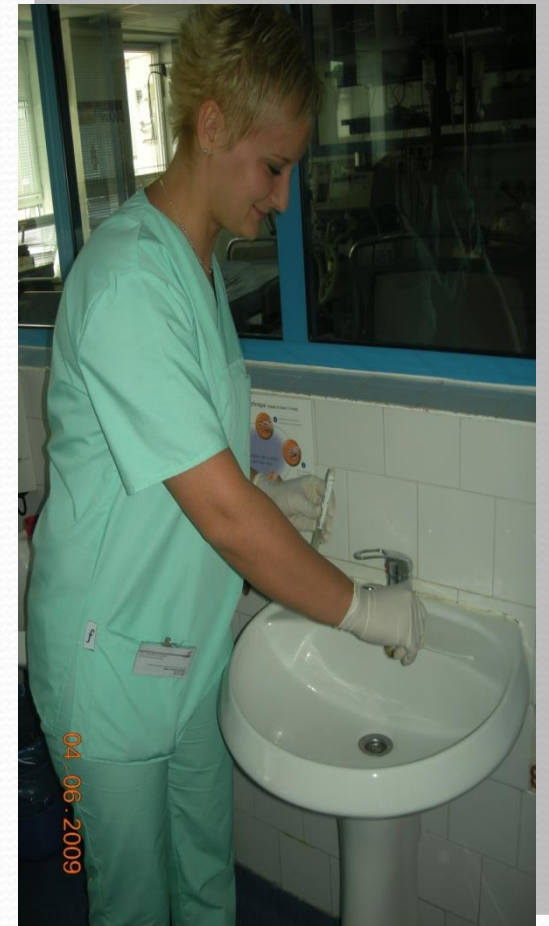






# Controlul microbiologic al suprafețelor și materialului moale

- se practică pentru mese, noptiere, tăbliile paturilor, pereții de faianță, lenjerie, etc.
- Dacă suprafețele au fost dezinfectate anterior, recoltarea va fi efectuată numai după expirarea timpului de contact.
- **Cu un tampon steril umezit în 1 ml de ser fiziologic, se șterge o suprafață de 25 cm patrati;**
- Se trece tamponul atât orizontal, cât și vertical, cu rotire concomitentă, apoi se introduce în tubul protector, agitându-se puternic pentru omogenizarea concentrației microbiene, se etichetează și se trimite la laborator, în maxim 2 h.
- Ata de sutura, catgut-ul și compresele vor fi insamantate în bulion simplu și bulion thioglicolat.



# Controlul microbiologic al suprafețelor și materialului moale

- Nu se admite nicio colonie de stafilococ coagulazo-pozitiv, *E.coli* enteropatogen sau *Proteus* spp. per cm<sup>2</sup>.
- Interpretare: Se considera curata o suprafata/un material moale pe care se dezvoltă sub 5 colonii/cmp și nu sunt prezenti germeni patogeni.

## ATP Bioluminescence Method



Step 1

Use special swab  
to sample surface



Step 2

Place swab in  
reaction tube



Step 3

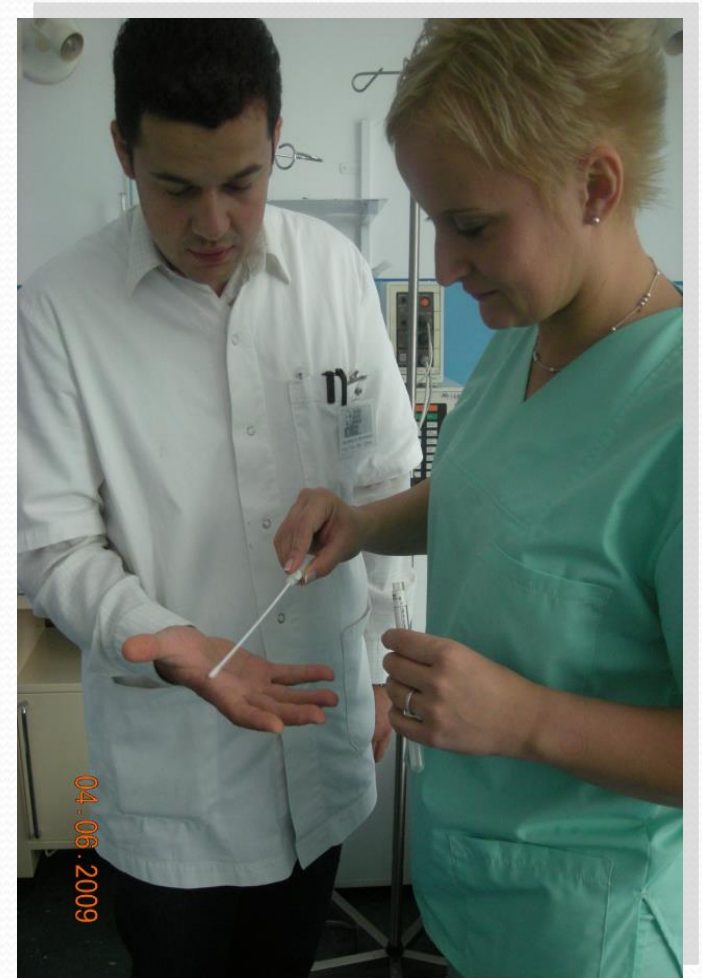
Place tube in luminometer  
Results: Relative Light Units





# Controlul tegumentelor personalului medical

- sunt vizate cel mai frecvent mâinile, cunoscut fiind faptul că constituie cea mai uzuală cale de transmitere a germenilor, în mediul nosocomial.
- Cu un tampon steril umezit în 1 ml de ser fiziologic, se șterge suprafața palmară a mâinii drepte, inclusiv degetele, insistând asupra spațiilor interdigitale sau periunghiale.



# Controlul tegumentelor personalului medical

- Se raporteaza unitati formatoare de colonii per proba.
- Se raporteaza prezenta *Escherichia coli*; *Proteus*; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas spp.*; *Klebsiella spp.*; *Acinetotobacter*; *Enterococcus rezistent la vancomicina*.
- Se considera o mana curata aceea la care:
  - a)incarcatura microbiana **nu este mai mare de 100 UFC/ml** pentru personalul ingrijitor si infirmiere;
  - b)incarcatura microbiana **nu este mai mare de 40 UFC/ml** pentru personalul medical mediu si superior;
  - c)incarcatura microbiana **nu este mai mare de 10 UFC/ml** pentru personalul care trebuie sa efectueze interventii aseptice;
  - d)nu trebuie sa contina germeni patogeni;
  - e)la germenii patogeni izolati se va efectua, la cerere , testarea rezistentei la antibiotice.



# Bibliografie

- Roxana Moldovan și colaboratorii. Îndreptar de lucrări practice, Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara, LITO 2002: 38-44
- D.Buiuc, G.Coman, M.Neguț. Microbiologie clinică, Editura Didactică și Pedagogică R.A., București 1998: 239-246; 392-399
- \*\*\* ORDIN Nr. 961/02.09.2016 pentru aprobarea Normelor tehnice privind curatarea, dezinfectia și sterilizarea în unitățile sanitare publice și private, tehnicile de lucru și interpretare pentru testele de evaluare a eficienței procedurii de curățenie și dezinfectie, procedurilor recomandate pentru dezinfectia mainilor, în funcție de nivelul de risc, metodelor de aplicare a dezinfectantelor chimice în funcție de suportul care urmează să fie tratat și a metodelor de evaluare a derulării și eficienței procesului de sterilizare