DIAMEDIX Diagnostica
www.diamedix.ro

ELTA '90 MR

Diagnostic Design HEMATROM

SANTE

Medicină de laborator

2013 MEDICAL market

310 Supply

Din sumar

ELF – primul test de laborator complet automat 4

Rolul laboratorului în diagnosticul trombofiliei 15

Diagnosticul serologic în infecțiile microbiene 20

6 Agenții etiologici ai bolilor cu transmitere sexuală

16 Efectul instruirii asistenților medicali și a pacienților suspecți de tuberculoză

21 Examenul parazitologic

BIO Supply

Furnizor de reactivi, echipamente , consumabile și service pentru laboratoarele de biologie moleculară și imunologie, aplicând o politică bazată pe calitatea înaltă a produselor și serviciilor și flexibilitatea în întâmpinarea nevoilor clienţilor.

Distribuitor exclusiv în România pentru:

BIOFIRE DIAGNOSTICS, INC.

inno-train DIAGNOSTIK GMBH

IMPLEN

hygiena INTERNATIONAL

LIFECODES + IMMUCOR GAMMA

Lifecodes Fluoroanalyzer

BIO SUPPLY oferă o gamă variată de kit-uri și consumabile pentru HLA, secvenţiere, RT-PCR pentru detecţia patogenilor (virusuri, bacterii, fungi și paraziţi) și tehnologia Hi-Res Melting (teste pentru scanarea genelor pentru: cancer, metabolism, markeri cardiaci, hemostază, enzime de transport metabolizante de medicamente, flavine conţinând monooxygenaze, glutathione-S-transferaze,neuronale ,familia "solute carrier".

De asemenea comercializează teste pentru monitorizarea gradului de curăţenie în spitale (săli de operaţie, ATI, saloane) cu ajutorul testelor bazate pe tehnologia ATP (Hygiena International-UK) .

IQNet CERTIFIED MANAGEMENT SYSTEM

SRAC Certificat Nr 4400 ISO 9001

BIO SUPPLY
Adresa: Str. Vlaicu Vodă, Nr.4, Bl. C14, Ap.14, Sector 3, Bucureşti, România, P.O.4 Box 31
Telefon: +40 21 322 85 98; +40 31 40 85 191
Mobil: +40 721 62 64 21
Fax: +40 21 322 85 98
e-mail: office@biosupply.ro

Din sumar

10 Locul laboratorului clinic în medicina translațională

12 Utilitatea clinică a determinării calciului urinar

6 Agenții etiologici ai bolilor cu transmitere sexuală

EDITOR FIN WATCH
Aleea Negru Vodă nr.6, bl. C3, sc. 3, parter, 030775, sector 3, București
Tel: 021.321.61.23
Fax: 021.321.61.30
redactie@finwatch.ro
P.O. Box 4-124, 030775
ISSN 2286 - 3362

ELF – primul test de laborator complet automat

pentru testarea neinvazivă prin markeri direcți a fibrozei hepatice

În România, Euro Hepatitis Index Report 2012[1] a identificat cea mai mare prevalență a hepatitei cronice (11% din populație) dintre toate țările spațiului european– de aceea, evaluarea în condiții optime pentru bolnav a progresului fibrozei hepatice a devenit o condiție necesară pentru reducerea riscului evoluției spre ciroză și cancer hepatic. SIEMENS Healthcare Diagnostics propune un test de laborator precis care combină rezultate serologice cantitative pentru evaluarea neinvazivă a stadiului de fibrozare hepatică.

Metoda de referinţă actuală pentru evaluarea fibrozei hepatice este biopsia hepatică. Totuşi, problemele generate de obţinerea probei de biopsie hepatică (metoda fiind invazivă şi cu potenţial letal), subiectivismul metodei precum şi limitările[2,3] ca de exemplu lipsa de predicţie a stadiului fibrozei la nivelul întregului parenchim hepatic dar şi diferenţele anatomice dintre cei doi lobi hepatici au subliniat necesitatea perfecţionării unei alternative pentru evaluarea fibrozei hepatice.

Acestor noi metode li s-a impus satisfacerea unor criterii esenţiale, ca: neinvazivitatea, capacitatea de a evalua cât mai exact funcţia hepatică dar şi posibilitatea de a fi repetate oricând în cursul monitorizării pacienţilor, această ultimă caracteristică garantând folosirea acestor metode pentru evaluarea progresiei bolii hepatice, a prognosticului dar şi pentru monitorizarea tratamentului.

Înca din 2011, EASL (Asociaţia Europeană pentru Studiul Ficatului) a introdus metodele neinvazive în ghidurile practice de diagnostic clinic, aratând că[4]: **„Metodele neinvazive pot fi acum folosite în locul biopsiei hepatice la pacienţii cu hepatită cronică C pentru a evalua severitatea bolii hepatice înainte de tratament, la un nivel sigur de predicţie".**

Metodele actuale neinvazive pentru estimarea gradului de fibrozare hepatică sunt de două categorii: imagistice (ecografia abdominală, elastografia, tomografia, RMN) şi serologice. Studiile clinice au demonstrat că metodele serologice au o valoare de diagnostic superioară metodelor imagistice cu ultrasunete[3].

Metodele serologice folosesc markeri direcţi sau markeri indirecţi. SIEMENS Healthcare Diagnostics este singurul furnizor de echipamente de referinţă automate atât pentru testele serologice indirecte (nefelometrele BN ProSpec şi sistemele integrate Dimension Xpand Plus) cât şi pentru testele serologice directe – testul ELF (cu analizoarele automate ADVIA Centaur CP şi XP).

Testul ELF (Enhanced Liver Fibrosis) combină rezultatele testării cantitative dintr-o singură probă de sânge (ser) a unor markeri direcţi ai fibrozei hepatice: acidul hialuronic (HA), peptida aminoterminală a procolagenului de tip III (PIIINP) şi inhibitorul tisular al metaloproteinazei 1 (TIMP-1), standardizaţi şi măsuraţi automat pe un singur sistem de analiză (SIEMENS ADVIA Centaur CP sau XP). Cele trei rezultate (HA, PIIINP şi TIMP-1) sunt combinate într-un algoritm matematic care calculează „Scorul ELF" – cu ajutorul căruia fibroza hepatică se clasifică în trei categorii: scor ELF mai mic de 7,7 (fibroză absentă sau minimală); scor ELF mai mare de 7,7 dar mai mic de 9,8 (fibroză moderată); scor ELF mai mare de 9,8 (fibroză severă). Gradele de fibroză sunt stabilite în corelaţie directă cu biopsia (scorul METAVIR). Pentru calcularea scorului ELF conectarea la o bază de date externă nu este necesară, calculul fiind făcut în cadrul laboratorului clinic.

Algoritmul de calcul al testului ELF a fost validat în studii internaţionale multi-centrice în care au fost implicate 13 clinici europene[3], studii tip cohortă cu pacienţi bolnavi de hepatită cronică cu HCV, ciroză alcoolică şi cu steatoză hepatică de etiologie non-alcoolică (NAFLD). Pe toate grupele de pacienţi investigate, scorul ELF a reuşit să furnizeze estimări ale gradului de fibroză hepatică în bună concordanţă cu biopsia hepatică, nefiind influenţat de tipologia individuală: sex, vârstă, greutate, înalţime etc. Sunt de menţionat studiile ulterioare care au indicat acuratețea predicţiei prin scor ELF şi la copiii cu NAFLD[5]. Chiar şi în bolile hepatice autoimune (dintre care menţionăm ciroza biliară primitivă) scorul ELF a furnizat o valoare de prognostic utilă pe termen lung, prin estimarea neinvazivă a severităţii bolii[6].

O comparaţie directă a scorului ELF cu biopsia (scor Ishak) a demonstrat printr-un studiu tip cohortă realizat timp de 7 ani gradul superior de predicţie negativă al ELF faţă de biopsie (97 faţă de 93%)[7].

Deasemenea, monitorizarea tratamentului antiviral al hepatitei cronice cu HCV prin testul ELF a arătat scăderea severităţii fibrozei hepatice[8].

În concluzie, testul ELF permite estimarea neinvazivă a gradului de fibroză hepatică, pentru toate stadiile de fibroză, la nivelul laboratorului clinic – prin teste de rutină cantitative, dintr-o singură probă de sânge, neinfluenţate de tipologia individuală (sex, vârstă, greutate etc.) – fiind folositor atât la furnizarea de valori de prognostic cât şi la monitorizarea eficienţei tratamentului antiviral asupra refacerii hepatocitului.

Ing. Fiz. Florin Moise, *Diamedix Impex SA*

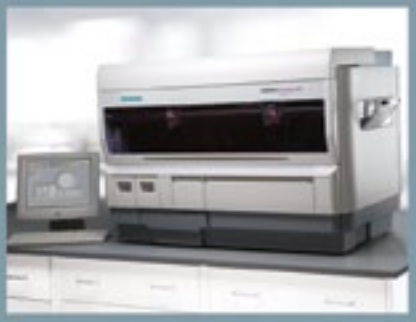
Bibliografie

1) Cebolla B., Björnberg A.: „Euro Hepatitis Index 2012 Report", © Health Consumer Powerhouse AB, 2012
2)Caruntu F., Ciurea T., Calangiu M.C., Popa B.: „Evaluarea comparativă a tehnicilor noninvazive şi invazive în diagnosticul fibrozei hepatice" Inst. Matei Bals – programe de cercetare
3) Friedrich-Rust M., Rosenberg W., Parkes J., Herrmann E., Zeuzern S., Sarrazin C.: „Comparison of ELF, FibroTest and FibroScan for the non-invasive assessment of liver fibrosis", BMC Gastroenterology 2010, 10:103
4) European Association for the Study of the Liver: „EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection", Journal of Hepatology 2011 vol. 55, 245–264
5) Nobili V., Parkes J.,...: „Performance of ELF Serum Markers in Predicting Fibrosis Stage in Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease", Gastroenterology 2009, 136:160-167
6) Mayo M., Parkes J., ...: „Prediction of Clinical Outcomes in Primary Biliary Cirrhosis by Serum Enhanced Liver Fibrosis Assay"; Hepatology 2008; 48: 1549-1557
7) Siemens Healthcare Diagnostics Inc:„Prevalence: Liver Related Events in the ELF Cohort over 7 years", 2011
8) Martinez S., Fernandez-Varo G.: " Assessment of Liver Fibrosis before and after antiviral therapy by different serum marker panels in patients with chronic hepatitis C"; Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 2011

ADVIA CENTAUR: Soluţia SIEMENS pentru investigarea funcţiei hepatice

Testul ELF – alternativa noninvazivă a biopsiei hepatice

(Enhanced Liver Fibrosis)



- Primul test complet automat ce foloseste markeri direcţi pentru diagnosticul fibrozei hepatice
- Standardizarea testelor realizate: acid hialuronic (HA), peptida amino terminala a procolagenului de tip III (PIIINP) si inhibitorul tisular al metaloproteinazei 1 (TIMP-1)
- Test neinvaziv din ser.
- Metodă validată clinic pentru fibroza hepatică la grupurile de pacienţi cu HCV şi NAFLD

Testul ELF a fost validat clinic într-un studiu internaţional multicentric descoperindu-se ca diferentiază cu acuratete fibroza uşoară, moderată sau severă fiind cel putin la fel de relevant ca biopsia.

Calculul scorului ELF

Rezultatele obţinute pentru HA, PIIINP şi TIMP-1 cu ADVIA Centaur sunt folosite pentru obţinerea scorului ELF conform următorului algoritm

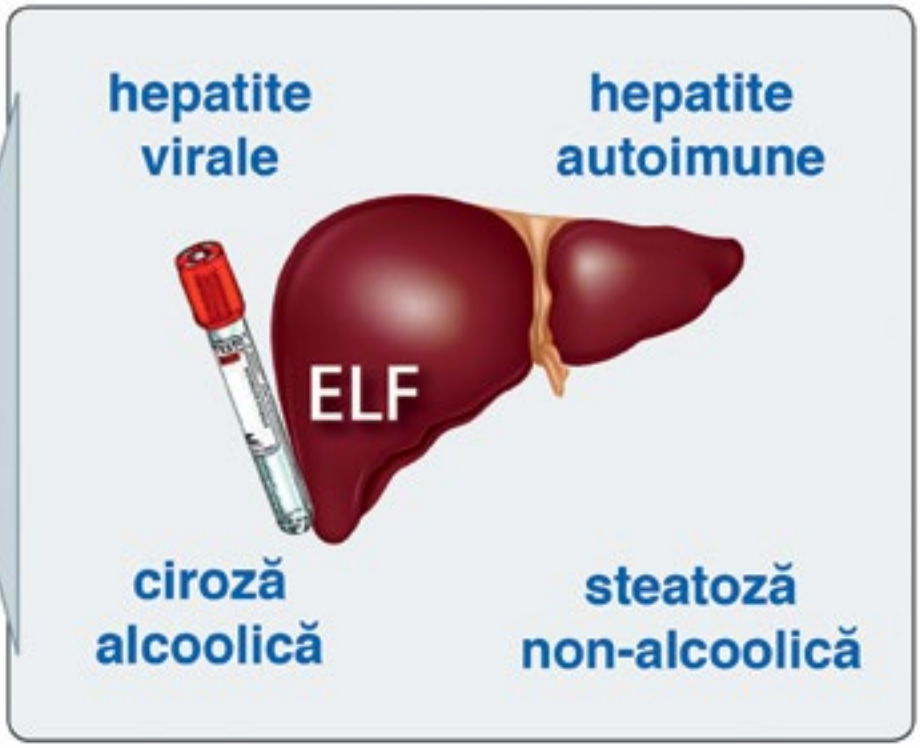
ADVIA Centaur and Centaur XP:

$$\text{Scor ELF} = 2.278 + 0.851 \ln(C_{HA}) + 0.751 \ln(C_{P3NP}) + 0.394 \ln(C_{TIMP1})$$

ADVIA Centaur CP:

$$\text{Scor ELF} = 2.494 + 0.846 \ln(C_{HA}) + 0.735 \ln(C_{P3NP}) + 0.391 \ln(C_{TIMP1})$$

- Selectarea pacienţilor înaintea biopsiei
- Prognosticul şi progresia bolii
- Monitorizarea progresiei bolii
- Monitorizarea tratamentului



SIEMENS

DIAMEDIX Diagnostica
www.diamedix.ro

Bucureşti: Intrarea Sectorului nr. 20, sector 3, cod 030353
Tel/fax: 021.66.888.66/ 67 / 68 / 69 /70; 0372.730.355
e-mail: office@diamedix.ro

Agenții etiologici ai bolilor cu transmitere sexuală

Infecțiile din sfera genitală, atât la femei cât și la bărbați, sunt în majoritatea cazurilor boli cu transmitere sexuală (BTS).

Prevenirea, diagnosticul şi tratamentul BTS pot fi uneori dificile din cauza evoluţiei asimptomatice în unele cazuri (mai frecvent la femei) şi a prezentării la medic abia când cronicizarea a determinat complicaţii locale sau sistemice. De aceea, cunoaşterea afecţiunilor din cadrul BTS şi elaborarea unui program de prevenţie eficientă prin acţiuni de screening sunt deosebit de importante.

Principalele BTS pot fi clasificate schematic astfel:

A. Afecţiuni manifestate prin leziuni ulcerative la nivel genital:
1. Infecţia herpetică
2. Şancrul moale
3. Sifilisul

B. Afecţiuni manifestate prin uretrite/cervicite:
1. Gonococice
2. Nongonococice: infecţii cel mai frecvent produse de: Chlamydia trachomatis
   - Ureaplasma urealiticum
   - Mycoplasma hominis/genitalium

C. Afecţiuni manifestate prin vaginită/vaginoză produse de:
1. Gardnerella vaginalis
2. Trichomonas vaginalis
3. Candida spp

D. Infecţia HIV

E. Infecţia produsă de HPV (Human papilloma virus)

F. Infecţiile cu virusuri hepatitice: HVB, HVC

G. Boală inflamatoare pelviană

H. Epididimita

I. Afecţiuni produse de ectoparaziţi:
- Pediculoza
- Scabia

Probele biologice recoltate în scopul diagnosticării infecţiilor din cadrul BTS sunt:
1. probe sanguine(ser)
2. secreţie endocervicală/vaginală
3. secreţie uretrală

Condițiile generale de recoltare a secrețiilor genitale sunt:

- pentru secreţia uretrală: se recoltează cu cel puţin 1 oră înaintea golirii vezicii urinare, de preferat dimineaţa, din aşanumita "picătură matinală", prin introducerea unui tampon steril sau a unei anse sterile în uretra anterioară, cca 2-4 mm;
- pentru secreţia vaginală/endocervicală: cu ajutorul unui tampon steril, din secreţia din fundul de sac vaginal sau din endocol.

Condiții care pot influența calitatea probei recoltate:

- duşul intravaginal cu 24 ore înainte de recoltare scade şansele izolării germenului responsabil de apariţia BTS;
- urinarea cu mai puţin de 1 oră înaintea recoltării scade secreţia uretrală;
- contact sexual în ultimele 48 ore înaintea recoltării;
- menstra;
- întârzierea transportării la laborator a probelor recoltate şi a efectuării frotiurilor şi a însămânţării pe medii de cultură specifice.

A. Afecţiuni caracterizate prin ulcer genital

Pacienţii tineri, activi sexual, care se prezintă la medic pentru ulcer genital, trebuie investigaţi pentru infecţia herpetică, sifilis sau şancru moale, cele mai frecvente cauze ale ulceraţiei din sfera genitală.

1. Herpesul genital este o infecţie virală, cu evoluţie cel mai frecvent cronică, determinată de virusul herpetic tip 2-HSV-2.

Diagnosticul de laborator se realizează prin:
- culturi celulare - este testul standard, putând identifica până la 90% dintre persoanele infectate;
- detecţie and viral prin metoda PCR (polymerase chain reaction);
- teste serologice: titrarea anticorpilor anti-HSV de tip IgG şi IgM, prin metode ELISA.

2. Sifilisul este o infecţie sistemică, cauzată de Treponema pallidum, putând evolua în diferite stadii: infecţie primară, secundară, terţiară sau latentă.

Pentru diagnosticul de laborator se folosesc:
- teste serologice nontreponemice: VDRL.RPR
- teste serologice treponemice: TPHA, FTA-ABS, EIA, imunofluorescenţa directă.

Pentru diagnosticare sunt obligatorii, pe lângă testele nontreponemice, de screening, care pot da rezultate fals pozitive, testele treponemice, de certitudine.

3. Șancrul moale este determinat de infecţia cu Haemophylus ducreyi, mai frecvent în anumite zone endemice. Diagnosticul de laborator include efectuarea de culturi şi/sau PCR şi este completat de diagnosticul clinic (limfadenopatie regională tipică, leziuni caracteristice) şi excluderea altei etiologii.

B. Afecţiuni caracterizate prin uretrite/cervicite

Uretritele, procese inflamatorii ale uretrei, pot fi infecţioase sau noninfecţioase. Uretritele infecţioase pot fi:

- gonococice, determinate de Neisseria gonorrhoeae,
- nongonococice, determinate de infecţii cu:
- Chlamydia trachomatis,
- Ureaplama urealyticum,
- Mycoplasma genitalium,
- Trichomonas vaginalis,
- HSV-tip 2,
- adenovirusuri.

Diagnosticul de laborator cuprinde diagnosticul de uretrită şi diagnosticul etiologic.

Diagnosticul de uretrită se pune prin:

- coloraţia Gram-test microscopic, preferat ca test rapid de screening, pune în evidenţă >5 PMN/câmp;
- testul esterazei leucocitare pozitiv, efectuat din prima urină de dimineaţă;
- prezenţa a mai mult de 10 PMN/câmp în sedimentul urinar.

Diagnosticul etiologic se realizează prin:

- coloraţia Gram, prezenţa cocilor Gram negativi, in diplo, intraleucocitari indică infecţia gonococică,
- culturi,
- PCR,
- ELISA,
- EIA etc.

Cervicitele, exprimate clinic prin secreţie endocervicală mucopurulentă/purulentă şi posibilă sângerare endocervicală, frecvent intermenstruală, sunt afecţiuni relativ frecvente.

În etiologia cervicitelor, cele mai frecvente microorganisme incriminate sunt similare cu cele care determină uretrite.

Infecţia gonococică produsă de Neisseria gonorrhoeae este a doua afecţiune ca frecvenţă dintre BTS, după infecţia cu Chlamydia trachomatis. Boala este frecvent asimptomatică la femeie, putând determina complicaţii cum ar fi boala inflamatoare pelviană, infertilitatea, sarcina ectopică.

Diagnosticul de laborator se realizează prin: examinare microscopică, coloraţie Gram prin evidenţierea cocilor Gram negativi, in diplo intraleucocitari; culturi; identificare serologică; PCR.

Infecţia clamidiazică, produsă de Chlamydia trachomatis, este cea mai frecventă dintre BTS, determinând până la 50% dintre infecţiile nongonococice. Evoluţia este frecvent asimptomatică. Diagnosticul se realizează prin izolare în culturi, EIA, imunofluorescenţă directă, PCR din secreţie endocervicală/vaginală sau urina prim jet.

C. Afecţiuni manifestate prin vaginită/vaginoză

Vaginitele sunt caracterizate uzual prin inflamaţia vaginului şi prezenţa leucoreei (secreţie vaginală abundentă)cu aspect diferit în funcţie de etiologie, în general urât mirositoare.

Cele trei etiologii mai frecvent întâlnite în vaginite sunt:

- Gardnerella vaginalis, modificările determinate fiind cunoscute sub denumirea de vaginoză;
- Trichomonas vaginalis;
- Candida spp., cel mai frecvent întâlnită fiind Candida albicans;

Diagnosticarea vaginitelor se realizează prin:

- determinarea pH-ului secreţiei vaginale; pH >4.5 este întâlnit în vaginoză şi tricomoniază;
- testul cu soluţie 10%KOH generează un miros caracteristic, specific în vaginoză;
- examinare microscopică - preparatul proaspăt din secreţie vaginală permite identificarea clue-cells, caracteristice vaginozei, a Candidei şi a T. vaginalis (protozoar mobil);
- cultura;
- PCR.

D. Infecţia HIV produce o serie de manifestări simptomatice multiple, de la starea de infectat HIV până la SIDA, cu o progresie variabilă. Infecţia HIV este diagnosticată uzual prin evidenţierea anticorpilor anti-HIV 1+/-anti-HIV 2 şi a antigenului p24. Există teste de screening (teste rapide, EIA, chemiluminiscenţă), dar obligatoriu testele de screening trebuie completate de teste de confirmare (Western blot, IFA, PCR).

Anticorpii anti-HIV sunt detectaţi în 95% dintre cazuri la 3 luni de la infecţie. Un test negativ nu poate exclude o infecţie

recentă, de aceea fiind necesară o retestare la 6 luni.

Testarea HIV este voluntară și este efectuată doar după ce pacientul este informat asupra testului și își dă acordul. Femeile gravide sunt testate HIV în primul trimestru de sarcină, odată cu luarea în evidență a gravidei, permițând în cazul gravidelor HIV pozitive instituirea tratamentului antiretroviral, care reduce riscul transmiterii prenatale la <2%.

E. Infecţia HPV. Există mai mult de 100 de tipuri de HPV, dintre care mai mult de 30 de tipuri pot determina infecţii genitale, majoritatea cu evoluţie asimptomatică sau subclinică.

Tipurile HPV cu risc înalt oncogen cel mai frecvent întâlnite sunt: 16, 18, 31, 33, 35 și sunt asociate frecvent cu cancerul cervical.

Diagnosticul infecţiei HPV se bazează pe detecţia AND-ului viral și genotiparea acestuia prin metoda PCR.

Produsul biologic recoltat este reprezentat de secreţia endocervicală la femei și secreţia uretrală la bărbaţi, recoltate cu ajutorul unor periuţe speciale.

Indicaţiile pentru depistarea HPV sunt: obţinerea unui rezultat ASC-US la examenul Papanicolau, biopsie anormală din sfera genitală, context clinic sugestiv de infecţie HPV, parteneri sexuali ai persoanelor cu infecţie HPV.

F. Virusurile hepatitice tip B-VHB și C-VHC se transmit prin contactul mucoaselor cu sânge infectat cu VHB sau VHC sau cu alte fluide ale organismului (spermă, secreţie vaginală).

Infecţia VHB are o perioadă de incubaţie cuprinsă între 6 săptămâni și 6 luni, crescând astfel riscul transmiterii infecţiei înainte de a fi diagnosticată.

Diagnosticarea infecţiei VHB se realizează prin teste serologice, care urmăresc mai mulţi markeri virali:

- Antigenul HBs - prezent în infecţia acută; persistenţa peste 6 luni indică riscul de cronicizare;
- Anticorpi IgM anti-HBc - prezenţi în infecţia acută sau recentă;
- Anticorpi anti-HBc totali - prezenţi în infecţia acută/cronică sau vindecată;
- Anticorpi anti-HBs - indică vindecarea sau este marker al imunizării postvaccinale.

Infecţia VHC – transmiterea sexuală a VHC este controversată, dar este dovedită asocierea frecventă a infecţiei VHC cu alte BTS. Diagnosticul infecţiei VHC este serologic, urmărind evidenţierea anticorpilor anti-VHC prin teste screening urmate de teste de confirmare.

G. Boala inflamatoare pelviană include un spectru larg de afecţiuni inflamatorii ale tractului genital înalt feminin: endometrite, salpingite, abces tubo-ovarian și peritonită pelvică. Microorganisme transmise sexual, în special N. gonorrhoeae și C. Trachomatis, sunt implicate în multe cazuri; alţi germeni, prezenţi în flora vaginală, pot fi asociaţi cu boala inflamatoare pelviană: anaerobi, G. vaginalis, Haemophilus influenzae, bacili enterici Gram negativi, Streptococcus agalactiae.

Etiologia extrem de variată face ca diagnosticul de laborator în boala inflamatoare pelviană să fie obligatoriu completat de investigaţii laparoscopice, ecografie transvaginală, biopsie endometrială.

H. Epididimita, inflamaţia epipidimului, este frecvent determinată de C. trachomatis sau N. Gonorrhoeae, dar pot fi implicate și alte microorganisme, cum ar fi bacili enterici. Diagnosticul de laborator urmărește identificarea acestor germeni în secreţia uretrală și trebuie corelat cu diagnosticul clinic.

I. Pediculoza și scabia sunt boli parazitare transmise sexual. Diagnosticul este în principal clinic, simptomul major fiind pruritul.

Prevenirea și controlul BTS se bazează pe următoarele strategii majore:

4. educarea și consilierea persoanelor cu risc de a contacta o boală cu transmitere sexuală;
5. diagnosticul persoanelor asimptomatice;
6. diagnosticul și tratarea efectivă a persoanelor infectate;
7. evaluarea, consilierea, tratamentul partenerilor sexuali ai persoanelor infectate;
8. vaccinarea preexpunere a persoanelor cu risc de a contacta o boală cu transmitere sexuală.

Incidenţa în creștere permanentă a BTS va determina necesitatea demarării în viitorul apropiat a unor programe naţionale de screening, deja implementate în unele ţări.

Dr. Mihaela Dinescu
Medic primar medicină de laborator

ELTA '90 MR

ELTA 90 Medical Research S.R.L.

Nr.22A, Nicolae G. Caramfil, Sector 1, Bucharest; ROMANIA, Tel: +4021 232 26 94; +4021 232 26 95, Fax: +4021 232 26 96, e-mail: office@elta90mr.ro

Secventierea la o atingere de buton

MiSeq - Illumina este un sistem de secventiere complet ce are inclusa tehnologia necesara pentru prepararea probelor pentru secventiere: cluster generation, paired-end fluidics, sequencing si are si computer intern pentru analiza primara, secundara cu interfata windows.

Read Length	Total Time*	Output
1 × 36 bp	~4 hours	540–610 Mb
2 × 25 bp	~5.5 hours	750–850 Mb
2 × 100 bp	~16.5 hours	3.0–3.4 Gb
2 × 150 bp	~24 hours	4.5–5.1 Gb
2 × 250 bp	~39 hours	7.5–8.5 Gb
2 × 300 bp	> 39 hours	~15 Gb

Lungimea de citire poate sa varieze si difera in functie de tipul cartusului folosit.

Fluxul de lucru este rapid iar calitatea datelor este una exceptionala.

Sistemul poate fi folosit in secventierea probelor pentru diagnostic prenatal, cancer, autism, cardiomiopatie, boli mostenite ereditar, fibroza chistica pentru care exista deja designul kit-ului facut de catre Illumina. Pentru toate celelalte aplicatii se poate customiza orice kit in functie de nevoile dvs.

Aplicatii: Amplicon Sequencing, Targeted Resequencing, RNA-Seq, De *Novo* Sequencing, Custom Amplicon, Clone Checking, Custom Enrichment, Small RNA Sequencing, Resequencing, 16S Metagenomics, Small Genome, ChIP-Seq, Library QC.

Locul laboratorului clinic în medicina translațională

Conferințele Asociației Laboratoarelor Medicale din România (ALMR) au dobândit reputația de a fi considerate cele mai proeminente și eficiente reuniuni ale comunității naționale de profesioniști din laboratoarele clinice, fiind un reper pentru dezvoltarea acestui domeniu în țară si pentru afilierea activă la forurile internaționale.

Pe deplin conștienți de faptul că profunzimea și complexitatea practicii de laborator cunoaște o evoluție impresionantă și rapidă, Conferința ALMR are ca obiectiv stimularea cunoașterii noilor metode moleculare de investigație, un câmp tehnologic nou, care tinde să devină rutină in activitatea noastră zilnică.

Transferul cunoștințelor fundamentale biomedicale în practica clinică este anevoios, îndelungat și incomplet. Doar o fracțiune mică din investițiile din cercetarea fundamentală se regăsește în serviciile medicale.

Constatarea că transformarea cunoștințelor din domeniul cercetării în beneficii terapeutice la patul bolnavului se face de-a lungul unor etape succesive slab interconectate, ce predispun la irosirea descoperirilor științifice și a unor fonduri însemnate, a generat o activitate de studiu și organizare a acestui proces, denumit translație.

Metodologia elaborată ca urmare a acestei preocupări urmărește să definească activitățile translaționale într-un parcurs coerent și până la urmă eficient. Astfel între descoperirile științifice fundamentale și practica clinică cu impact asupra sănătății publice se interpune zona de translație în interiorul căreia se produc etapele majore de transformare exprimate prin propunerea produsului pentru aplicație în clinica umană și probarea acestei aplicații. Aceste două momente decizionale au nevoie de a fi conectate prin punți de legătură, între ele și la cele două extreme, cu științele biomedicale fundamentale și practica clinică și sănătatea publică. Punțile de legătură înseamnă cercetare de laborator și clinica nonfundamentală, investigații privind siguranța și inocuitatea produsului, implementarea și adoptarea sa în îngrijirea pacienților. Aceste punți de legătură sunt esențiale pentru procesul de translație. În lipsa lor, faliile dintre punctele decizionale pot induce pierderea descoperirilor în translație și deci anularea beneficiului pentru sănătatea publică. Căile de comunicare funcționează în dublu sens: din laboratorul de cercetare la patul bolnavului și invers, de la patul bolnavului la masa de lucru a cercetătorului (from bench to bedside, between bedside and bench). Întreținerea unei astfel de rețele de interacții științifice, economice, bioantreprenoriale, medicale, a creat nevoia de a structura un cadru profesional specific pe măsura noilor terminologii și activități. A apărut astfel medicina translațională sau cercetarea translațională (termeni interschimbabili), care în mod obișnuit indică, în fond, nevoia economică presantă de a obține un beneficiu practic de pe urma investițiilor imense făcute de către sectorul public și privat în cercetarea biomedicală, de a controla costurile serviciilor medicale [1].

În traseul de translație laboratorul clinic ocupă o poziție privilegiată. Ambele sensuri ale circuitului trec prin laboratorul clinic, care devine un punct de control

al întregului proces. În ultimele decade a avut loc o translare a paradigmelor diagnostice pe măsură ce un nou limbaj medical se dezvolta fundamentat pe o perspectiva a sistemelor, a structurii, variaţiei şi funcţiei genomului uman in relaţie cu starea de sănătate, sau boală. Introducerea noilor termeni din familia omics în practica medicală (genomică, transcriptomică, proteomică, metabolomică, metabonomică, farmacogenomică) a complicat scena şi aşa în permanentă schimbare, a laboratorului clinic. Transferul unor noi sisteme şi a unor noi principii investigaţionale în domeniul medicinei de laborator are loc în contextul actual al medicinei translaţionale.

Pe de alta parte, diagnosticul de laborator este un domeniu în dezvoltare rapidă, cu un transfer intens de tehnologii, caracterizat de asemenea de un înalt grad de complexitate. În mod inerent, laboratorul clinic este mai predispus decât oricare altă disciplină medicală la inovaţie şi avans tehnologic. Laboratorul clinic a trecut prin transformări dramatice în ultimele decade generate fie de presiuni de rentabilizare economică - un număr cât mai mare de teste într-un timp cât mai scurt şi la un preţ cât mai mic - organizaţionale - reamenajări, fuziuni, restrângeri de spaţiu si din nou expansiune - fie tehnice - testarea la patul bolnavului (point of care testing) şi translarea categoriilor de omics în practica zilnică - şi în fine conceptuale, tranziţia către medicina de laborator personalizată, medicină de laborator bazată pe dovezi. În domeniul medicinei de laborator transformarea unor proiecte cu potenţial înalt de transfer în teste curente, standardizate, poate dura câţiva ani şi implică mai multe procese secvenţiale: dezvoltarea şi validarea metodelor, producerea de reactivi şi sisteme de detecţie de către companiile de reactivi si echipamente diagnostice, evaluarea performanţelor analitice şi clinice ale truselor comerciale şi implementarea confidentă în practica clinică prin instruirea personalului din laborator şi a întregului personal medical asupra interpretării şi utilizării noilor informaţii [2].

Procesul de translaţie, în contextul actual al medicinei moleculare, în centrul căruia stă laboratorul clinic, presupune construirea de punţi de legătură între domenii uneori îndepărtate şi facilitarea unei interacţiune şi cooperări energice între cercetători, clinicieni, profesioniştii din laboratoare şi exponenţii industriilor de profil.

Exemplele unor dezvoltări recente a testelor de laborator pentru markeri tumorali, markeri cardiovasculari, matrice de proteomică clinică sau alergeni recombinanţi atestă importanţa unei evaluări atente a tuturor variabilelor tehnice ce permit in final introducerea unor astfel de metode în practica medicală. Abilitatea laboratorului clinic constă tocmai în evaluarea atentă nu numai a caracteristicilor analitice ci şi a oricăror altor variabile care pot influenţa performanţele diagnostice si deci utilitatea clinica a testului [3].

Trebuie de avut în vedere că procedeele utilizate în evaluarea testelor diagnostice diferă substanţial de cele folosite în studiul produselor farmaceutice. Cele mai importante momente translaţionale pentru un biomarker candidat sunt fazele pre-, intra- şi post- analitice.

Condiţii adverse pot însă periclita o translaţie satisfăcătoare. Când nici o autoritate nu-şi asumă responsabilitatea de a finanţa procesul de translaţie, rezultatele proiectelor de studiu sunt preluate adesea de producătorii de truse diagnostice, distorsionate prin interferenţe străine şi îndepărtate de la obiectivul iniţial. În continuare testele diagnostice sunt arareori adecvat evaluate înainte de a fi introduse în practica clinică, sau sunt încredinţate de producători unor laboratoare selectate. Situaţia indică o falie generată de lipsa de comunicare efectivă între cercetători, clinicieni şi producători şi lipsa unor punţi de legătură. Între defectele semnalate, în mod particular pentru proteomica clinică, sunt incluse lipsa de consens privind adecvarea proiectului de test, aspectele preanalitice, procesarea probelor, controlul de calitate şi reproductibilitatea rezultatelor obţinute în diferite instituţii. Manipularea si procesarea specimenului biologic, de exemplu, are o contribuţie importantă la producerea de erori pre-analitice. La fel variaţiile biologice individuale, sau dintre indivizi, modificările produse de fluctuaţiile bioritmului. Investigaţiile translaţionale sunt abordate, de obicei, de un număr mare de laboratoare funcţionând în reţea şi se bazează pe studii populaţionale ce utilizează băncile de plasmă. Numărul în creştere de biomarkeri candidat, datorită intensificării interesului în acest domeniu, a accentuat importanţa etapelor translaţionale de calificare şi validare.

Această poziţie specială a laboratorului clinic în interiorul zonei de translaţie, între ştiinţele biomedicale fundamentale şi medicina clinică, solicită o expunere continuă la cunoştinţe avansate care să asigure comunicarea constantă cu cercetătorii sau/şi medicii practicieni. Profesionistul din laboratorul clinic este custodele materialelor biologice şi posesorul cunoştinţelor necesare utilizării acestor materiale în scopul generării de noi cunoştinţe şi trimiterii lor în arena clinică [4]. Practica în medicina de laborator reclamă numeroase abilităţi identice cu cele necesare în cercetarea fundamentală, translaţională şi clinică. Astfel medicina translaţională stimulează specialitatea de medicină de laborator, care ajunge o specialitate bazată pe acumularea intensă de cunoştinţe, cu interfaţă activă cu industriile orientate spre perfecţionarea, aprofundarea şi extinderea metodelor de diagnostic,

în măsura să menţină activă comunicarea dintre cercetare şi patul bolnavului şi să ofere un impuls cercetării cu orientare clinică [5].

Obiectivul principal al ALMR este cel de a menţine şi de a încuraja standarde profesionale ridicate prin dezvoltarea tehnologica a laboratoarelor, cu intenţia de a oferi servicii medicale de calitate pe calea bunelor practici de laborator şi cercetare.

Ca şi în anii precedenţi, conferinţa ALMR găzduieşte prezentările plenare ale unor experţi de renume în domeniul Medicinei de Laborator, menţinându-ne conectaţi la dezvoltarea prezentă a specialităţii.

Referinţe bibliografice

1. Drolet B.C., Nancy M. Lorenzi - Translational research: understanding the continuum from bench to bedside. Translational Research; 2011; 157; 1-5.

2. Plebani M. - The changing scenario in laboratory medicine and the role of laboratory professionals in translational medicine. Clin Chim Acta; 2008; 393: 23-26.

3. ZaninottoM, Mion M.M., Novello E., Altinier S., Plebani M. - New biochemical markers: from bench to bedside. Clin Chim Acta 2007;381:14–20.

4. Lippi G., Plebani M., Guidi G.C. - The paradox in translational medicine. Clin Chem 2007;53:1553.

5. Plebani M., Marincola F.M. - Research translation: a new frontier for clinical laboratories. Clin Chem Lab Med 2006;44:1303–12.

Utilitatea clinică a determinării calciului urinar

Dacă importanța calciului seric este bine cunoscută pentru homeostazia organismului (rol important în coagulare, conducerea neuromusculară, reglarea intracelulară, controlul contractilității musculare etc.), despre semnificația calciului urinar se discută mai puțin, deși este o investigație relativ frecvent solicitată în laboratoarele clinice.

În organismul unui adult se găsesc 1-2 kg de calciu, din care 99% este cantonat la nivelul scheletului, restul fiind în cea mai mare parte circulant: sub formă liberă (ionizată), activă fiziologic, și sub formă legată de anioni și proteine.

Calcemia este reglată în principal de glandele paratiroide (parathormon) și vitamina D și reflectă aportul, rata absorbției intestinale, reabsorbția osoasă și pierderile renale. Concentrația plasmatică normală este de 8,5-10,5 mg/dl (2,2-2,6 mmoli/litru).

Aportul alimentar de calciu recomandat variază în funcție de vârstă și sex, pentru un adult acesta fiind de aproximativ 1000 mg/zi. Nivelul calciului urinar reflectă aportul alimentar, astfel că în cadrul unei diete normale ne așteptăm la o cantitate de 150-200 mg Ca (15-20 mmoli) în urină în 24 h. O dietă modestă în calciu determină o eliminare de 50-150 mg Ca/zi, iar o dietă fără calciu o eliminare de

5-40 mg pe zi. Este important de notat că excreţia de calciu e puternic influenţată de excreţia de sodiu. O dietă săracă în sodiu tinde să scadă excreţia de calciu şi invers.

Deşi este de preferat urina pe 24 de ore, determinarea calciului urinar se poate face şi din urina spontană; rezultatele se exprimă în relaţie cu creatinina urinară. Astfel, raportul calciu urinar (mg/dl) şi creatinină urinară (mg/dl) trebuie să fie mai mic decât 0,14. Valori care depăşesc 0,20 apar la pacienţii cu hipercalciurie. La copii, raportul este mai mare şi descreşte cu vârsta până la aproximativ 6 ani. Acest lucru este important de ştiut pentru a nu cataloga un copil cu hipercalciurie folosind un cut off de adult.

O calciurie crescută (peste 300 mg/24h) este deseori un semn de glandă paratiroidă hiperactivă. Parathormonul este secretat în funcţie de nivelul calciului seric. Receptorii paratiroidieni calciu sensibili (CASRs) stimulează secreţia de PTH în prezenţa unui nivel scăzut al calciului seric. Hormonul va creşte calcemia prin creşterea reabsorbţiei tubulare renale şi scăderea reabsorbţiei fosforului (echilibru Ca-P), prin creşterea reabsorbţiei calciului din oase şi prin creşterea secreţiei de 1,25 dihidroxivitamina D ce stimulează absorbţia intestinală de calciu. Toate conduc deci la hipercalcemie.

Hiperparatiroidismul duce la hipercalcemie şi hipofosfatemie, respectiv hipercalciurie şi hipofosfaturie. Cu toate acestea, o treime dintre pacienţii cu hiperparatiroidie au niveluri normale ale calciului urinar, astfel că acest test nu este relevant pentru diagnosticarea hiperparatiroidismului.

Hipocalciuria. O urină este adeseori eronat interpretată ca fiind hipocalciurică, în urma unor greşeli de recoltare a urinei (o probă emisă spontan fiind considerată un eşantion din urină pe 24 de ore). Estrogenii şi unele medicamente incluzând diureticele tiazidice pot scădea calciul urinar. Calciul urinar scăzut apare în hipoparatiroidism, pseudohipoparatiroidism, nefroză, steatoree. O altă cauză este hipercalcemia hipocalciurică familială, cunoscută şi ca hipercalcemia familială benignă, afecţiune deseori fals diagnosticată ca hiperparatiroidism. Este o afecţiune cu transmitere autozomal dominantă, caracterizată prin hipercalcemie cronică pe toată durata vieţii, neprogresivă, uşoară, asimptomatică, datorata rezistenţei glandelor paratiroidiene şi rinichiului la acţiunea calciului extracelular. Nu răspunde la paratiroidectomie, glandele paratiroide fiind normale histologic. Concentraţiile serice ale calciului total şi ionic sunt uşor crescute, nivelul PTH-ului crescut necorespunzător pentru o hipercalcemie (deşi situat în limita normalului), fosforul uşor scăzut sau normal. Excreţia urinară de calciu este scăzută sau la limita inferioară a normalului, în ciuda hipercalcemiei.

Hipercalciuria. Orice boală care determină creşterea calciului seric poate duce la creşterea calciului urinar. În afară de hiperparatiroidismul primar, hipercalciurie întâlnim şi în: mielom multiplu, osteoporoză, supradozaj de vitamina D, hipertiroidism, sarcoidoză.

Medicamentele care conţin calciu, suplimentele de calciu, diureticele, androgenii, corticoizii sistemici pot determina creşterea excreţiei de calciu.

Alături de testele serice, evaluarea urinei pe 24 de ore poate identifica diferite cauze ale unui metabolism calcic anormal. Metodele uzuale folosite pentru a determina anormalităţi în excreţia renală a calciului sunt măsurarea excreţiei de calciu în 24 de ore şi calcularea raportului calciu/creatinină urinară. Un parametru şi mai corect ar fi raportul dintre clearance-urile de calciu şi creatinină (excreţia fracţionară a calciului), folosind formula: CCCR = (Calciu urinar/calciu total plasmatic)/(creatinină urinară/creatinină plasmatică). Un raport de regulă mai mic decât 0,01 sugerează un diagnostic de hipercalcemie hipocalciurică familială, pe când un raport peste 0,02 este înalt sugestiv pentru hiperparatiroidismul primar.

Măsurarea calciului urinar este utilă şi în identificarea anumitor pacienţi cu osteoporoză care au predispoziţie pentru nefrolitiaza asociată cu hipercalciurie idiopatică. Există date care susţin asocierea între densitatea osoasă scăzută la pacienţii cu nefrolitiază şi hipercalciurie. Alte studii evidenţiază că tratamentul cu tiazide, care scad calciul urinar, duce la scăderea incidenţei fracturilor şi creşterea densităţii osoase. Studiul excreţiei de calciu ar fi deci util în depistarea pacienţilor osteoporotici cu risc de litiază.

Calciul urinar şi calculii renali. În general, pacienţii cu urolitiază excretă în urină mai multe substanţe litogenice (calciu şi oxalat) şi mai puţine substanţe inhibitorii (citrat şi magneziu). Cu toate acestea, determinarea calciului urinar nu reprezintă un factor predictiv util pentru formarea de calculi. Mai utili ar fi markerii de risc litogenic reprezentaţi de raportul calciu/citrat şi calciu oxalat/magneziu citrat. Evident că, atâta timp cât formarea de calculi este o boală multifactorială, nici calciul şi nici ceilalţi markeri nu pot fi exclusiv acceptaţi. Există observaţii care arată că excreţia de calciu poate avea un rol în identificarea unor pacienţi cu litiază renală, asociată cu prezenţa unor boli sistemice, în special hiperparatiroidism. S-a constatat că hipercalciuria la bolnavii cu litiază şi hiperparatiroidism este mai mare decât hipercalciuria la litiazicii fără afecţiuni sistemice. Astfel, măsurarea CCCP ar putea diferenţia litiazicii cu hiperparatiroidism de cei cu alte afecţiuni. Interesant este însă că intervenţia chirurgicală în hiperparatiroidism nu rezolvă complet hipercalciuria şi hipofosfatemia acestor pacienţi, sugerând prezenţa şi a altor afecţiuni şi demonstrând natura complexă a homeostaziei calciului, în care parathormonul este doar unul dintre factorii implicaţi.

Dr. Katalin Samareanu *- Medic primar Medicina de Laborator*

Activitatea anti-candida a unor extracte vegetale hidroalcoolice

Plantele medicinale au fost utilizate în țările dezvoltate ca tratamente alternative pentru problemele de sănătate. Multe extracte vegetale și uleiuri esențiale izolate din plante au demonstrat o activitate biologică in vitro și in vivo, ceea ce justifică cercetările în medicina traditională focusate pe caracterizarea activității antimicrobiene ale plantelor. (Martinez et al., 1996).

De vreme ce plantele produc o gama largă de compuși cu proprietăţi antimicrobine, este de așteptat ca să apară medicamente noi, având ca țintă activitatea antifungică. (Ahmad and Beg, 2001). Candida albicans este un patogen ce poate cauza infecţii locale sau sistemice, putând afecta pacienţii ce au imunitate redusă și pe cei supuși unor tratamente îndelungate cu antibiotice (Zhang et al., 2002). În urma tratamentului cu extracte vegetale, până acum, nu s-au obţinut rezultate eficace la om sau animale împotriva acestui patogen, deși se cunosc câteva specii de plante care au efect anti-candidozic.

În acest studiu, 3 extracte hidroalcoolice obţinute din trei specii de plante medicinale (Rosmarinus officinalis, Angelica officinalis, Ocinum basilicum) au fost testate pentru analiza activităţii antimicrobiene împotriva Candida albicans. Ca și control pozitiv s-a folosit hexoralul. Proliferarea celulară a fost măsurată după 24, 48, 72 ore de tratament, utilizând o metodă spectofotometrică.

Candida albicans vaginală a fost inhibată dupa 24 ore de la tratament de toate cele trei extracte, cu rezultate remarcabile după 72 ore, la concentraţii ale extractului de 80 ppb Inhibiţia după 72 ore de la tratament a fost de 90% pentru Hexoral, 53% pentru Rosmarinus officinalis, 75% pentru Ocinum basilicum, 50% pentru Angelica officinalis comparativ cu celulele netratate. Pentru candidoza faringiană, după 72 de ore de la tratament, la o concentraţie de 80 ppb, s-a constatat o inhibiţie a proliferării celulare cu 89% pentru Hexoral, 49% pentru Rosmarinus officinalis, 80% pentru Ocinum basilicum, 48% pentru Angelica offcicinalis, comparativ cu controlul negativ.

Concluzionăm că extractele hidroalcoolice de Rosmarinus officinalis, Ocinum basilicum, Angelica officinalis ar putea avea un efect protector împotriva candidozei faringiene și vaginale.

Bibliografie

1. M.J. Martínez, J. Betancourt, N. Alonso-González and A. Jauregui, (1996), Journal of Ethnopharmacology, 52, 171–174.

2. Ahmad and A.Z. Beg, (2001), Journal of Ethnopharmacology, 74, 113–123

3. Z. Zhang, H.N. Elsohly, M.R. Jacob, D.S. Pasco, L.A. Walker and A.M. Clark, (2002), Planta Medica, 68, 49–54.

Petran Mariana
Biolog specialist, Dr. Biotehnologii
Spitalul Universitar C.F. Cluj-Napoca,
Republicii 16-20

Rolul laboratorului în **diagnosticul trombofiliei**

Trombofilia reprezintă o tulburare hemostatică, ereditară sau dobândită care determină un risc crescut de tromboză venoasă sau arteriala. Tromboza împreună cu complicațiile embolice reprezintă a treia cauză de deces în țările dezvoltate. În acest context îngrijorător, laboratoarele clinice vin în întâmpinarea pacienților dispunând de expertiza și logistica necesare unui diagnostic exact și eficient al trombofiliei.

Cauzele trombofiliei și manifestările clinice

Cauzele trombofiliei pot fi: primare sau dobândite.

Cauzele primare–congenitale, care determină o hipercoagulabilitate severă:

- Factorul V Leiden - 5% din populaţie
- Deficit de proteina C sau S
- Mutaţii ale protrombinei 20210A
- Deficit de AT III
- Hiperhomocisteinemia (mutaţie a hidrofolat reductazei sau deficit de vit. B6, B12, ac. folic)
- Anomalii ale plasminogenului sau fibrinolizei
- Cauzele dobândite ale trombofiliei: afecţiuni ce predispun la tromboză:
- Boli vasculare: ateroscleroză, diabet, vasculite
- Anomalii ale fluxului sanguin: staza vasculară hipervâscozitatea (policitemia vera, boala Waldenstrom, leucemii acute, siclemie).

Alte afecţiuni asociate cu hipercoagulabilitatea: cancerul, chimioterapia, administrarea contraceptivelor orale, terapie cu estrogeni, sindrom nefrotic, sindrom antifosfolipidic ,CID, hemoglobinuria paroxistică nocturnă.

În producerea procesului trombotic intervin trei factori: scăderea fluxului sanguin, leziunea endoteliului vascular și hipercoagulabilitatea. Leziunea endotelială determinată de ateroscleroză, hiperhomocisteinemie și fumat este elementul patogenic principal în tromboza arterială care determină ocluzia arterială cu ischemie și infarct tisular. În tromboza venoasă elementul patogenic principal este reprezentat de staza sangvină.

Cele mai frecvente manifestări clinice sunt: tromboza venoasă profundă și trombembolismul pulmonar. Tromboza venoasă profundă apare sub forma unui tromb intravenos de obicei la nivelul membrelor inferioare și se caracterizează prin durere, tumefacţie și eritem local.

Datorită procesului inflamator și afectării valvelor venoase, după vindecare poate persista un grad redus de edem local cu senzaţie de greutate în picioare - sindrom posttrombotic.

Trombul se poate desprinde de peretele vascular și poate migra (embolie) până la nivel pulmonar. Astfel apare trombembolismul pulmonar care poate avea un debut brusc cu dispnee (dificultate în respiraţie),durere toracica, palpitaţii, sau colaps circulator, șoc și stop cardiac.

Tromboza venoasă poate apărea și la nivelul creierului, ficatului (vena portă sau venele hepatice), intestine (v. mezenterică), rinichi (v. renală)

În cazul pacientelor cu trombofilie pot avea pierderi recurente de sarcină sau complicaţii precum restricţia de creştere intrauterina, preeclampsia, abruption placentae.

Testele de laborator în diagnosticul trombofiliei

Diagnosticul trombofiliei are la bază o serie de teste de laborator, de importanţă majoră, dintre care enumerăm:

- hemoleucograma cu frotiu din sânge periferic
- APTT, timp de reptilază
- factorul V Leiden, rezistenţa la proteina C activata, Proteina C, Proteina S
- homocisteinemia
- mutaţia protrombinei
- lupus anticoagulant, anticorpi aticardiolipinici, anti β2glicoproteina I

Nu trebuie efectuate toate testele concomitent, ci în funcţie de raţionamentul clinic.

Indicaţiile pentru determinarea Factorului V Leiden și mutaţiile protrombinei :

- vârsta sub 50 ani
- tromboze recurente
- tromboza cu localizare atipică (venele hepatice, sindrom Budd-Chiari)
- existenţa în familie a acestei afecţiuni
- primul episod trombotic la gravidă, sau în timpul terapiei hormonale
- Indicaţii pentru homocisteinemie:
- în cazul trombozelor arteriale la pacienţi foarte tineri, in special când evenimentul trombotic a fost precipitat de fumat sau contraceptive orale

Indicaţii pentru Proteina C, Proteina S, Antitrombina III:

- la pacienţi proveniţi din familii cu accidente trombotice,
- la femei cu istoric familial cunoscut, înainte de terapia hormonală.

Istoricul familial este evocator pentru orientarea diagnosticului având în vedere că majoritatea anomaliilor de coagulare au o transmitere autosomal dominantă (cu excepţia homocisteinemiei și a deficitului calitativ al plasmiogenului).

Testul de Rezistenţă la Proteina C activată ne dă indicaţii despre existenţa Factorului V Leiden produs ca urmare a unei mutaţii genetice la nivelul genei factorului V. Pacienţii care prezintă rezistenţă la Proteina C activată necesită un test de confirmare ADN.

Considerăm că descoperirea din timp a trombofiliei este esenţială - având în vedere gravitatea, complicaţiile și lipsa unui tratament specific, în condiţiile în care se estimează că anual aceasta provoacă decesul a unui milion de oameni - iar experienţa noastră recomandă din timp vizita la medicul specialist și la laborator pentru descoperirea riscurilor trombofilice și pentru profilaxia acestei afecţiuni.

Dr. Roxana Bârsăşteanu
Medic primar

Efectul instruirii asistenților medicali și a pacienților suspecți de tuberculoză asupra calității prelevatelor de spută

Diagnosticul și tratamentul tuberculozei (TB) sunt reglementate în țara noastră prin Programul Național de Control al Tuberculozei (PNCT) [1]. Suspectul de TB are simptomatologie clinică (inclusiv tuse și expectorație de mai mult de 3 săptămâni) și/sau modificări radiologice sugestive pentru TB pulmonară [1,2].

Incidența TB în Romania este în continuă scădere începând din anul 2002, în anul 2010 fiind declarate 90,5 cazuri de tuberculoză la 100.000 de locuitori [3]. Identificarea precoce și corectă a cazurilor de îmbolnăvire contribuie la menținerea acestei tendințe.

Calitatea prelucrării și examinării produselor patologice în laborator sunt doar o parte dintre factorii care pot influența diagnosticul. Calitatea produsului patologic recoltat poate, de asemenea, să influențeze rezultatul examenului bacteriologic.

Scop: Ne-am propus să evaluăm in-

fluenţa instruirii personalului medical şi a pacienţilor asupra creşterii confirmării bacteriologice în rândul suspecţilor de TB pulmonară prin asigurarea calităţii produselor recoltate.

Material, metode: Am luat în studiu 892 pacienţi suspecţi de tuberculoză pulmonară, cazuri noi şi recidive la momentul diagnostic, care expectorează spontan, care nu sunt în cursul unui tratament antituberculos, din judetul Cluj (internaţi sau neinternaţi) în perioada iunie-septembrie 2009. S-au constituit două loturi egale de pacienţi - neinstruiţi şi instruiţi asupra modului de recoltare corectă a sputei. Personalul medical care a asistat recoltarea sputei a fost pregătit în vederea instruirii pacienţilor şi pentru aprecierea aspectului macroscopic al sputei cu încadrarea în categoriile purulent (P), mucoid (M), salivar (S) sau hemoptoic (H) şi pentru transportul acesteia la laborator [4,5,6,7,8]. Aceştia au apreciat calitatea sputei şi au consemnat-o pe formularul de solicitare. De asemena, au semnat pe formularul de solicitare, asumându-şi responsabilitatea pentru identitatea probei, corectitudinea informaţiilor din formular şi pentru calitatea prelevatului. Pentru pacient au fost furnizate instrucţiuni simple, scrise, referitoare la modul de recoltare a unui produs de calitate. După instruirea de către asistent, pacientului i s-a solicitat consimţământul pentru acceptarea recoltării [9].

Rezultate, discuţii: De la cei 446 bolnavi neinstruiţi, au fost prelevate un număr de 1152 eşantioane de spută care au fost examinate prin microscopie directă, coloraţia Ziehl-Neelsen. De la cei 446 pacienţi instruiţi au fost prelucrate prin microscopie directă 1253 eşantioane de spută.

Cele două loturi de pacienţi luaţi în studiu sunt asemănătoare în ce priveşte repartiţia pe grupe de vârstă şi gen. Au fost considerate corespunzătoare eşantioanele P şi M, iar necorespunzătoare calitativ eşantioanele S şi H. Aprecierea macroscopică a fost făcută în laborator pentru toate cele 2405 prelevate prelucrate, aceasta fiind luată în considerare la analiza efectului instruirii asupra calităţii sputei. După instruirea asistenţilor le-am solicitat să facă propria apreciere, imediat după recoltare. S-a răspuns la această solicitare în 435 cazuri pentru care am comparat aprecierea macroscopică cu cea din laborator. Chiar dacă aprecierea aspectului macroscopic al sputei are caracter subiectiv, am constatat atribuirea aceluiaşi calificativ pentru spute P în proporţie de 58,6%, iar pentru sputele M 71,7%, în unele situaţii (aspectul muco-purulent) fiind dificilă încadrarea în una dintre acestea. Dacă analizăm împreună aceste două categorii macroscopice care caracterizează un prelevat de calitate bună, se ajunge la o concordanţă clinică/laborator de 90,3% (393/435).

Cea mai mică proporţie de rezultate concordante (24,1%) s-a obţinut pentru prelevatele cu caracte salivar (S), în timp ce prelevatele hemoptoice (H) au fost corect apreciate în proporţie de 92,3%. Există tendinţa de a se atribui în clinică un calificativ mai bun decât se apreciază în laborator. De la pacienţii neinstruiţi s-au recoltat un număr de 926 eşantioane de spută de bună calitate şi 226 prelevate necorespunzătoare, iar de la pacienţii instruiţi un număr de 987 eşantioane corespunzătoare şi 266 de calitate slabă. Constatăm că nu există diferenţă semnificativă statistic între cele două loturi de pacienţi, deci instruirea lor nu a influenţat aspectul sputei apreciată macroscopic (p= 0,327).

Analiza separată pe genuri a impactului instruirii asupra aspectului macroscopic al sputei nu indică îmbunătăţire semnificativă statistic a calităţii acesteia la femei (p=0,068), dar devine semnificativă statistic pentru prelevatele obţinute de la bărbaţi (p=0,00381).

Instruirea pacienţilor pentru recoltarea sputei nu a avut ca efect creşterea semnificativă statistic a confirmării bacteriologice a cazurilor de TB pulmonară prin microscopie directă atât analizată global (p=0,3602), cât şi analizată pe genuri (feminin p=0,3747, masculin p=0,5479). Nu am constatat creşterea semnificativă statistic a confirmării cazurilor de TB la pacienţii instruiţi faţă de cei neinstruiţi. Au fost confirmate microscopic 63 din 892 (7,1%) cazuri.

Spre deosebire de rezultatele noastre, Khan şi col. [10] au obţinut în studiul lor pe 3055 pacienţi creşterea cu 63% a ratei de detecţie a TB la femeile care au fost instruite faţă de cele neinstruite, prin creşterea calităţii sputei. La bărbaţi, instruirea nu a avut acelaşi impact asupra calităţii sputei, cu toate că a crescut proporţia detecţiei cazurilor.

Concluzii: Instruirea a avut ca efect responsabilizarea şi motivarea asistenţilor medicali care au instruit la rândul lor şi au supravegheat pacienţii pentru recoltarea sputei, fără a influenţa semnificativ statistic confirmarea bacteriologică a cazurilor în rândul pacienţilor suspecţi de TB pulmonară. Faptul că nu sunt diferenţe semnificative statistic între loturile de bolnavi în privinţa calităţii sputei şi a confirmărilor bacteriologice s-ar putea explica printr-un nivel satisfăcător de recoltare a sputei chiar şi înainte de instruirea asistenţilor în cadrul studiului, fără să putem exclude faptul că pacienţii nu s-au conformat cerinţelor noastre, chiar dacă au înţeles ce le solicităm. Este necesară reluarea periodică a instruirii asistenţilor care asistă bolnavii, pentru aprecierea corectă a caracterului sputei.

(Rezultate parţiale, preluate din ”Studiul unor factori care pot contribui la cresterea randamentului examenului microscopic în caz de suspiciune de tuberculoza pulmonara”, proiect efectuat în cadrul Rundei a 6-a de finanţare GFATM-Dezvoltarea Cercetării operaţionale în Romania)

Daniela Homorodean,
Medic primar microbiologie,
Doctor în ştiinţe medicale, Şef laborator

Bibliografie

1. Ghid metodologic de implementare a P.N.C.TB, 2007 – 2011, Bucuresti, 2007.
2. *** Îndrumar pentru controlul tuberculozei pentru furnizorii de asistenţă medical primară. WHO, Institutul de Pneumologie, Bucureşti, 2004
3. Ibraim, E. TB endemic in Romania. TB Conference Cluj Napoca, 2011.
4. www.lancet.com
5. www.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining
6. D. Homorodean, O. Moldovan, D. Diculescu, G. Chiriac, I.Muntean. Îndrumar de tehnici de laborator de bacteriologie BK, 2005
7. WHO/CSD/CSRL/LYO/2004.9
8. www.ms.ro. Ghid de reglementari pentru transportul substantelor infectioase
9. Chiang C Y, Glaziou P, Enarson D A, Cobelens F, Lew W J. Int J Tuberc Lung Dis, 2009;13(1):27-31
10. M. S. Khan, O. Dar, C. Sismanidis, K. Shah, P. Godfrey-Faussett - The Lancet, 2007; 369:1955-1960

Alianţa Pentru Sănătate din România (APSR) este o organizaţie neguvernamentală, care acţionează pentru crearea unui climat propice asigurării unei asistenţe medicale centrate cu adevărat pe nevoile fiecărui cetăţean.

APSR, în calitate de reprezentant al principalelor categorii de participanţi - pacienţi, furnizori de servicii medicale şi firnizori de produse medicale - din cadrul sistemului de sănătate, a fost constituită ca organizaţie de tip federativ, din necesitatea realizării şi implementării unor măsuri pentru atenuarea şi eliminarea degradării progresive a sistemului de sănătate din România.

În calitate de partener al autorităţilor, APSR, alături de toate organizaţiile sale membre, este implicată în procesele de definire şi implementare a legislaţiei şi reglementărilor relevante pentru membrii săi.

Cele mai importante acţiuni ale APSR din anul acesta au fost:

- Participarea activă, cu propuneri de amendamente şi modificări, în negocierile purtate cu Casa Naţională de Asigurări de Sănătate şi Ministerul Sănătăţii pentru Contractul-Cadru ce reglementează acordarea asistenţei medicale în anul 2013.
- La invitaţia Ministerului Sănătăţii, am participat la discuţiile ce au avut loc cu privire la intenţia de a pune în aplicare un program-pilot pentru definirea unui nou sistem de salarizare a personalului medical, program ce se va întinde pe durata a 4 luni, într-un număr de 4 spitale „reprezentative" din ţară. Elementul de bază al iniţiativei este acela ca personalul medical să aibă un salariu fix, la care să se adauge o parte variabilă, stabilită pe baza unor criterii de performanţă. O altă noutate, este aceea că se introduce noţiunea de „pacient privat" al medicului care lucrează în spitalul de stat. Cu alte cuvinte, dacă un pacient doreşte să fie îngrijit de un anumit medic dintr-un spital, ar trebui să plătească suplimentar faţă de ceea ce acoperă asigurările de sănătate. Proiectul are, deocamdată, un caracter foarte general, urmând ca organizaţiile interesate să formuleze ropuneri/observaţii şi să le trimită la MS.
- De asemenea, la MS, am participat la dezbaterile referitoare la pachetul de bază. Discuţiile s-au axat pe ceea ce ministerul intenţionează să introducă în acest pachet. Deocamdată, există trei componente majore: PREVENŢIE, URGENŢE, PROGRAME NAŢIONALE (POSIBIL ŞI ÎNGRIJIRI). Introducerea programelor naţionale şi a prevenţiei în pachetul de bază, a suscitat discuţii aprinse, în special pe tema contribuţiilor la FNUASS şi a modului de utilizare a acestora. Ministerul are, în acest moment, doar un cadru general de lucru, împrumutat de la insituţii similare din Canada, pe care doreşte să îl adapteze la realităţile româneşti. Materialul cadru, de structură, va fi pus, în curând, la dispoziţia organizaţiilor interesate şi a presei.

Cu privire la pachetul de servicii medicale de bază, Preşedintele APSR, Dl. Cristian Hotoboc, consideră că forma finală a acestuia va trebui să fie una echilibrată şi corectă, echitabilă din puctul de vederea al contributorilor la FNUASS şi al nivelului contribuţiilor.

Ca proiect major pentru anul 2013, APSR va realiza şi da publicităţii, la finalul anului, un **Raport cu privire la starea sistemului sanitar românesc**, lucrare amplă, ce va identifica problemele sistemului şi va pune în faţa autorităţilor soluţiile identificate şi indicate de către specialiştii şi experţii de care dispun organizaţiile membre ale APSR.

Diagnostic Design®
HEMATROM

"Noi definim viitorul în controlul de calitate"

HEMAT-ROM este o companie privată, înfiinţată în Bucureşti în 1992, dezvoltată ca importator şi distribuitor de produse medicale în 2002.

De opt ani activăm ca furnizor de **Scheme de Control Extern de Calitate**, suntem lideri de piaţă în România şi suntem considerati printre cei mai serioşi parteneri în domeniu.

Incepand cu anul 2010 **HEMAT-ROM** intra pe piaţă, pentru prima dată, ca **Organizator de scheme de intercomparare**, având în acest sens girul autorităţii competente prin Adeverintele de Notificare nr. 52, 53 si 54 din 04.01.2010 emise de Ministerul Sanatatii, Directia Generală de Sănătate Publică, Asistenţă Medicală şi Programe.

Am lansat cu această ocazie programul de Control Extern de Evaluare a Calităţii în Laboratoarele Medicale "**Diagnostic Design**", marcă proprie înregistrată a **HEMAT-ROM**.

Diagnostic Design

PRODUSE PENTRU CONTROLUL EXTERN DE CALITATE:

- **BIOCHIMIE/ IMUNOLOGIE**
- **MICROBIOLOGIE**
- **VIRUSOLOGIE/ INFECTIOASE**
- **HEMATOLOGIE/HEMOSTAZA**
- **CITOLOGIE**
- **ALERGII/AUTOIMUNITATE**

- **PRODUSE PENTRU CONTROLUL INTERN (sange, ser, plasma, urina) pentru toate domeniile laboratorului medical**
- **APARATURA**
- **REACTIVI**
- **CONSUMABILE**

SCHEMĂ FLEXIBILĂ CU LIVRARE DE 4,6,12 ORI PE AN

Incepand cu anul 2013 HEMAT-ROM a lansat schemele de intercomparare *Diagnostic Design* acreditate RENAR pentru standardul:

SR EN ISO/CEI 17043

Evaluarea conformităţii.

Cerinţe generale pentru încercările de competenţă

S.C. HEMAT-ROM S.R.L.
Str. Ghiozdanului, Nr.4, Sector 1, Bucureşti

Tel: +40 21 207 91 29
Fax: +40 21 224 26 59
E-mail: birou@hematrom.ro
Site: www.hematrom.ro

Examenul **parazitologic**

-contribuția diverselor etape pentru obținerea unor rezultate relevante

Examenul parazitologic în aria noastră geografică se realizează, în 95% din cazuri, pentru suspiciunea clinică de parazitoză intestinală, dat fiind faptul că acesta este tipul de parazitoză predominantă. Ca atare, majoritatea probelor sosesc la laborator solicitând examen coproparazitologic, iar câteva solicită examenului de digestie. Examenul de digestie este solicitat și în cazul suspiciunii unor afecţiuni digestive de tip insuficienţă pancreatică, biliară, tranzit intestinal crescut etc., fără a fi neapărat însoţite de suspiciunea unei parazitoze digestive. Din păcate, foarte puţine dintre probele trimise la laborator respectă condiţiile preliminare efectuării unei analize corecte: pregătirea bolnavului, recoltarea, transportul. Mă voi referi în continuare, punctual, la câteva aspecte cu care medicul de laborator se confruntă în legătură cu aceste examinări.

1. Pentru obţinerea unor rezultate relevante în urma examenului de digestie, bolnavul trebuie să fie pregătit din punctul de vedere al regimului alimentar. Acest lucru nu se întâmplă în majoritatea cazurilor. Efectuând o anchetă ad-hoc, am constatat nu numai că nici măcar nu se cunoaște, la nivelul secţiilor de unde provin aceste probe, faptul că ele ar trebui prelevate după administrarea unui regim standardizat (Schmidt-Strasburger) timp de 2-3 zile anterior recoltării, dar nici măcar asigurarea polivalenţei alimentare (o alternativă mai comodă a clasicului regim) nu este respectată sau verificată de cadrele medicale care indică sau care transmit indicaţia de recoltare pacientului. În aceste condiţii, pacientul își urmează dieta „după preferinţe și posibilităţi", iar după zilele de vizită, în care fiecare membru al familiei contribuie la asigurarea stării de confort a pacientului în mediu extrafamiliar cu un anumit tip de grătar sau friptură, este evidentă predominanţa fibrelor musculare nedigerate în scaunul pacientului, ceea ce reprezintă mai degrabă o depășire normală a posibilităţilor de digestie a enzimelor pancreatice sau a secreţiei biliare decât prezenţa unei insuficienţe la acest nivel.

Recoltarea de probe multiple în vederea stabilirii unui diagnostic corect de infecţie parazitară: pe primul loc ca etiologie în afecţiunile parazitare din ţara noastră se situează infecţia cu Giardia intestinalis. Acest protozoar flagelat cavitar are o perioadă de închistare discontinuă și, ca atare, pentru surprinderea formelor chistice la examenul materiilor fecale este necesară efectuarea mai multor examinări din probe recoltate la intervale variate. Protocolul european cere examinarea a 3 probe într-un interval de 10 zile, în timp ce protocolul american indică analizarea unui număr de 5 probe într-un interval de 15 zile. Aceste detalii de recoltare sunt foarte rar respectate, nu de puţine ori trimiţându-se la laborator 3 probe recoltate din același bol fecal, din 3 scaune din aceeași zi sau din trei zile consecutive! Examinarea unui număr multiplu de probe este solicitată și în protocolul diagnosticării infecţiei cu Strongiloides stercoralis, ca să menţionăm doar două dintre cazuri.

2. Recoltarea și transportul probelor (materii fecale) la laborator se efectuează în extrem de puţine situaţii în recoltoare standard prevăzute cu soluţie de conservare, cum prevede protocolul, deoarece centralizarea probelor de la mai multe secţii/clinici la un anumit punct de laborator face aproape imposibilă introducerea lor în lucru în primele 2 ore de la recoltare.

Am trecut în vedere doar problemele cele mai frecvente legate de această examinare, de altfel considerată de mulţi "banală" și care, din păcate, nu pot fi corectate de medical de laborator, ci doar prin efortul concertat al tuturor factorilor implicaţi.

Asist. Prof. Carmen Costache,
MD, PhD, MSc Board Member of European Federation of Parasitologists (EFP)

Diagnosticul serologic în infecțiile microbiene

Deși cultivarea microorganismelor și identificarea lor prin metodele tradiționale rămân "golden standard" în diagnosticarea bolilor infecțioase, totuși, în multe cazuri, diagnosticul serologic permite o orientare rapidă a medicului în vederea instituirii unui tratament precoce.

Diagnosticul serologic are în vedere atât detectarea antigenelor direct din produsul biologic, cât și detectarea calitativă sau cantitativă a anticorpilor prezenţi ca răspuns al unei infecţii microbiene. Produsele biologice supuse testelor serologice sunt sângele, lcr, secreţie endocervicală etc.

Cu siguranţă, există situaţii în care diagnosticarea etiologică a unei infecţii rămâne în exclusivitate apanajul serologiei: urmărirea în dinamică a titrului de anticorpi în cazul unei infecţii acute, precum și diferenţierea între o infecţie acută recentă (IgM) sau infecţie în antecedente (IgG).

Detectarea anticorpilor tip IgM este utilă pentru afecţiunile care au o simptomatologie nespecifică, așa cum este toxoplasmoza sau pentru cele care necesită o decizie terapeutică rapidă. Iată deci o scurtă și concisă trecere în revistă a investigaţiilor serologice legate de sarcină și afecţiunile ginecologice în general.

Să luăm exemplul testelor prenatale STORCH (sifilis, toxoplasmoză, rubeolă, citomegalovirus, herpes).

Diagnosticul toxoplasmozei are o deosebită importanţă mai ales pentru o femeie gravidă. Din acest motiv, screeningul acestei infecţii presupune depistarea anticorpilor specifici tip IgG pentru a stabili statusul imun și a celor de tip IgM pentru o infecţie recentă. Dar, există o problemă de interpretare în cazul unui rezultat pozitiv pentru IgM, pentru că nu se poate stabili cu exactitate momentul infecţiei, știind că acest tip de anticorpi specifici rezistă până la 18 luni de la dobândirea infecţiei. Din acest motiv, se recurge la un test care poate diferenţia o infecţie recentă de una mai veche, și anume, testul de aviditate IgG.

Prezenţa anticorpilor IgM antirubeolă la o femeie gravidă impune o decizie terapeutică radicală. Ţinând cont de faptul că anticorpi de tip IgM, spre deosebire de cei de tip IgG, nu trec bariera transplacentară, prezenta lor la un nou-născut, indică o infecţie acută.

În cazul sifilisului, combinând testele netreponemice și cele treponemice (de confirmare a testelor netreponemice pozitive), se poate diagnostica o infecţie recentă sau în antecedente. Existând totuși un număr relativ mare de rezultate fals pozitive la testele netreponemice pentru femeia gravidă, ele vor fi corelate și interpretate atât cu testele treponemice, cu titrul de anticorpi, cu prevalenţa acestei infecţii, dar și cu afecţiunile asociate sarcinii.

Tot din perspectiva prevenirii transmiterii unei infecţii de la mamă la făt, screeningul serologic pentru citomegalovirus, în perioada prenatală, are rolul de a depista la timp infecţia cu acest virus, ţinând cont de faptul că gravidele prezintă o reactivitate crescută faţă de această infecţie.

Testarea serologică privind titrul de anticorpi anti-Listeria monocitogenes la gravide în trimestrul 3 de sarcină poate preveni o infecţie gravă a nou-născutului.

În ceea ce privește testarea serologică având ca scop detectarea de antigen din produsele biologice, m-aș opri doar la două dintre multe altele: Chlamydia și Papilloma virus-HPV.

Chlamydia este un agent microbian obligatoriu intracelular, din acest motiv diagnosticul fiind aproape eminamente serologic: detectare de anticorpi cu valoare limitată în cazul infecţiilor genitale și detectare de antigen. Detectarea de antigen se face din secreţie endocervicală, folosind tehnici de imunofluorescenţă directă, imunoenzimatice sau polymerase chaine reaction –PCR.

Papilloma virus sau, mai simplu, HPV este un virus cu tropism pentru mucoasa colului uterin. Adoptat ca metodă de elecţie în Statele Unite ale Americii pentru diagnosticarea cancerului de col uterin, la noi este folosit ca metodă suplimentară de investigare a unei paciente care a prezentat un examen citologic Babeș-Papanicolau suspect. Detecţia HPV se face numai prin tehnici de biologie moleculară și permite screeningul sau detectarea serotipurilor cu risc oncogenic crescut 16, 18, 31,45.

Detecţia HPV este un pas înainte pentru lupta împotriva cancerului de col uterin și, chiar dacă testele de identificare nu sunt 100% teste serologice, este potrivit aducerii în discuţie ca dovadă a progresului înregistrat de medicina de laborator în veșnica concurenţă cu lumea microbiană și cu speranţa de apariţie a noi soluţii.

Dr. Mihaela VASILE,
Medic primar medicină de laborator

Diagnosticul serologic al hepatitei C în centrele de transfuzie

Dintre hepatitele virale - A, B, C, D, E, G - doar hepatita B și hepatita C pot duce la cronicizare și la ciroză, fiind o problemă importantă de sănătate care ridică mult costurile îngrijirilor medicale în societatea românească. Depistarea bolnavilor cu hepatită B sau C în România nu este efectuată sistematic sau după un program coerent de evaluare a stării de sănătate a populației, ci se face absolut întâmplător, cu prilejul unor evaluări paraclinice aleatorii, foarte rar în urma unui consult la medicul de familie sau cu prilejul unei acțiuni de donare de sânge făcute din proprie inițiativă sau datorită apelurilor umanitare de donare de sânge pentru colegi, rude, vecini etc.

Dacă o hepatită de tip A are o simptomatologie foarte zgomotoasă și se vindecă fără sechele, o hepatită de tip B sau C trece neobservată de cele mai multe ori, dar evoluția naturală a bolii este mult mai gravă: 5-25% dintre bolnavi evoluează spre ciroză și dintre aceștia 25% vor dezvolta un hepatocarcinom.

Deși prognosticul acestor hepatite este grav, nu există un program de screening al populației, din cauza costurilor destul de ridicate ale testelor de laborator și a nivelului educațional redus.

Diagnosticul paraclinic este foarte important în hepatita C și constă în:

1. Tehnica specială folosind enzime imune - EIA (ELISA)

Anticorpii anti-HCV sunt detectați printr-o tehnică EIA=enzyme immunoassay. Cea de-a treia generație de astfel de teste, care este folosită în prezent, este mult mai specifică și sensibilă față de cea folosită anterior. Cu toate acestea, și cu această tehnică modernă pot apărea rezultate fals pozitive/negative. Testele de confirmare sunt obligatorii pentru diagnostic.

2. Reacția de polimerizare în lanț

Cea mai bună metodă de confirmare a diagnosticului de hepatita C este reacția de polimerizare în lanț (PCR= polymerase chain reaction), care depistează ARN-ul virusului hepatic C. Prezența în sânge a ARN HVC indică o infecție activă.

3. Testele de recombinare imună

Aceste teste sunt folosite tot pentru confirmarea reactivității anticorpilor anti-HCV. Serul pacientului este incubat pe un mediu de nitroceluloză pe care exista 4 proteine virale recombinate. Modificarea culorii indică faptul că anticorpii anti-HCV aderă la aceste proteine. În diagnosticul paraclinic al donărilor de sânge este foarte importantă precocitatea detecției, care diferă în funcție de testul folosit.

PCR - moment 0
Ortho HCV - 2.3 zile
Murex Ag/Ab - 6 zile
Monolisa Ag/Ab Ultra – 8 zile
Vitros Eci - 20 zile
Ortho HCV – 21 zile
Monolisa anti HCV plus-23 zile

În centrele de transfuzie sanguină din România se utilizează, pentru testarea fiecărei unități de sânge donat, testele ELISA de a treia generație, care sunt foarte bine cotate și care, completate de o tehnică corectă, asigură o triere bună a sângelui, ca scop principal, și asigură o eficientă depistare a persoanelor cu anticorpi antihepatita C, care nu au nicio simptomatologie.

Sângele cu anticorpi anti-HCV prezenți este distrus prin incinerare, iar donatorii găsiți pozitivi în testul de triere serologică urmează o investigare mai amplă, confirmarea serologică fiind făcută cu teste de recombinare imună la Institutul Național de Hematologie Transfuzională București. Acești pacienți sunt apoi îndrumați spre efectuarea viremiei pentru diagnosticul de certitudine și apoi spre medicul de familie sau hepatolog, pentru examen de specialitate, consult clinic, evaluare generală, urmată de inițierea tratamentului.

Astfel, prin activitatea de evaluare biologică a sângelui donat, centrele de transfuzie asigură și un screening al unui grup populațional cu vârste între 18 și 55 ani, pentru o boală a cărei prevalență nu se cunoaște exact în România, hepatita C, și care, nedepistată la timp, implică ulterior, prin cronicizare, costuri de îngrijiri medicale foarte mari.

Dr. Georgeta Hanganu

2nd Congress of the Romanian Association of Medical Laboratories with International Participation

In collaboration with
The Romanian Society of Microbiology
The Romanian Society of Hematology
University of Medicine and Pharmacy „Gr. T. Popa" Iaşi
University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş

Under the auspices of IFCC and EFLM

5 - 8 June 2013, Braşov

Congress topics

- Diagnosis and monitoring in acute leukemias
- New insight in laboratory diagnosis of chronic lymphoproliferative syndrome
- Clinical applications of immunological investigations
- Genetic analyses – from genome to gene and back
- Biomarkers for diseases with high incidence and major prevalence
- Molecular methods in microbiology. New trends in microbiology laboratory investigation
- Standardization of antimicrobial susceptibility testing
- Present resistance to antibiotics
- Quality indicators in the preanalytical phase of clinical laboratory tests
- Standardization and harmonization of medical laboratory activities
- Scientific writing and publishing ethics

Contact

Assistant professor Didona Ungureanu, Mobile: 0726 343 662.
Dr. Chim. Ileana Funduc, Phone/ Fax: +40 21 340 7668, Mobile: +40 724 210 670.

www.raml-conference.ro

SIEMENS
medical

Siemens Healthcare Diagnostics vă oferă:

1. Analizoare de **Biochimie clinică**:

   Dimension® RxL, EXL,

2. Analizoare de **Imunologie**:

   ADVIA Centaur® XP

   Immulite® 2000 Xpi

3. Analizoare de **Nefelometrie**:

   BN ProSpec®

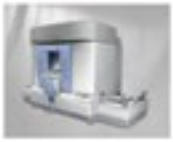
4. Analizoare de **Coagulare**:

   CS 2000

   CA 600

5. Analizoare de **Hemoleucogramă:**

   Advia 2120i



6. Analizoare de **Microbiologie**:

   WalkAway®

   AutoSCAN®

7. Analizoare de **Gaze în Sînge**:

   RapidPoint 500

8. **Automatizare de laborator**

În România prin:

SC Sante International SA
Bd. Mihai Bravu nr. 7
Tel: +40 21 252 04 01
Fax: +40 21 252 31 77
www.sante.ro

SANTE