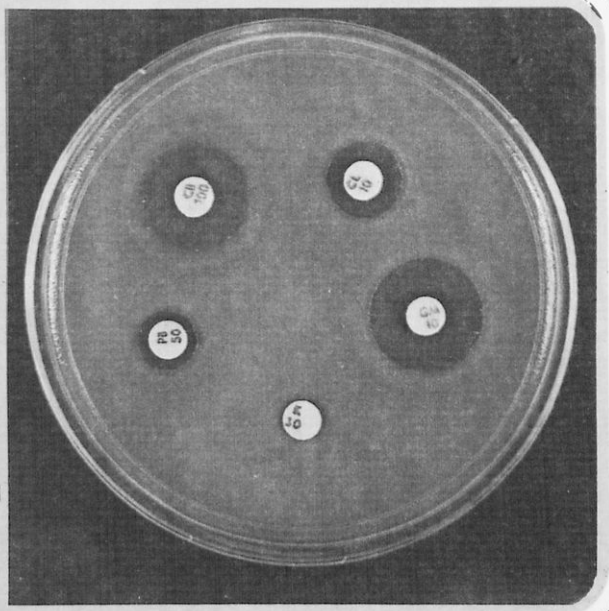
ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ
1954

Γ' Επαγγελματικοῦ Λυκείου

ΕΙΔΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ ΤΗΡΗΣΗ ΑΡΧΕΙΟΥ

Ἰωάννου Π. Στασινόπουλου
ΙΑΤΡΟΥ ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ Τ.Ε.Ε.



Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

1954

ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

ΧΡΥΣΟΥΝ ΜΕΤΑΛΛΙΟΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΡΟΛΟΓΟΣ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Ὁ Εὐγένιος Εὐγενίδης, ὁ ἱδρυτής καί χορηγός τοῦ «Ἱδρύματος Εὐγενίδου», πολύ νωρίς πρόβλεψε καί σχημάτισε τήν πεποίθηση ὅτι ἡ ἄρτια κατάρτιση τῶν τεχνικῶν μας, σέ συνδυασμό μέ τήν ἐθνική ἀγωγή, θά ἦταν ἀναγκαῖος καί ἀποφασιστικός παράγοντας τῆς προόδου τοῦ Ἔθνους μας.

Τήν πεποίθησή του αὐτή ὁ Εὐγενίδης ἐκδήλωσε μέ τή γενναιόφρονα πράξη εὐεργεσίας, νά κληροδοτήσει σεβαστό ποσό γιά τή σύσταση Ἱδρύματος πού θά εἶχε σκοπό νά συμβάλλει στήν τεχνική ἐκπαίδευση τῶν νέων τῆς Ἑλλάδας.

Ἔτσι τό Φεβρουάριο τοῦ 1956 συστήθηκε τό «Ἵδρυμα Εὐγενίδου», τοῦ ὁποίου τήν διοίκηση ἀνέλαβε ἡ ἀδελφή του κυρία Μαριάνθη Σίμου, σύμφωνα μέ τήν ἐπιθυμία τοῦ διαθέτη.

Ἀπό τό 1956 μέχρι σήμερα ἡ συμβολή τοῦ Ἱδρύματος στήν τεχνική ἐκπαίδευση πραγματοποιεῖται μέ διάφορες δραστηριότητες. Ὅμως ἀπ' αὐτές ἡ σημαντικότερη, πού κρίθηκε ἀπό τήν ἀρχή ὡς πρώτης ἀνάγκης, εἶναι ἡ ἔκδοση βιβλίων γιά τούς μαθητές τῶν τεχνικῶν σχολῶν.

Μέχρι σήμερα ἐκδόθηκαν 150 τόμοι βιβλίων, πού ἔχουν διατεθεῖ σέ πολλά ἑκατομμύρια τεύχη, καί καλύπτουν ἀνάγκες τῶν Κατώτερων καί Μέσων Τεχνικῶν Σχολῶν τοῦ Ὑπ. Παιδείας, τῶν Σχολῶν τοῦ Ὀργανισμοῦ Ἀπασχολήσεως Ἐργατικοῦ Δυναμικοῦ (ΟΑΕΔ) καί τῶν Δημοσίων Σχολῶν Ἐμπορικοῦ Ναυτικοῦ.

Μοναδική φροντίδα τοῦ Ἱδρύματος σ' αὐτή τήν ἐκδοτική του προσπάθεια ἦταν καί εἶναι ἡ ποιότητα τῶν βιβλίων, ἀπό ἄποψη ὄχι μόνον ἐπιστημονική, παιδαγωγική καί γλωσσική, ἀλλά καί ἀπό ἄποψη ἐμφανίσεως, ὥστε τό βιβλίο νά ἀγαπηθεῖ ἀπό τούς νέους.

Γιά τήν ἐπιστημονική καί παιδαγωγική ποιότητα τῶν βιβλίων, τά κείμενα ὑποβάλλονται σέ πολλές ἐπεξεργασίες καί βελτιώνονται πρίν ἀπό κάθε νέα ἔκδοση.

Ἰδιαίτερη σημασία ἀπέδωσε τό Ἵδρυμα ἀπό τήν ἀρχή στήν ποιότητα τῶν βιβλίων ἀπό γλωσσική ἄποψη, γιατί πιστεύει ὅτι καί τά τεχνικά βιβλία, ὅταν εἶναι γραμμένα σέ γλώσσα ἄρτια καί ὁμοιόμορφη ἀλλά καί κατάλληλη γιά τή στάθμη τῶν μαθητῶν, μποροῦν νά συμβάλλουν στήν γλωσσική διαπαιδαγώγηση τῶν μαθητῶν.

Ἔτσι μέ ἀπόφαση πού πάρθηκε ἤδη ἀπό τό 1956 ὅλα τά βιβλία τῆς Βιβλιοθήκης τοῦ Τεχνίτη, δηλαδή τά βιβλία γιά τίς Κατώτερες Τεχνικές Σχολές, ὅπως ἀργότερα καί γιά τίς Σχολές τοῦ ΟΑΕΔ, εἶναι γραμμένα σέ γλώσσα δημοτική μέ βάση τήν γραμματική τοῦ Τριανταφυλλίδη, ἐνῶ ὅλα τά ἄλλα βιβλία εἶναι γραμμένα στήν ἁπλή καθαρεύουσα. Ἡ γλωσσική ἐπεξεργασία τῶν βιβλίων γίνεται ἀπό φιλολόγους τοῦ Ἱδρύματος καί ἔτσι ἐξασφαλίζεται ἡ ἐνιαία σύνταξη καί ὁρολογία κάθε κατηγορίας βιβλίων.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἡ ποιότητα τοῦ χαρτιοῦ, τό εἶδος τῶν τυπογραφικῶν στοιχείων, τά σωστά σχήματα καί ἡ καλαίσθητη σελιδοποίηση, τό ἐξώφυλλο καί τό μέγεθος τοῦ βιβλίου περιλαμβάνονται καί αὐτά στίς φροντίδες τοῦ Ἱδρύματος.

Τό Ἵδρυμα θεώρησε ὅτι εἶναι ὑποχρέωσή του, σύμφωνα μέ τό πνεῦμα τοῦ ἱδρυτή του, νά θέσει στήν διάθεση τοῦ Κράτους ὅλη αὐτή τήν πεῖρα του τῶν 20 ἐτῶν, ἀναλαμβάνοντας τήν ἔκδοση τῶν βιβλίων καί γιά τίς νέες Τεχνικές καί Ἐπαγγελματικές Σχολές καί τά νέα Τεχνικά καί Ἐπαγγελματικά Λύκεια, σύμφωνα μέ τά Ἀναλυτικά Προγράμματα τοῦ Κ.Ε.Μ.Ε.

Τά χρονικά περιθώρια γι' αὐτή τήν νέα ἐκδοτική προσπάθεια ἦταν πολύ περιορισμένα καί ἴσως γι' αὐτό, ἰδίως τά πρῶτα βιβλία αὐτῆς τῆς σειρᾶς, νά παρουσιάσουν ἀτέλειες στή συγγραφή ἤ στήν ἐκτύπωση, πού θά διορθωθοῦν στή νέα τους ἔκδοση. Γι' αὐτό τό σκοπό ἐπικαλούμαστε τήν βοήθεια ὅλων ὅσων θά χρησιμοποιήσουν τά βιβλία, ὥστε νά μᾶς γνωστοποιήσουν κάθε παρατήρησή τους γιά νά συμβάλλουν καί αὐτοί στή βελτίωση τῶν βιβλίων.

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Ἀλέξανδρος Ι. Παππᾶς, Ὁμ. Καθηγητής ΕΜΠ, Πρόεδρος.
Χρυσόστομος Φ. Καβουνίδης, Διπλ.-Μηχ.-Ἠλ. ΕΜΠ, Ἀντιπρόεδρος.
Μιχαήλ Γ. Ἀγγελόπουλος, Τακτικός Καθηγητής ΕΜΠ, τ. Διοικητής ΔΕΗ.
Παναγιώτης Χατζηιωάννου, Μηχ.-Ἠλ. ΕΜΠ, Γεν. Δ/ντής Ἐπαγ/κῆς Ἐκπ. Ὑπ. Παιδείας.
Ἐπιστημ. Σύμβουλος, **Γ. Ροῦσσος,** Χημ.-Μηχ. ΕΜΠ.
Σύμβουλος ἐπί τῶν ἐκδόσεων τοῦ Ἱδρύματος, **Κ. Α. Μανάφης,** Καθηγητής Φιλοσοφικῆς Σχολῆς Παν/μίου Ἀθηνῶν.
Γραμματεύς, **Δ. Π. Μεγαρίτης.**

Εἰδικός ἐπιστημονικός σύμβουλος γιά τό βιβλίο Εἴδη Ἐργαστηριακῶν Ἐξετάσεων — Τήρηση ἀρχείου, ὁ καθηγητής κ. ***Γ.Ι. Παπαευαγγέλου.***

Διατελέσαντα μέλη ἤ σύμβουλοι τῆς Ἐπιτροπῆς

Γεώργιος Κακριδής † (1955 - 1959) Καθηγητής ΕΜΠ, *Ἄγγελος Καλογερᾶς* † (1957 - 1970) Καθηγητής ΕΜΠ, *Δημήτριος Νιάνιας* (1957 - 1965) Καθηγητής ΕΜΠ, *Μιχαήλ Σπετσιέρης* (1956 - 1959), *Νικόλαος Βασιώτης* (1960 - 1967), *Θεόδωρος Κουζέλης* (1968 - 1976) Μηχ.-Ἠλ. ΕΜΠ.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΙΒ 1 ΙΑΚ
Σταβινόπουλος, Ιωάννης Π.

ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ
1954

Γ' ΤΑΞΗ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΟΥ ΛΥΚΕΙΟΥ

ΕΙΔΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ

ΤΗΡΗΣΗ ΑΡΧΕΙΟΥ

ΙΩΑΝΝΟΥ Π. ΣΤΑΣΙΝΟΠΟΥΛΟΥ
ΙΑΤΡΟΥ
ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ Τ.Ε.Ε.

ΑΘΗΝΑ
1980

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

002
ΗΠΕ
ΕΤΣΒ
2171

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΤΗΣ ΒΟΥΛΗΣ
ΕΔΩΡΗΣΑΤΟ
Ευγενίδου Ιδρυμα
Αριθ. Κωδ. Βιβλίου 1672 Έτος 1992

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Σκοπός τοῦ βιβλίου αὐτοῦ, εἶναι ἡ ἁπλή καί ἐπιστημονική παρουσίαση καί ἀνάπτυξη τῆς τεχνικῆς τῶν κυριοτέρων ἐργαστηριακῶν ἐξετάσεων πού γίνονται καθημερινά στά ἰατρικά καί βιοχημικά ἐργαστήρια.

Μέ τήν προσπάθεια πού καταβλήθηκε πιστεύω ὅτι τό βιβλίο εἶναι κατάλληλο γιά τούς μαθητές τῶν ἐπαγγελματικῶν Λυκείων πού ἀκολουθοῦν τήν εἰδικότητα τοῦ βοηθοῦ ἰατρικῶν καί βιοχημικῶν ἐργαστηρίων, ὥστε νά παρακολουθήσει, νά ἐφαρμόσει στήν πράξη καί νά γνωρίσει τίς διάφορες ἐργαστηριακές ἐξετάσεις. Ἐπίσης θά εἶναι δυνατόν καί μετά τήν ἀποφοίτηση του νά τοῦ χρησιμεύει ὡς πρόχειρο βοήθημα στό ἐργαστήριο.

Στό βιβλίο ἀναφέρονται οἱ κυριότερες αἱματολογικές, βιοχημικές, μικροβιολογικές καί ὁρολογικές ἐξετάσεις καθώς καί εἰδικές ἐξετάσεις κοπράνων, πτυέλων, ἀρθρικοῦ ὑγροῦ, παθολογικῶν ὑγρῶν καί ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ. Ἡ τεχνική πού ἀναπτύσσεται σέ κάθε ἐξέταση, εἶναι ἡ πιό ἁπλή καί ἡ πιό συνηθισμένη.

Ἐπίσης περιγράφεται ἡ τήρηση τοῦ ἀρχείου στό ἐργαστήριο, ὁ τρόπος ἐγγραφῆς τῶν ἀποτελεσμάτων καί ἡ προσπάθεια πού πρέπει νά καταβάλλεται γιά νά ἀποφεύγονται λάθη.

Οἱ φυσιολογικές τιμές πού δίνονται στό βιβλίο ἐξαρτῶνται βέβαια ἀπό τήν τεχνική πού ἐφαρμόζεται, ἀλλά ἀντιπροσωπεύουν σχεδόν τίς πλέον ἀκραῖες παρατηρούμενες κυμάνσεις (93% ἤ περισσότερο). Οἱ τιμές τῶν ὑγιῶν ἀτόμων, πρέπει νά ἐμπίπτουν μέσα στά ὅρια τῶν τιμῶν πού ἀναφέρονται.

Ἐκεῖνο πού ἔχει μεγάλη σημασία γιά τούς μαθητές καί πρέπει νά τονισθεῖ ἰδιαίτερα, εἶναι ἡ πρακτική ἐξάσκηση τους μέ τήν ὁποία θά γνωρίσουν καλύτερα τήν ἀρχή κάθε μεθόδου καί τίς λεπτομέρειες κάθε τεχνικῆς. Ἐπίσης πρέπει νά τονισθεῖ ἡ ὑπευθυνότητα τῆς ἐργασίας καί ἡ ἀκρίβεια στίς λεπτομέρειες τῆς τεχνικῆς τῶν ἐξετάσεων γιά νά εἶναι αὐτές ἀξιόπιστες.

Τέλος εὐχαριστῶ τό ἐκδοτικό τμῆμα τοῦ Εὐγενιδείου Ἱδρύματος γιά τήν ἐν γένει βοήθειά του, ὥστε τό βιβλίο νά ἐκδοθεῖ καλύτερα.

Ὁ συγγραφέας

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΦΟΡΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

1.1 Γενικά περί διαλυμάτων.

Διαλύματα ὀνομάζονται τά ὑγρά ὁμογενή μίγματα πού ἀποτελοῦνται ἀπό δύο ἤ περισσότερα καθορισμένα σώματα πού δέν διακρίνονται μεταξύ τους μέ γυμνό μάτι ἤ μικροσκόπιο.

Διακρίνομε διαλύματα ἀερίων σέ ὑγρά (π.χ. ἀμμωνία σέ νερό), στερεῶν σέ ὑγρά (NaCl σέ νερό) καί ὑγρῶν σέ ὑγρά (οἰνόπνευμα σέ νερό).

Διαλυτικό μέσο ἤ ***διαλύτης*** ὀνομάζεται τό ὑγρό, στό ὁποῖο γίνεται ἡ διάλυση τῶν ἄλλων συστατικῶν, πού μέ τή σειρά τους ὀνομάζονται ***διαλυμένα σώματα.*** Οταν τά συστατικά εἶναι δύο, τότε ὡς διαλύτης θεωρεῖται αὐτό πού βρίσκεται σέ μεγαλύτερη ἀναλογία.

Διαλυτότητα ὀνομάζεται ἡ μέγιστη ποσότητα σέ γραμμάρια τῆς διαλυμένης οὐσίας πού μπορεῖ νά διαλυθεῖ κάτω ἀπό ὁρισμένες συνθῆκες σέ 100 cm^3 διαλυτικοῦ μέσου. Ὅταν δηλαδή προσθέσομε ποσότητα στερεοῦ σέ ὁρισμένη ποσότητα ὑγροῦ, τό στερεό ἀρχίζει νά διαλύεται καί ἡ ποσότητα τῆς διαλυμένης οὐσίας αὐξάνει βαθμιαία ὥς τήν πλήρη διάλυση τοῦ στερεοῦ. Ἄν προσθέσομε καί νέα ποσότητα στερεοῦ, ἡ διαλυμένη οὐσία αὐξάνει ὡς ἕνα ὁρισμένο ὅριο, πού ἐξαρτᾶται ἀπό τή φύση τοῦ στερεοῦ· πέρα ἀπό τό ὅριο αὐτό παραμένει σταθερή, ὅσο μεγάλη ποσότητα στερεοῦ καί ἄν προσθέσομε. Ἔτσι διακρίνομε ἕνα διάλυμα σέ ***κορεσμένο, ἀκόρεστο*** καί ***ὑπερκορεσμένο*** ἤ ***ὑπέρκορο.***

Κορεσμένο εἶναι τό διάλυμα πού περιέχει τόσο ποσό ἀπό τή διαλυμένη οὐσία, ὅσο ὁρίζει ἡ διαλυτότητα σέ ὁρισμένες συνθῆκες.

Ἀκόρεστο εἶναι τό διάλυμα πού περιέχει ποσό τῆς διαλυμένης οὐσίας μικρότερο ἀπό αὐτό πού ὁρίζει ἡ διαλυτότητα σέ ὁρισμένες συνθῆκες.

Ὑπερκορεσμένο ἤ ***ὑπέρκορο*** εἶναι τό διάλυμα πού περιέχει πολύ περισσότερο ποσό τῆς διαλυμένης οὐσίας ἀπό αὐτό πού ὁρίζει ἡ διαλυτότητα. Αὐτό συμβαίνει σέ τελείως εἰδικές συνθῆκες.

Ἀπόλυτη πυκνότητα ἤ ***ἁπλή πυκνότητα*** διαλύματος ὀνομάζεται τό πηλίκο τῆς μάζας τοῦ διαλύματος (διαλύτη καί διαλυμένου σώματος) διά τοῦ ὄγκου του καί ἐκφράζεται σέ g/cm^3.

Περιεκτικότητα διαλύματος.

Ἡ περιεκτικότητα ἐκφράζει γενικά τήν ποσότητα τῆς διαλυμένης οὐσίας σέ ὁρισμένη ποσότητα διαλύματος. Καθορίζεται μέ πολλούς τρόπους ἀπό τούς ὁποίους θά ἀναφέρομε δύο, τούς σπουδαιότερους.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

1) Περιεκτικότητα κατά βάρος, πού ἐκφράζει τά γραμμάρια τῆς διαλυμένης οὐσίας, πού περιέχονται σέ 100 g τοῦ διαλύματος.

2) Περιεκτικότητα κατά ὄγκο, πού ἐκφράζει τά γραμμάρια τῆς διαλυμένης οὐσίας, πού περιέχονται σέ 100 cm^3 τοῦ διαλύματος.

Συγκέντρωση διαλύματος.

Αὐτή ἐκφράζει γενικά τόν ἀριθμό τῶν γραμμαρίων, γραμμοϊσοδυνάμων ἤ γραμμοϊόντων τῆς διαλυμένης οὐσίας σέ ὁρισμένη ποσότητα διαλύματος ἤ διαλύτη. Συνήθως χρησιμοποιοῦνται.

1) Ἡ μοριακότητα ἤ μοριακή συγκέντρωση. Αὐτή ἐκφράζει τόν ἀριθμό τῶν γραμμομορίων τῆς διαλυμένης οὐσίας πού βρίσκεται σέ ἕνα λίτρο διαλύματος. Συμβολίζεται μέ τό ***M.*** Ἔτσι διάλυμα 0,2 M, σημαίνει διάλυμα πού περιέχει 0,2 moles τοῦ διαλυμένου σώματος σέ κάθε λίτρο διαλύματος.

2) Μοριακή συγκέντρωση κατά βάρος ἤ γραμμομοριακότητα. Αὐτή ἐκφράζει τά γραμμομόρια τοῦ διαλυμένου σώματος σέ 1000 g διαλύματος καί συμβολίζεται μέ τό ***m.***

3) Κανονικότητα. Χρησιμοποιεῖται μόνο γιά τά ὑδατικά διαλύματα τῶν ἰοντικῶν ἑνώσεων. Ἐκφράζει τόν ἀριθμό τῶν γραμμοϊσοδυνάμων Eq (δηλαδή τόσα γραμμάρια μιᾶς οὐσίας, ὅσο εἶναι τό μοριακό βάρος τῆς οὐσίας αὐτῆς, διά τοῦ σθένους της) τῆς διαλυμένης οὐσίας σέ ἕνα λίτρο διαλύματος. Συμβολίζεται μέ τό ***N.*** Ἔτσι κανονικό διάλυμα 1N καλεῖται τό διάλυμα πού περιέχει ἕνα γραμμοϊσοδύναμο τῆς διαλυμένης οὐσίας σέ ἕνα λίτρο διαλύματος.

4) Συγκέντρωση ἰόντος. Ἐκφράζει τόν ἀριθμό τῶν γραμμοϊόντων πού εἶναι διαλυμένα σέ ἕνα λίτρο διαλύματος καί συμβολίζεται μέ τό σύμβολο τοῦ ἰόντος μέσα σέ ἀγκύλες, π.χ. $[OH^-]$.

Ὑδατικά διαλύματα.

Ἀπό τά διαλυτικά μέσα, ἐκεῖνο πού χρησιμοποιεῖται περισσότερο εἶναι τό νερό. Γι' αὐτό καί τά ὑδατικά διαλύματα παρουσιάζουν μεγαλύτερο ἐνδιαφέρον. Ἀνάλογα μέ τή μορφή τῶν σωματιδίων τῆς διαλυμένης οὐσίας μέσα στό ὑδατικό διάλυμα, διακρίνομε τά ἑξῆς εἴδη ὑδατικῶν διαλυμάτων.

1) Μοριακά διαλύματα ἤ διαλύματα μή ἠλεκτρολυτῶν. Στά διαλύματα αὐτά ἡ διαλυμένη οὐσία βρίσκεται ὑπό μορφή μορίων.

2) Διαλύματα ἠλεκτρολυτῶν ἤ ἰοντικά διαλύματα. Στά διαλύματα αὐτά ἡ διαλυμένη οὐσία βρίσκεται ὑπό μορφή ἰόντων. Τέτοιες οὐσίες εἶναι οἱ ἠλεκτρολύτες, δηλαδή τά ὀξέα, οἱ βάσεις καί τά ἅλατα.

Τά ὑδατικά διαλύματα τῶν ἠλεκτρολυτῶν, ἐμφανίζουν ἠλεκτρική ἀγωγιμότητα. Οἱ ἠλεκτρολύτες κατά τή διάλυσή τους στό νερό διίστανται μερικῶς σέ ἰόντα. Ἀνάλογα μέ τό ποσοστό διαστάσεως οἱ ἠλεκτρολύτες διακρίνονται σέ ἰσχυρούς καί σέ ἀσθενεῖς.

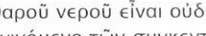
Ἠλεκτρόλυση ὀνομάζεται τό σύνολο τῶν χημικῶν μεταβολῶν πού συμβαίνουν ὅταν διέρχεται ἠλεκτρικό ρεῦμα μέσα ἀπό διάλυμα ἠλεκτρολυτῶν.

1.2 Ἰοντική ἰσχύς — Ἐνεργός ὀξύτητα (pH).

Τό κοινό νερό ἐμφανίζει ἠλεκτρική ἀγωγιμότητα, πού ὀφείλεται στά διάφορα ἄ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

λατα πού περιέχει. Παρατηρήθηκε ὅμως ὅτι καί τό τελείως καθαρό νερό, ἄν καί ἔχει οὐδέτερη ἀντίδραση, παρουσιάζει πολύ μικρή ἠλεκτρική ἀγωγιμότητα. Βγαίνει λοιπόν τό συμπέρασμα ὅτι τό νερό ἀποτελεῖ ἀσθενέστατο ἠλεκτρολύτη, πού διίσταται σέ μικρό βαθμό σέ ἰόντα:



$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

Ἡ ἀντίδραση τοῦ καθαροῦ νεροῦ εἶναι οὐδέτερη, ἐπειδή δημιουργεῖται ἴσος ἀριθμός H^+ καί OH^-. Τό γινόμενο τῶν συγκεντρώσεων τῶν ἰόντων τοῦ νεροῦ, σέ ὁρισμένη θερμοκρασία εἶναι σταθερό. Ἔτσι στούς 25° C τό γινόμενο αὐτό ἔχει τιμή 10^{-14} καί ἐπειδή οἱ δύο συγκεντρώσεις εἶναι ἴσες, καθε μία θά εἶναι ἴση μέ 10^{-7}.

$$[H^+]\,[OH^-] = 10^{-14} \quad \text{καί} \quad [H^+] = [OH^-] = 10^{-7}$$

Δηλαδή ἕνα λίτρο νεροῦ περιέχει: $\frac{1}{10\,000\,000}$ g H^+ καί $\frac{17}{10\,000\,000}$ g OH^-

Ἀφοῦ τό γινόμενο τῶν συγκεντρώσεων H^+ καί OH^- εἶναι σταθερό, ἄν μέ τήν προσθήκη ὀξέος ἤ βάσεως, αὐξηθεῖ ἡ συγκέντρωση τοῦ ἑνός ἀπό αὐτά, θά ἐλαττωθεῖ ἀντίστοιχα ἡ συγκέντρωση τοῦ ἄλλου, γιά νά διατηρηθεῖ σταθερό τό γινόμενο.

Ἑπομένως, ἄν γνωρίζομε τή συγκέντρωση τῶν H^+ ἤ τῶν OH^- σέ ἕνα διάλυμα, μποροῦμε νά ὑπολογίσομε τή συγκέντρωση τοῦ ἄλλου, ἀπό τό σταθερό γινόμενο $[H^+]\,[OH^-] = 10^{-14}$.

Ἔτσι π.χ. ἄν $[H^+] = 10^{-5}$, τότε θά εἶναι $[OH^-] = 10^{-9}$. Δηλαδή σέ ἕνα λίτρο διαλύματος θά περιέχονται (10^{-5}) g H^+ καί (17×10^{-9}) g OH^-.

Μέ ὅσα ἀναφέραμε παραπάνω ἡ ὄξινη ἤ βασική ἀντίδραση ἑνός διαλύματος μπορεῖ νά ἐκφρασθεῖ πλήρως μέ τή συγκέντρωση μόνο τῶν H^+ ἤ τῶν OH^-. Ἐπικράτησε ὅμως νά χρησιμοποιεῖται γιά τό σκοπό αὐτό ἡ συγκέντρωση τῶν H^+.

Ἐπειδή ὅμως ἡ συγκέντρωση τῶν H^+ εἶναι συνήθως πολύ μικρή καί ἐκφράζεται μέ ἀρνητικές δυνάμεις τοῦ δέκα ($H^+ = 10^{-p}$), χρησιμοποιεῖται ἁπλῶς ὁ ἐκθέτης p τῆς δυνάμεως αὐτῆς μέ ἀντίθετο σημεῖο, δηλαδή ὁ ἀρνητικός δεκαδικός λογάριθμος τῆς συγκεντρώσεως τῶν H^+. Ἔτσι ἡ ἔκφραση τῆς ὄξινης ἤ βασικῆς καταστάσεως ἑνός διαλύματος γράφεται μέ τό σύμβολο ***pH*** (πέ - χά), δηλαδή ὁ ἀρνητικός δεκαδικός λογάριθμος τῆς συγκεντρώσεως τῶν ὑδρογονοϊόντων H^+ διαλύματος.

$$pH = -\log [H^+]$$

Ἔτσι π.χ. $pH = 8$ σημαίνει διάλυμα μέ $[H^+] = 10^{-8}$ καί ἑπομένως $[OH^-] = 10^{-6}$. Δηλαδή σέ ἕνα λίτρο τοῦ διαλύματος περιέχονται 10^{-8} γραμμοϊόντα H^+ (10^{-8}g) καί 10^{-6} γραμμοϊόντα OH^- (17×10^{-6}g).

Τό pH ἐκφράζει τήν ***πραγματική*** (ἐνεργό) ὀξύτητα ἑνός διαλύματος πού δέν εἶναι ἀνάλογη μέ τό ποσό τοῦ διαλυμένου ὀξέος, ἀλλά μέ τόν ἀριθμό τῶν H^+ τά ὁποῖα ἀποδίδει. Τό καθαρό νερό ἔχει $pH = 7$, εἶναι δηλαδή οὐδέτερο διάλυμα. Τά ὄξινα διαλύματα ἔχουν $pH < 7$ καί τά βασικά $pH > 7$.

Στά διαλύματα τῶν ὀξέων, ὅσο μικρότερη εἶναι ἡ τιμή τοῦ pH τόσο ἰσχυρότερο

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

εἶναι τό ὀξύ. Ἐνῶ στά διαλύματα τῶν βάσεων, ὅσο πιό μεγάλη εἶναι ἡ τιμή τοῦ pH τόσο ἰσχυρότερη εἶναι ἡ βάση.

Τό pH προσδιορίζεται μέ διάφορες μεθόδους (μέ τή χρωματομετρική μέθοδο π.χ. συγκρίνομε τό χρῶμα πού ἀποκτᾶ μέσα σέ διάλυμα κατάλληλος δείκτης, μέ τό χρῶμα μιᾶς σειρᾶς διαλυμάτων γνωστῆς καί σταθερῆς τιμῆς τοῦ pH). Καλύτερα προσδιορίζεται τό pH μέ εἰδικά ἠλεκτρικά ὄργανα τά ***πεχάμετρα.***

1.3 Ὠσμωτική πίεση.

Ἔχομε δύο διαλύματα διαφορετικῆς πυκνότητας, πού χωρίζονται μέ μιά ἡμιπερατή μεμβράνη. Ἡ μεμβράνη ἐπιτρέπει μόνο τή δίοδο τῶν μορίων τοῦ νεροῦ καί δέν ἐπιτρέπει τή δίοδο τοῦ διαλύτη.

Τότε παρατηροῦμε ὅτι διέρχεται νερό ἀπό τήν ἡμιπερατή μεμβράνη, ἀπό τό ἀραιότερο διάλυμα πρός τό πυκνότερο, μέ ἀποτέλεσμα νά ἀραιωθεῖ αὐτό. Τό φαινόμενο αὐτό ὀνομάζεται ***ὥσμωση.***

Ἡ δύναμη πού ἀσκεῖται γιά τή μετακίνηση τοῦ νεροῦ καί πού ἐξαρτᾶται ἀπό τή διαφορά πυκνότητας τῶν διαλυμάτων, ὀνομάζεται ***ὠσμωτική πίεση.***

Ὅταν τά διαλύματα ἀποκτήσουν τήν ἴδια ὠσμωτική πίεση, δηλαδή γίνουν ***ἰσότονα,*** τότε δέν παρατηρεῖται διέλευση νεροῦ ἀπό τήν ἡμιπερατή μεμβράνη. ***Ἰσότονα,*** ἐπομένως ὀνομάζομε τά διαλύματα μέ τήν ἴδια ὠσμωτική πίεση. Ὅταν δύο διαλύματα διαφέρουν ὡς πρός τήν ὠσμωτική πίεση, αὐτό πού ἔχει μικρότερη λέγεται ***ὑπότονο*** καί αὐτό πού ἔχει μεγαλύτερη ***ὑπέρτονο.***

Δεῖκτες. Εἶναι ὀργανικές ἑνώσεις πού ἐμφανίζουν διάφορα χρώματα ἀνάλογα τήν ὀξύτητα ἤ τήν ἀλκαλικότητα τοῦ περιβάλλοντος, δηλαδή ἀνάλογα μέ τό pH. Οἱ δεῖκτες πρέπει νά εἶναι εὐπαθεῖς σέ μικρές μεταβολές τοῦ pH καί ἡ χρησιμοποίησή τους εἶναι ἀπαραίτητη κατά τήν ὀγκομέτρηση.

Ἐρωτήσεις.

1. Τί ὀνομάζομε διάλυμα, διαλυτικό μέσο καί διαλυμένα σώματα;
2. Ποιά διαλύματα λέγοται ὑπέρκορα, ἀκόρεστα καί κορεσμένα;
3. Τί λέμε ἀπόλυτη πυκνότητα καί τί περιεκτικότητα διαλύματος;
4. Τί εἶναι συγκέντρωση καί τί κανονικότητα διαλύματος;
5. Τί γνωρίζετε γιά τήν ὠσμωτική πίεση;

1.4 Μονάδες μετρήσεως.

Ἐπειδή ὑπάρχει μεγάλος ἀριθμός διαφόρων φυσικῶν μεγεθῶν, θά ἦταν πολύ δύσκολο νά καθιερωθεῖ γιά τό κάθε ἕνα μιά ἀνεξάρτητη μονάδα. Ἔγινε λοιπόν μιά συστηματοποίηση τῶν μονάδων τῶν διαφόρων μεγεθῶν ἔτσι, ὥστε ἀπό λίγες βασικές μονάδες, πού τίς ὀνομάζομε ***θεμελιώδεις μονάδες,*** νά προκύπτουν οἱ μονάδες τῶν ὑπολοίπων μεγεθῶν, πού ὀνομάζονται ***παράγωγες.*** Καθιερώθηκαν λοιπόν διάφορα συστήματα μονάδων, ὅπως τό ***μετρικό*** σύστημα ***(L.M.T.)*** πού περιλαμβάνει τρία μεγέθη, τό ***μῆκος,*** τή ***μάζα*** καί τό ***χρόνο*** καί πού μᾶς βοηθᾶ στίς διάφορες μετρήσεις πού κάνουμε στό ἐργαστήριο. Στό μετρικό σύστημα L.M.T. ὑπάγονται τά δύο ἀκόλουθα.

1) Τό σύστημα C.G.S. ἤ ***ἀπόλυτο σύστημα μονάδων,*** πού ἔχει θεμελιώδεις μονάδες τό ***ἑκατοστόμετρο*** (1 cm) γιά τό μῆκος, τό ***γραμμάριο*** (1 g) γιά τή μάζα καί τό ***δευτερόλεπτο*** (1 s) γιά τό χρόνο.

2) Τό σύστημα M.K.S. ἤ ***σύστημα Giorgi*** μέ θεμελιώδεις μονάδες τό ***μέτρο*** (1 m) γιά τό μῆκος, τό ***χιλιόγραμμο*** (1 kg) γιά τή μάζα καί τό ***δευτερόλεπτο*** (1 sec) γιά τό χρόνο.

Ἐκτός ἀπό τίς παραπάνω μονάδες χρησιμοποιοῦνται καί τά πολλαπλάσια ἤ ὑποπολλαπλάσιά τους.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Μῆκος.

1 μέτρο		$= 1$ m	
1 ἑκατοστόμετρο	1 cm	$= 10^{-2}$ m	
1 χιλιόμετρο	1 km	$= 10^{3}$ m	$= 10^{5}$ cm
1 δεκατόμετρο ἢ 1 παλάμη	1 dm	$= 10^{-1}$ m	$= 10$ cm
1 χιλιοστόμετρο	1 mm	$= 10^{-3}$ m	$= 10^{-1}$ cm
1 μικρό	1 μ	$= 10^{-6}$ m	$= 10^{-4}$ cm
1 Ångstron	1 Å	$= 10^{-10}$ m	$= 10^{-8}$ cm

Ἀπό τίς μονάδες μήκους προκύπτουν ἀντίστοιχα οἱ μονάδες ***ἐμβαδοῦ*** καί ***ὄγκου.***

Ὄγκος.

1 κυβικό μέτρο	$1\ m^3$	$= 10^6\ cm^3$	
1 κυβικό ἑκατοστόμετρο	$1\ cm^3$	$= 1$ ml	
1 λίτρο	$1\ l$	$= 10^3$ ml	$= 10^{-3}\ m^3 = 10^3\ cm^3$
1 κυβικό χιλιοστόμετρο	$1\ mm^3$	$= 10^{-3}\ cm^3$	$= 10^{-9}\ m^3$
1 κυβικό χιλιόμετρο	$1\ km^3$	$= 10^9\ m^3$	$= 10^{15}\ cm^3$
1 χιλιοστόλιτρο		$= 1\ cm^3$	$= 1$ ml

Ἐμβαδό.

1 τετραγωνικό ἑκατοστόμετρο	$1\ cm^2$		
1 τετραγωνικό μέτρο	$1\ m^2$	$= 10^4\ cm^2$	
1 τετραγωνικό χιλιόμετρο	$1\ km^2$	$= 10^6\ m^2$	$= 10^{10}\ cm^2$
1 τετραγωνικό χιλιοστόμετρο	$1\ mm^2$	$= 10^{-2}\ cm^2$	$= 10^{-6}\ m^2$

Μάζα - Βάρος.

1 χιλιόγραμμο	1 kg			
1 γραμμάριο	1 g	$= 10^{-3}$ kg		
1 τόννος	1 t	$= 10^{3}$ kg	$= 10^{6}$ g	
1 ἑκατοστόγραμμο	1 cg	$= 10^{-2}$ g	$= 10^{-5}$ kg	
1 χιλιοστόγραμμο	1 mg	$= 10^{-3}$ g	$= 10^{-6}$ kg	
1 γάμα	1 γ	$= 1$ μg	$= 10^{-6}$ g	$= 10^{-9}$ kg

Χρόνος.

1 Δευτερόλεπτο	1 sec ἢ s		
1 λεπτό	1 min	$= 60$ sec	
1 ὥρα	1 h	$= 60$ min	$= 3600$ sec
1 ἡμέρα		$= 24$ h	$= 1440$ min

Πυκνότητα.

Γραμμομόριο = mol
Χιλιοστό τοῦ γραμμομορίου = mmol
Μικρογραμμομόριο = μmol

Πολλές φορές θά συναντήσομε τήν παράσταση λοξή γραμμή (/). Αὐτή σημαίνει: τό πρῶτο ποσό στό δεύτερο, π.χ. mg/100 ml πού σημαίνει χιλιοστόγραμμα σέ 100 χιλιοστόλιτρα (cm^3). Πρέπει ἐπίσης νά ὑπενθυμίσομε ὁρισμένες γενικές ἔννοιες τῆς χημείας πού θά χρησιμοποιήσομε, γιά νά κατανοήσομε πιό εὔκολα τά ἑπόμενα.

Ἀτομικό βάρος καλεῖται ὁ ἀριθμός πού φανερώνει πόσες φορές πιό βαρύ εἶναι τό ἄτομο τοῦ στοιχείου ἀπό τό ἄτομο τοῦ ὑδρογόνου.

Μοριακό βάρος στοιχείου ἢ χημικῆς ἑνώσεως καλεῖται ὁ ἀριθμός πού φανερώνει πόσες φορές πιό βαρύ εἶναι τό μόριο τοῦ στοιχείου ἢ τῆς χημικῆς ἑνώσεως ἀπό τό 1/16 τοῦ βάρους τοῦ ἀτόμου τοῦ ὀξυγόνου.

Γραμμοάτομο στοιχείου καλεῖται μάζα του τόσων γραμμαρίων ὅσο εἶναι τό ἀτομικό του βάρος.

Γραμμομόριο στοιχείου ἢ χημικῆς ἑνώσεως καλεῖται μάζα τους τόσων γραμμαρίων ὅσο εἶναι τό μοριακό τους βάρος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Γραμμομοριακός ὄγκος ἤ ***μοριακός ὄγκος*** καλεῖται ὁ σταθερός ὄγκος πού καταλαμβάνει ἕνα γραμμομόριο ὁποιουδήποτε ἀερίου, στήν ἴδια θερμοκρασία καί πίεση.

Χημικό ἰσοδύναμο στοιχείου καλεῖται ὁ ἀριθμός πού φανερώνει πόσα μέρη βάρους τοῦ στοιχείου ἰσοδυναμοῦν χημικῶς μέ 8 μέρη βάρους ὀξυγόνου ἤ μέ 1 μέρος βάρους ὑδρογόνου ἤ μέ ἰσοδύναμο πρός αὐτά βάρος τρίτου στοιχείου.

Γραμμοϊσοδύναμο στοιχείου ἤ χημικῆς ἑνώσεως καλεῖται μάζα τόσων γραμμαρίων ὅσο τό χημικό ἰσοδύναμο.

Τά ἀποτελέσματα τῶν περισσότερων ποσοτικῶν προσδιορισμῶν διαφόρων οὐσιῶν τοῦ αἵματος, ἀναγράφονται ὡς βάρος τῆς οὐσίας σέ ὄγκο 100 ml ἤ 1000 ml αἵματος.

π.χ. g/100ml mg/100ml μg/100ml

Στήν Ἑλλάδα καί σέ ἀρκετές ἄλλες χῶρες ἐπικράτησε ἡ ἔκφραση «mg%» πού σημαίνει mg% = mg/100ml.

Γιά τούς περισσότερους καί συχνότερους βιοχημικούς προσδιορισμούς ὁ ὄγκος τοῦ αἵματος ἐκφράζεται σέ 100 ml. Ἐξαίρεση ἀποτελοῦν τά λευκώματα, πού ἀναγράφονται σέ γραμμάρια κατά λίτρο g/*l*, καί οὐσίες πού βρίσκονται σέ πολύ μικρές συγκεντρώσεις, ὅπως ὁ σίδηρος, καί ἐκφράζονται σέ μικρογραμμάρια μg/100 ml.

Ὑπάρχουν πολλά πλεονεκτήματα στό νά ἐκφράζομε τήν πυκνότητα οὐσιῶν, πού βρίσκονται σέ ἰοντισμό (ἠλεκτρολύτες) στό πλάσμα καί πού ἡ μεταβολή τους ἔχει ἀντίκτυπο στή μεταβολή ἄλλων ἰονισμένων οὐσιῶν, ὄχι ὡς g ἤ mg σέ 100 ml, ἀλλά ὡς ***χιλιοστοϊσοδύναμα*** (mEq) τῶν ἰόντων κατά λίτρο. Τό ἄθροισμα τῶν πυκνοτήτων τῶν ἀνιόντων πρέπει τότε νά ἰσοῦται πρός τό ἄθροισμα τῶν πυκνοτήτων τῶν κατιόντων. Αὐτό βοηθᾶ σημαντικά ὅταν εἶναι ἀνάγκη νά συγκριθεῖ ἡ πυκνότητα ἤ ἡ μεταβολή πυκνότητας ἑνός ἰόντος πρός τήν πυκνότητα ἤ τή μεταβολή πυκνότητας ἑνός ἄλλου ἰόντος.

Οὐσίες πού ἐκφράζονται σέ mEq/*l* εἶναι οἱ ἑξῆς:

Ἀνιόντα: Χλώριο, Διττανθρακικά, Φωσφορικά, Θειϊκά.

Κατιόντα: Νάτριο, Κάλιο, Ἀσβέστιο, Μαγνήσιο.

Γιά νά ὑπολογίσομε τήν πυκνότητα σέ mEq/*l* πολλαπλασιάζομε πρῶτα τήν πυκνότητα, πού ἐκφράζεται σέ mg/100ml = mg%, ἐπί 10 καί ἔτσι ἔχομε τήν πυκνότητα σέ mg/*l*. Ἔπειτα μετατρέπομε αὐτή τήν πυκνότητα σέ mEq/*l* μέ βάση τόν τύπο:

$$\boxed{\text{mEq}/l = \frac{\text{mg\%} \times \text{σθένος}}{\text{ἀτομικό βάρος}}}$$

Παράδειγμα. $$20 \text{ mg\% Ca} = \frac{20 \times 10 \times 2}{40} = 10 \text{ mEq}/l$$

Ἀκόμα πιό ἁπλά ὁ τρόπος μετατροπῆς τῶν mg% σέ mEq/*l*, μπορεῖ νά γίνει ἄν διαιρέσομε τά mg% μέ ὁρισμένους ἀριθμούς, πού ἀντιπροσωπεύουν τό πηλίκο σθένος × 10/ἀτομικό βάρος καί πού εἶναι γιά μερικές οὐσίες (πίνακας 1.4.1):

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.4.1.

Νάτριο	2,3	Φωσφορικά	1,72
Κάλιο	3,9	Διτανθρακικά	2,24
Ἀσβέστιο	2,0	Χλωριοῦχα	5,85
Μαγνήσιο I	1,2	Λευκώματα	0,41
Χλώριο	3,55		

Παρά τό ὅτι οἱ πυκνότητες ἀνιόντων καί κατιόντων ἐκφράζονται καλύτερα σέ mEq/*l*, οἱ μονάδες αὐτές δέν μποροῦν νά χρησιμοποιηθοῦν γιά νά ἐκφράσομε πυκνότητες οὐσιῶν, ὅπως εἶναι ἡ οὐρία, ἡ γλυκόζη καί ἄλλες ὀργανικές ἑνώσεις, πού δέν ἰοντίζονται καί ἀπαντοῦν σέ οὐσιώδεις πυκνότητες στά ὑγρά τοῦ ὀργανισμοῦ. Στήν περίπτωση αὐτή, ἡ πυκνότητα μορίων εἶναι σημαντική, καί καλύτερη μονάδα θά ἦταν τό ***γραμμομόριο*** ἤ τό ***χιλιοστογραμμομόριο*** κατά λίτρο. Ἔτσι οἱ πυκνότητες ἐκφράζονται ὡς ***μοριακή*** πυκνότητα ἤ ***χιλιοστομοριακή*** πυκνότητα τῆς οὐσίας κατά λίτρο αἵματος (mmol/*l*). Μέ τόν τρόπο αὐτό ἐκφράζονται τά μόρια τῆς οὐσίας πού ὑπάρχουν σέ ἕνα λίτρο ὑγροῦ. Μονάδα μετρήσεως εἶναι τό ***mole*** (γράφεται συνήθως ***mol***), ἀλλά στούς βιοχημικούς προσδιορισμούς χρησιμοποιεῖται τό milimole (γράφεται ***mmol***).

Ἕνα mol περιέχει 1000 mmol

Μονάδα ὄγκου ὑγροῦ, ὅπου προσδιορίζομε τά ***mmol*** τῆς οὐσίας, εἶναι τό λίτρο: Ἔτσι τελικά διαμορφώνεται τό mmol/*l*.

Μέ αὐτό τό σύστημα, πού ἔχει μονάδα μετρήσεως τό mmol/*l*, μποροῦν νά ἐκφρασθοῦν οἱ ποσοτικοί προσδιορισμοί ὅλων τῶν οὐσιῶν πού βρίσκονται στό αἷμα καί στά διάφορα ὑγρά τοῦ ὀργανισμοῦ, ἐφόσον ἔχουν γνωστό μοριακό βάρος καί ἐκφράζονται σέ mg% ἤ σέ mEq/*l*. Μόνο ὅσες οὐσίες δέν ἔχουν σταθερό μοριακό βάρος, ὅπως τά λευκώματα καί τά ἔνζυμα, δέν ἐκφράζονται μέ τό σύστημα αὐτό.

Μετατροπή τῶν mg% σέ mmol/l.

Ἄν ἐφαρμόσομε τόν παρακάτω τύπο, μποροῦμε νά μετατρέψομε τά mg% σέ mmol/*l*.

$$\text{mmol}/l = \frac{\text{mg\%} \times 10}{\text{μοριακό βάρος}} \quad \text{ἤ} \quad \frac{\text{mg}/l}{\text{μοριακό βάρος}}$$

Παράδειγμα 1.

Ἔστω ὅτι βρήκαμε 10 mg ἀσβέστιο: $\text{mmol}/l\ \text{ἀσβέστιο} = \frac{10 \times 10}{40} = 2{,}5$

Ἄρα 10 mg% ἀσβέστιο = 2,5 mmol/*l* ἀσβέστιο.

Ἄν τώρα θέλομε νά μετατρέψομε τά mmol/*l* σέ mg%, πολλαπλασιάζομε τά mmol/*l* μέ τό μοριακό βάρος καί διαιροῦμε μέ τό 10.

Παράδειγμα 2.

2,5 mmol/*l* ἀσβέστιο = 2,5 × 40 : 10 = 10 mg % ἀσβέστιο.

Τά μοριακά βάρη ὁρισμένων οὐσιῶν, πού προσδιορίζονται μέ βιοχημικούς προσδιορισμούς, φαίνονται στόν πίνακα 1.4.2:

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.4.2
Μοριακά βάρη διαφόρων ούσιών.

Ἀσβέστιο	40	Ἀμμωνία	17
Γαλακτικό ὀξύ	90	Γλυκόζη	180
Κρεατίνη	131	Μαγνήσιο	24,3
Κρεατινίνη	13	Μόλυβδος	207
Οὐρία	60	Οὐρικό ὀξύ	168
Σίδηρος	55,8	Φωσφόρος	30,9
Χολερυθρίνη	58,5	Χοληστερίνη	390
Διττανθρακικά	1	Κάλιο	1
Χλώριο	1	Νάτριο	1

Μετατροπή τῶν mEq/l σέ mmol/l.

Ἡ μετατροπή τῶν mEq/*l* σέ mmol/*l*, γίνεται ἄν ἐφαρμόσομε τόν τύπο:

$$\text{mmol}/l = \frac{\text{mEq}/l}{\text{σθένος}}$$

Ἀπό τόν τύπο αὐτό λοιπόν συμπεραίνομε, ὅτι ἄν ἡ οὐσία εἶναι μονοσθενής ὅπως τό νάτριο, κάλιο, διττανθρακικά, χλώριο, τότε τά mmol/*l* εἶναι τά ἴδια μέ τά mEq/*l*. Ἄν ὅμως ἔχει δύο σθένη, τότε διαιροῦμε τά mEq/*l* μέ τό 2 (δύο).

Ἡ μετατροπή τῶν mmol/*l* σέ mEq/*l* πραγματοποιεῖται ἄν πολλαπλασιάσομε τά mmol/*l* μέ τό σθένος:

$$\text{mEq}/l = \text{mmol}/l \times \text{σθένος}$$

Τέλος ἄν οἱ τιμές πού παίρνομε εἶναι πολύ μικρές, μποροῦμε νά γράφομε ὑποπολλαπλάσια τους, ὅπως μmol/*l*.

1.5 Μονάδες προσδιορισμοῦ ἐνζύμων.

Τά ἔνζυμα δέν μποροῦμε νά τά προσδιορίσομε ποσοτικά (σχ. 1.5). Γι' αὐτό μετροῦμε τήν ἐνζυμική τους δραστηριότητα ἀφήνοντάς τα νά ἐπιδράσουν ἐπάνω σέ ἕνα ὑπόστρωμα πού περιέχει τήν οὐσία πού διασπᾶ τό συγκεκριμένο ἔνζυμο. Μετά τήν ἐπίδραση τοῦ ἐνζύμου, μετροῦμε τή δραστικότητά του μέ διάφορους τρόπους, π.χ. μετροῦμε τό ποσό τῆς οὐσίας πού καταναλώθηκε ἀπό τό ὑπόστρωμα, ἤ μετροῦμε τό ποσό τοῦ προϊόντος πού ἀπελευθερώθηκε ἀπό τή διάσπαση τοῦ ὑποστρώματος κλπ. Ἔτσι οἱ μονάδες τῶν ἐνζύμων εἶναι ***ἐπώνυμες*** ἤ ***διεθνεῖς.***

Οἱ διεθνεῖς συμβολίζονται μέ IU ἤ U. Συνήθισμένες ἐκφράσεις τῶν μονάδων εἶναι iu/*l* = U/*l* ἤ mU/ml.

Ἐρωτήσεις.

1. Ποιές εἶναι οἱ θεμελιώδεις μονάδες μήκους, βάρους καί χρόνου;
2. Πῶς μετατρέπομε τήν πυκνότητα σέ χιλιοστοϊσοδύναμα;
3. Πῶς μετατρέπομε τά mg% σέ mmol/*l*;
4. Πῶς μετατρέπομε τά χιλιοστοϊσοδύναμα σέ mmol/*l*;
5. Ποιές οὐσίες ἐκφράζονται σέ χιλιοστοϊσοδύναμα;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ _____ Ν.Μ. _____ ΘΑΛ. _____

ΟΝΟΜΑ _____

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ _____

Ἀμυλάση	_____ μον.	Ἀλδολάση	_____ μον.
Λιπάση	_____ »	Ὄξινος φωσφατάση	_____ »
L.D H.	_____ »	Προστακτική »	_____ »
γ G.T.	_____ »	C-R Πρωτεΐνη	_____
L.A.P.	_____ »	Σίδηρος Fe ὁροῦ	_____ γ%
SOCT	_____ »	Δεσμευτική ἱκανότης Fe	_____ γ%
α HBDH	_____ »		
ICD	_____ »	Ἡμερομηνία	_____
CPK	_____ »	Ὑπογραφή	

14. ΑΙΜΑ (Ἔνζυμα κ.λπ)

Υεόδ. Ε. 2/6

Σχ. 1.5.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως προσδιορισμοῦ ἐνζύμων αἵματος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

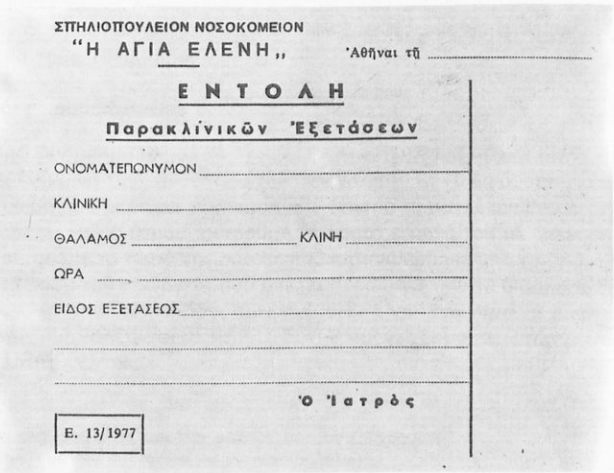
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

ΑΠΟΦΥΓΗ ΛΑΘΟΥΣ
ΕΝΤΥΠΑ ΑΠΑΝΤΗΣΕΩΝ ΚΑΙ ΑΡΧΕΙΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Ἡ πιθανότητα λάθους στό ἐργαστήριο εἶναι πολύ μεγάλη, ἐπειδή μεσολαβεῖ ὁ παράγοντας ἄνθρωπος. Τό λάθος τοῦ ἐργαστηρίου μπορεῖ νά δημιουργήσει ἀπό κωμικά γεγονότα ὡς σοβαρές καταστάσεις. Γι' αὐτό ὅσοι ἐργάζονται στό ἐργαστήριο πρέπει νά εἶναι πολύ προσεκτικοί. Λάθος μπορεῖ νά γίνει σέ ὁποιαδήποτε φάση τῆς διαδικασίας, ἀπό τή στιγμή τῆς παραγγελίας μιᾶς ἐξετάσεως, ὥς τήν ἔκδοση τοῦ ἀποτελέσματος καί τήν ἐγγραφή του στά ἔντυπα ἀπαντήσεων. Γιά νά ἐκμηδενίσομε τήν πιθανότητα λάθους πρέπει νά ἐφαρμόζομε σχολαστικά τά παρακάτω:

2.1 Παραγγελία ἐξετάσεως.

Ἡ παραγγελία τῆς ἐξετάσεως δίνεται ἀπό τόν κλινικό γιατρό. Αὐτή γράφεται σέ εἰδικό ἔντυπο «ἐντολή παρακλινικῶν ἐξετάσεων» (σχ. 2.1α). Στό ἔντυπο αὐτό γρά-


ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΕΙΟΝ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΝ
"Η ΑΓΙΑ ΕΛΕΝΗ,,

Ἀθῆναι τῇ .....

ΕΝΤΟΛΗ

Παρακλίνικῶν Ἐξετάσεων

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟΝ .....

ΚΛΙΝΙΚΗ .....

ΘΑΛΑΜΟΣ ..... ΚΛΙΝΗ .....

ΩΡΑ .....

ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΕΩΣ .....

.....

.....

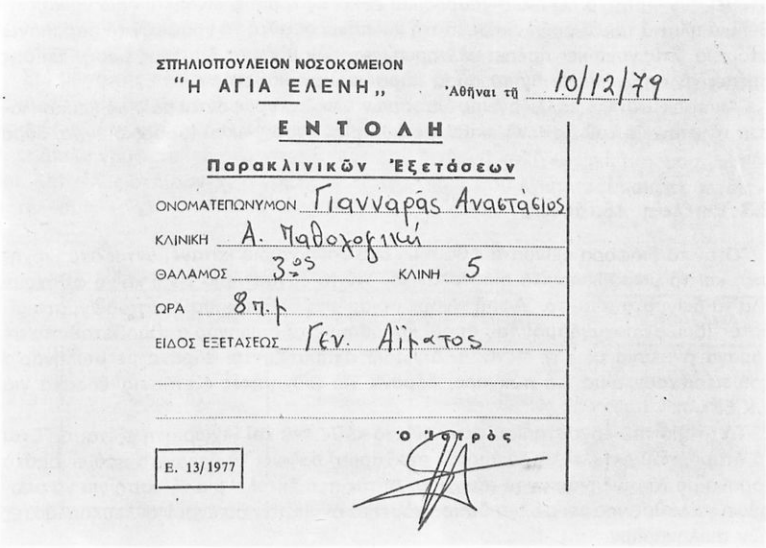
Ὁ Ἰατρὸς

Ε. 13/1977

Σχ. 2.1α.
Ἔντυπο ἐντολῆς παρακλινικῶν ἐξετάσεων.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

φονται τό ὀνοματεπώνυμο τοῦ ἀσθενῆ, ἡ κλινική στήν ὁποία νοσηλεύεται, ὁ θάλαμος καί ἡ κλίνη του, τό εἶδος τῆς ἐξετάσεως καί ἡ ἡμερομηνία. Τήν ἐντολή ἐξετάσεως ὑπογράφει ὁ γιατρός πού τήν παραγγέλνει. Οἱ ἐξετάσεις μποροῦν νά γραφοῦν ἡ κάθε μία σέ ξεχωριστό ἔντυπο ἤ πολλές μαζί (ὅπως π.χ. οἱ βιοχημικές πού γράφονται σέ ἕνα ἔντυπο) ἤ τέλος ὅλες σέ ἕνα ἔντυπο. Σέ εἰδικές περιπτώσεις γράφεται στό ἔντυπο τῆς παραγγελίας ἡ ἔνδειξη ***ἐπεῖγον*** πού σημαίνει ὅτι ὁ γιατρός χρειάζεται γρήγορα τό ἀποτέλεσμα τῆς ἐξετάσεως (σχ. 2.1β).



ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΕΙΟΝ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟΝ
"Η ΑΓΙΑ ΕΛΕΝΗ,,

Ἀθῆναι τῇ 10/12/79

ΕΝΤΟΛΗ

Παρακλινικῶν Ἐξετάσεων

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟΝ Γιανναρᾶς Ἀναστάσιος
ΚΛΙΝΙΚΗ Α. Παθολογική
ΘΑΛΑΜΟΣ 3ος ΚΛΙΝΗ 5
ΩΡΑ 8 π.μ.
ΕΙΔΟΣ ΕΞΕΤΑΣΕΩΣ Γεν. Αἷματος

Ὁ Ἰατρός

Ε. 13/1977

Σχ. 2.1β.
Τρόπος ἐγγραφῆς τῆς ἐντολῆς τῶν παρακλινικῶν ἐξετάσεων.

2.2 Λήψη δειγμάτων.

Ἄν πρόκειται γιά λήψη δειγμάτων αἵματος, τότε, αὐτός πού πραγματοποιεῖ τήν αἱμοληψία παραλαμβάνει τό πρωί κάθε μέρας τίς ἐντολές τῶν ἐξετάσεων καί ἀφοῦ προετοιμασθεῖ καταλλήλως γιά τήν αἱμοληψία, πάρει δηλαδή τά ἀνάλογα σωληνάρια ἤ φιαλίδια μέ ἀντιπηκτικό ἤ ὄχι πού χρειάζονται, ἐπισκέπτεται τόν ἀσθενή καί παίρνει τήν κατάλληλη ποσότητα αἵματος.

Πρίν ἀπό τή λήψη τῶν δειγμάτων τοποθετεῖ στό σωληνάριο ἤ τό φιαλίδιο ταινία ἀπό λευκοπλάστη, πάνω στόν ὁποῖο γράφει τό ὀνοματεπώνυμο τοῦ ἀσθενῆ καί τή

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ζητουμένη ἐξέταση ἤ ἐξετάσεις στήν περίπτωση πού τό αἷμα τοποθετεῖται στό ἴδιο σωληνάριο. Ἡ χρησιμοποίηση λευκοπλάστη εἶναι ὁ πιό ἀσφαλής τρόπος πρός ἀποφυγή λάθους. Ἡ χρησιμοποίηση χάρτινης ἐτικέτας ἤ ἡ περιτύλιξη τοῦ σωληναρίου μέ τό ἔντυπο τῆς ἐντολῆς, ἐγκυμονεῖ μεγάλους κινδύνους γιά λάθος. Μετά τήν τοποθέτηση τῆς ταινίας τοῦ λευκοπλάστη, τοποθετεῖται μέσα στό σωληνάριο ἡ ποσότητα τοῦ αἵματος πού χρειάζεται γιά τήν ἐξέταση ἤ τίς ἐξετάσεις.

Ἄν πρόκειται γιά δείγματα οὔρων, προτοῦ μεταφερθοῦν τά οὖρα στό ἐργαστήριο, πρέπει νά σημειωθοῦν πάνω στό δοχεῖο συλλογῆς τά ἀτομικά στοιχεῖα τοῦ ἐξεταζόμενου, ἡ ὥρα συλλογῆς, τό εἶδος τῆς ἐξετάσεως, καθώς καί τό ἄν ἔχει προστεθεῖ συντηρητικό. Ὁ πιό σίγουρος καί εὔκολος τρόπος, εἶναι καί ἐδῶ νά κολληθεῖ μιά πλατιά ταινία ἀπό λευκοπλάστη καί πάνω σ' αὐτή νά γραφοῦν τά παραπάνω στοιχεῖα. Στίς γυναῖκες πρέπει νά σημειώνεται ἄν ὑπάρχει ἔμμηνος ρύση. Ἐπίσης πρέπει νά σημειώνεται ἄν τά οὖρα πάρθηκαν μέ καθετήρα.

Ἄν πρόκειται γιά καλλιέργειες διαφόρων ὑλικῶν, γράφονται πάλι σέ λευκοπλάστη τά στοιχεῖα τοῦ ἀσθενῆ, καθώς καί τό εἶδος τοῦ ὑλικοῦ (ἀρθρικό ὑγρό, οὖρα κλπ.).

2.3 Ἐκτέλεξη ἐξετάσεως.

Ὅταν τά διάφορα δείγματα φθάσουν στό ἐργαστήριο κατανέμονται στό βιοχημικό καί τό μικροβιολογικό-αἱματολογικό. Ἄν τό ἐργαστήριο εἶναι κοινό φθάνουν ὅλα τά δείγματα σ' αὐτό. Ἀφοῦ γίνουν ὁρισμένες προετοιμασίες στά δείγματα αἵματος (ὅπως ἀποχωρισμός τοῦ ὀροῦ) καί οὔρων, τά σωληνάρια τοποθετοῦνται σέ ἕδρανα ἀνάλογα μέ τήν ἐξέταση. Δηλαδή, σχηματίζονται ἕδρανα μέ σωληνάρια πού περιέχουν αἷμα γιά σάκχαρο, ἕδρανα γιά βιοχημικές ἐξετάσεις, ἕδρανα γιά Τ.Κ.Ε. κλπ.

Τά ἄτομα τοῦ ἐργαστηρίου ἐκτελοῦν τό κάθε ἕνα καί ξεχωριστή ἐξέταση. Ἔτσι τό ἄτομο, πού ἐκτελεῖ τή δοκιμασία σακχάρου, παίρνει τά δείγματα πού εἶναι στό ἕδρανο μέ τά σωληνάρια γιά σάκχαρο. Αὐτός πού ἐκτελεῖ μιά ἐξέταση γιά νά ἀποφύγει τό λάθος γράφει σέ ἕνα ἄσπρο χαρτί τά ὀνόματα πού ἔχουν οἱ λευκοπλάστες τῶν σωληναρίων.

Ἀρχίζει τότε νά ἐκτελεῖ τήν ἐξέταση τοῦ πρώτου σωληναρίου. Τό ἀποτέλεσμα τό γράφει δίπλα στό ἀντίστοιχο ὄνομα. Π.χ. ὁ λευκοπλάστης τοῦ πρώτου σωληναρίου γράφει «Ἀρβανίτης σάκχαρο». Στό χαρτί ἔχει γράψει τό ὄνομα «Ἀρβανίτης». Ἐκτελεῖ τήν ἐξέταση γιά σάκχαρο, βρίσκει τό ἀποτέλεσμα καί γράφει στό χαρτί δίπλα ἀπό τό ὄνομα «Ἀρβανίτης» π.χ. 1,20 mg%.

Ἰδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στά σωληνάρια πού περιέχουν περισσότερες ἀπό μία ἐξετάσεις. Ἐκεῖ, μόλις γίνεται ἀπό τό σωληνάριο ἡ λήψη δείγματος γιά μιά ἐξέταση σβήνεται ἀπό τό λευκοπλάστη τοῦ σωληναρίου ἡ ἐξέταση αὐτή.

Στίς Τ.Κ.Ε., προτοῦ τοποθετήσομε τίς πιπέττες στό ἕδρανο, τοποθετοῦμε στή βάση τοῦ ἕδρανου Τ.Κ.Ε. λευκοπλάστες μέ τά ὀνόματα τῶν ἐξεταζομένων πού ὑπάρχουν στά σωληνάρια καί ὅταν παίρνομε τό αἷμα μέ τίς πιπέττες ἀπό τά σωληνάρια, τό τοποθετοῦμε στό σημεῖο πού ὁ λευκοπλάστης τοῦ ἑδράνου Τ.Κ.Ε. ἔχει τό ἴδιο ὄνομα μέ τό λευκοπλάστη τοῦ σωληναρίου. Στίς καλλιέργειες ὑλικῶν, γιά νά ἀποφύγομε τό λάθος γράφομε μέ ὑαλογράφο τά στοιχεῖα τοῦ ἐξεταζόμενου πάνω στά τρυβλία Petry.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

2.4 Ἐγγραφή ἀποτελεσμάτων.

Μόλις τελειώσει ἕνα ἄτομο τοῦ ἐργαστηρίου τήν ἐξέταση πού ἔκανε στά δείγματα αἵματος, παίρνει τό χαρτί ὅπου ἔχει γράψει τά ἀποτελέσματα καί βρίσκει τό ἔντυπο τῆς ἐντολῆς τῆς ἐξετάσεως κάθε ἐξεταζόμενου. Στό χαρτί τῆς ἐντολῆς γράφει τό ἀποτέλεσμα τῆς ἐξετάσεως. Ὅταν τελειώσουν ὅλες οἱ ἐξετάσεις, τά ἀποτελέσματα εἶναι γραμμένα στά ἔντυπα ἐντολῶν. Τά ἔντυπα αὐτά πρωτοκολλοῦνται. Ἄν τό ἐργαστήριο διατηρεῖ ἕνα βιβλίο γιά ὅλες τίς ἐξετάσεις ὡς βιβλίο πρωτοκόλλου, τότε πρωτοκολλοῦνται ὅλα τά ἔντυπα ἐντολῶν ἐκεῖ. Ἄν τό ἐργαστήριο διατηρεῖ περισσότερα βιβλία, δηλαδή ἄλλο γιά βιοχημικές, ἄλλο γιά αἱματολογικές κλπ., τότε πρωτοκολλοῦνται τά ἔντυπα ἐντολῶν στά ἀντίστοιχα βιβλία.

Ἡ πρωτοκόλληση γίνεται ὡς ἑξῆς (πίνακας 2.4.1):

Στό μέσο τῆς σελίδας τοῦ βιβλίου γράφομε τήν ἡμερομηνία. Κάτω ἀπό τήν ἡμερομηνία καί στό ἄκρο ἀριστερά γράφομε τόν ἀριθμό πού ἀποτελεῖ συνέχεια τῆς προηγούμενης ἡμέρας. Ὁ ἀριθμός αὐτός γράφεται καί πάνω στό ἔντυπο τῆς ἐντολῆς. Δίπλα γράφεται τό ὀνοματεπώνυμο τοῦ ἀσθενῆ καί ἡ κλινική πού νοσηλεύεται. Καί τέλος στή συνέχεια γράφομε τίς ἐξετάσεις πού ἔγιναν καί ποιό εἶναι τό ἀποτέλεσμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.4.1

Τρόπος ἐγγραφῆς ἀποτελεσμάτων στό πρωτόκολλο τοῦ ἐργαστηρίου

α/α	ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	ΚΛΙΝΙΚΗ	ΕΞΕΤΑΣΗ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ
		27-11-79		
2137	Ἀλεξίου Ἀλ.	Α΄ Παθολογική	Σάκχαρο αἵματος	1,05 mg %
			Οὐρία αἵματος	0,30 mg %
			Χολερυθρίνη	0,7 mg %
2138	Παλαιολόγος Ν.	Οὐρολογική	Χοληστερίνη	250 mg %
			Λευκώματα αἵματος	6,6 g %

Μέ τήν πρωτοκόλληση διατηρεῖται ἕνα ἱστορικό τοῦ ἀσθενῆ καί τό ἐργαστήριο εἶναι σέ θέση νά πληροφορήσει τούς κλινικούς γιατρούς ἤ τόν ἐνδιαφερόμενο, ποιές ἐξετάσεις ἔγιναν καί ποιά εἶναι τά ἀποτελέσματα σέ μιά συγκεκριμένη ἡμερομηνία.

Σέ ὁρισμένα νοσοκομεῖα, ἐκτός ἀπό τά βιβλία πρωτοκόλλου, διατηροῦνται καί καρτέλες γιά κάθε ἀσθενή, πάνω στίς ὁποῖες μεταφέρονται τά στοιχεῖα του, οἱ ἐξετάσεις πού ἔγιναν καί τά ἀποτελέσματά τους, ὅσο χρονικό διάστημα παραμένει αὐτός στό νοσοκομεῖο.

Στή συνέχεια τά ἀποτελέσματα τῶν ἐξετάσεων γράφονται σέ εἰδικά ἔντυπα ἀπαντήσεων πού ὑπάρχουν γιά τίς ἐξετάσεις. Ὑπάρχει ἔντυπο Γενικῆς Αἵματος (σχ. 2.4α), Γενικῆς Οὔρων, Βιοχημικῶν Ἐξετάσεων (σχ. 2.4β), Καλλιεργειῶν (σχ. 2.4γ) κλπ. Τόσο ἡ πρωτοκόλληση, ὅσο καί ἡ ἐγγραφή τῶν ἀποτελεσμάτων στά ἔντυπα ἀπαντήσεων πρέπει νά ἐπαληθεύονται γιά νά ἀποφεύγονται τά λάθη.

Τέλος τά ἔντυπα ἀπαντήσεων στέλνονται στίς κλινικές καί τά ἔντυπα τῶν ἐντολῶν φυλάγονται στό ἐργαστήριο γιά κάποιο χρονικό διάστημα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ Ορθοπεδικά Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. 7

ΟΝΟΜΑ Παπαδόπουλος Αναστάσιος

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ 13.141

Ἐρυθρά 5.200.000 κ.κ.χ.
Αἱμοσφαιρίνη 15,8 γρ. ο/ο
Αἱματοκρίτης 47 ο/ο
Μέσος ὄγκος ἐρυθρῶν 89 κυβ. μ.
Μέση κατ' ἐρυθρὸν ΗΒ 32 γγ
Μέση πυκνότης ΗΒ 36 ο/ο
Ἐμπύρηνα ἐρυθρά (κατά 100 λευκά) .....
Δικτυοερυθροκύτταρα 2 ο/οο
Αἱμοπετάλια 300.000 κ.κ.χ.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΕΡΥΘΡΩΝ

Ἀνισοκύττωσις .....
Ποικιλοκύττωσις .....
Ὑποχρωμία .....
Στοχοκύτταρα .....
Σφαιροκύτταρα .....
Σχιστοκύτταρα .....
Μακροκύτταρα .....
Βασόφιλος Στῖξις .....
Πολυχρωματόφιλα ἐρυθρά .....

Λευκά 7.000 κ.κ.χ.

ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ο/ο

Μυελοβλάσται .....
Προμυελοκύτταρα .....
Μυελοκύτταρα οὐδετερόφιλα .....
Μεταμυελοκύτταρα » .....
Ραβδοπύρηνα .....
Πολυμορφοπύρηνα { ἡωσινόφιλα 2 / οὐδετερόφιλα 60 / βασόφιλα 1 }
Λεμφοκύτταρα 33
Μονοκύτταρα 4
Πλασματοκύτταρα .....

Τ.Κ.Ε. 1η ὥρα 8 μ.μ.

Παρατηρήσεις : ΔΥΣκρασία

Ἡμερομηνία 4/1/80
Ὑπογραφή .....

4. ΓΕΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Ὑπόδ. Β - 1/3

Σχ. 2.4α.

Ἔντυπο ἀπαντήσεως γενικῆς αἵματος.

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. .....

ΟΝΟΜΑ .....

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

Σάκχαρον ..... mg%

Οὐρία ..... mg%

Ἡμερομηνία .....
Ὑπογραφή

21. ΑΙΜΑ (Σάκχαρον - Οὐρία)

Ὑπόδ. Β - 2/13

Σχ. 2.4β.

Ἔντυπο ἀπαντήσεως προσδιορισμοῦ οὐρίας καί σακχάρου στό αἷμα.

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. .....

ΟΝΟΜΑ .....

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

Ἐξέτασις τ. .....

Μικροσκοπικῶς : .....

Καλλιέργειαι : Ἀνεπτύχθησαν ἀποικίαι : .....

Ἔλεγχος εἰς τ' ἀντιβιοτικά :

Πενικελλίνη	.....	Λινκομυκίνη	.....
Μεθισιλλίνη	.....	Στρεπτομυκίνη	.....
Ὀξασιλλίνη	.....	Καρμπενισιλλίνη	.....
Κλοξασιλίνη	.....	Γενταμυσίνη	.....
Δικλοξασιλίνη	.....	Ὀξυτετρακυκλίνη	.....
Ἀμπισιλλίνη	.....	Τετρακυκλίνη	.....
Ἐτασιλλίνη	.....	Χλωραμφενικόλη	.....
Κεφαλοθίνη	.....	Νοβομπιοκίνη	.....
Κεφαλοριδίνη	.....	Κολιστίνη	.....
Σεφαπυρίνη	.....	Νιτροφ/αντοΐνη	.....
Σεφραντίνη	.....	Ναλιδιξικὸν ὀξὺ	.....
Ἐρυθρομυκίνη	.....	Σουλφα-Τριμεθοπρίνη	.....

Ἡμερομηνία .....
Ὑπογραφή

30. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΙ

Ὑπόδ. Ε - 3/2

Σχ. 2.4γ.

Ἔντυπο ἀπαντήσεως καλλιέργειας.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Η ΕΞΕΤΑΣΗ ΤΩΝ ΟΥΡΩΝ

3.1 Γενική οὔρων.

Ἡ συνήθης ἐξέταση τῶν οὔρων, πού ὀνομάζεται ***γενική*** ἔχει εὐρεία χρήση καί μεγάλη διαγνωστική σημασία. Μέ τή γενική ἐξέταση οὔρων προσδιορίζονται ***οἱ γενικοί χαρακτῆρες τῶν οὔρων, τά συστατικά τους*** καί ***ἀναφέρονται τά μικροσκοπικά εὑρήματα.***

Γιά τούς περισσότερους ποιοτικούς προσδιορισμούς εἶναι ἀρκετό ὁποιοδήποτε πρόσφατο δεῖγμα οὔρων, ἀλλά πρέπει νά τονισθεῖ ὅτι ἡ πρώτη πρωινή οὔρηση εἶναι ἡ πιό κατάλληλη, γιατί τά οὖρα αὐτά εἶναι πυκνότερα καί ἔτσι περιέχουν σέ πιό μεγάλη ἀναλογία τά διάφορα συστατικά. Ἡ οὔρηση πρέπει νά γίνεται σέ καθαρά, γυάλινα καί εὐρύστομα δοχεῖα.

Ἡ ἐξέταση τοῦ δείγματος τῶν οὔρων πρέπει νά πραγματοποιεῖται μέσα σέ μισή ὥρα, διαφορετικά ἀπαιτεῖται κατάλληλη συντήρηση καί φύλαξή τους. Ὅταν τά οὖρα παραμένουν σέ θερμό περιβάλλον, συνήθως δροῦν ὡς θρεπτικό ὑλικό γιά τούς διάφορους μικροοργανισμούς πού τά ἀλκαλοποιοῦν. Γιά νά συντηρηθοῦν τά οὖρα, τά τοποθετοῦμε μέσα σέ ψυγεῖο ἤ χρησιμοποιοῦμε συντηρητικά, ὅπως θυμόλη, ὑδροχλωρικό ὀξύ, τολουόλιο κλπ.

Ὁ ποσοτικός προσδιορισμός διαφόρων συστατικῶν τῶν οὔρων, προϋποθέτει τή συγκέντρωση ὅλων τῶν οὔρων πού ἀποβάλλονται κατά τή διάρκεια τοῦ 24ώρου καί τό ποσό τῶν συστατικῶν πού προσδιορίζονται ἐκφράζεται ὡς ποσό πού ἀποβάλλεται κατά τό 24ωρο.

Ἡ ἐξέταση προσφάτων πρωινῶν οὔρων δίνει φυσιολογικά τά παρακάτω εὑρήματα (σχ. 3.1):

Ὄψη:	Διαυγής
Χροιά:	Κίτρινη
Ε.Β:	1010-1025
Ἀντίδραση:	Ὄξινη
Λεύκωμα:	Δέν ἀνευρίσκεται
Σάκχαρο:	Δέν ἀνευρίσκεται
Μικροσκοπικῶς:	Κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἰζήματος τῶν οὔρων ἀνευρίσκονται ἐπιθήλια ἐλάχιστα, πυοσφαίρια σπάνια, σπάνιοι ὑαλώδεις κύλινδροι καί διάφοροι κρύσταλλοι.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΕΞΕΤΑΣΙΣ ΟΥΡΩΝ

Ὀνομα ἀσθενοῦς Παπαδέας Δημήτριος Ἀριθ. Πρωτ. 4153

Τμῆμα Ν. Ορθοπεδική Περίπτερον

ΓΕΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

Ποσὸν 100 κ.εκ Ἴζημα 0χι

Ὄψις διαυγής Ἀντίδρασις ὀξινος

Χροιὰ κιτρινη Εἰδικὸν Βάρος 1018

ΧΗΜΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΙΣ

Λεύκωμα 0χι

Σταφυλοσάκχαρον 0χι

Ἀκετόνη 0χι

Διοξεικὸν ὀξὺ 0χι

Αἱμοσφαιρίνη 0χι

Οὐροχολίνη 0χι

Χολοχρωστικαὶ 0χι

Χολικὰ ἅλατα % 0χι

ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΙΣ

Κρύσταλλοι ουρικου ὀξέος Ὑελοειδεῖς ὀχι

Ἀμορφα ἅλατα — Ὑελοκοκκώδεις —

Λευκοκύτταρα 1-2 κ.ο.π Κοκκώδεις —

Ἐρυθροσφαίρια Αἱμορραγικοί —

Βλέννη ὀχι Λιπώδεις —

Κυλινδροειδῆ βλέννη — Κύλινδροι Πυώδεις —

Ψευδοκύλινδροι — Κηρώδεις —

Μικροοργανισμοί —

Ἐπιθήλια —

ΙΑΤΡΟΣ

Ὑπόδ. 1521–

Σχ. 3.1.
Τρόπος ἐγγραφῆς τῆς γενικῆς οὔρων (φυσιολογική).

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

3.2 Γενικοί χαρακτῆρες τῶν οὔρων.

α) Ποσό.

Τό ποσό τῶν οὔρων πού ἀποβάλλεται σέ ἕνα 24ωρο ἀπό ἕνα φυσιολογικό ἄτομο μέ μέσο βάρος, εἶναι γιά τούς ἄνδρες 1200-1400 cm^3 καί γιά τίς γυναῖκες 1000-1200 cm^3. Εἰδικότερα, κατά kg βάρους σώματος τό 24ωρο ἀποβάλλονται 18-20 cm^3 οὔρων.

β) Χροιά.

Φυσιολογικά ἡ χροιά τῶν οὔρων εἶναι κίτρινη ἤ ἠλεκτρόχρωμη. Αὐτή ἐξαρτᾶται κυρίως ἀπό τήν πυκνότητα τῶν χρωστικῶν πού περιέχονται σ' αὐτά καί ἀπό τήν παρουσία ἀποβαλλομένων φαρμάκων. Οἱ χρωστικές τῶν οὔρων εἶναι τό οὐρόχρωμα, ἡ οὐροχολίνη, τό ἰνδοξύλιο, οἱ πορφυρίνες καί ἡ οὐροζεΐνη.

γ) Ὄψη.

Ἡ ὄψη τῶν οὔρων πού πάρθηκαν πρόσφατα εἶναι ***διαυγής*** καί διαφανής. Ἄν ὅμως παραμείνουν μέσα σέ δοχεῖο σχηματίζεται νεφέλωμα ἀπό τήν καθίζηση βλέννας καί ἐπιθηλιακῶν κυττάρων. Θολερότητα ἐμφανίζεται ὅταν τά οὖρα περιέχουν πύον, αἷμα, μικρόβια, λίπη, βλέννα καί μεγάλη ποσότητα φωσφορικῶν, ὀξαλικῶν καί οὐρικῶν ἁλάτων.

δ) Ὀσμή.

Φυσιολογικά ἡ ὀσμή τῶν οὔρων εἶναι ***ἰδιάζουσα*** καί ἐλαφρῶς ἀρωματική. Ἡ ὀσμή αὐτή ὀφείλεται σέ πτητικά προϊόντα. Ἄν ὅμως παραμείνουν τά οὖρα σέ δοχεῖο, ἀναδύουν ὀσμή ἀμμωνίας, ἐπειδή διασπᾶται ἡ οὐρία τους. Δυσάρεστη ὀσμή ἀναδύεται ὅταν ὑπάρχει πυουρία καί ὀφείλεται στήν δράση τῶν μικροβίων.

ε) Εἰδικό βάρος.

Ἐξαρτᾶται ἀπό τήν ἐκλεκτική ἐπαναρρόφηση τῶν οὐροφόρων σωληναρίων καί ἐπηρεάζεται ἀπό τήν πυκνότητα τῶν οὐσιῶν πού εἶναι διαλυμένες μέσα σ' αὐτά καί ἀπό τήν παρουσία ἐμμόρφων στοιχείων. Ἡ φυσιολογική τιμή κυμαίνεται ἀπό 1010-1025. Ὁ προσδιορισμός του γίνεται μέ τό ***οὐριόμετρο*** ἤ τό ***πυκνόμετρο.*** Σέ περίπτωση πού τό δεῖγμα τῶν οὔρων εἶναι μικρῆς ποσότητας, ἐπανάλαμβάνεται ἡ λήψη τοῦ δείγματος, καί ἄν αὐτό εἶναι ἀδύνατο, τότε τό εἰδικό βάρος προσδιορίζεται μέ ζύγιση.

στ) Ἀντίδραση.

Ἡ ἀντίδραση τῶν φυσιολογικῶν προσφάτων οὔρων εἶναι ***ὄξινη*** μέ φυσιολογική τιμή pH πού κυμαίνεται γύρω στά 6,0. Τά οὖρα πού δέν εἶναι πρόσφατα, ἔχουν ἀλκαλική ἀντίδραση, λόγω τῆς ἀμμωνίας πού σχηματίζεται ἀπό τή διάσπαση τῆς οὐρίας πού περιέχουν. Ἡ ἀντίδραση τῶν οὔρων προσδιορίζεται χοντρικά μέ ***χαρτί ἡλιοτροπίου,*** περισσότερο ὅμως ἀκριβή ἀποτελέσματα ἔχομε ***μέ χαρτί-δείκτη pH στενῆς περιοχῆς ἐνδείξεων.***

3.3 Συστατικά τῶν οὔρων.

Τά φυσιολογικά συστατικά τῶν οὔρων διακρίνονται σέ ***ἀνόργανα, ὀργανικά, στερεά*** καί ***νερό.***

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Τά ἀνόργανα συστατικά εἶναι: χλώριο, νάτριο, κάλιο, φωσφορικά, ἀσβέστιο, μαγνήσιο, ἀμμωνία, σίδηρος, χαλκός, μαγγάνιο, ἰωδιοῦχα, νιτρικά καί θειοῦχες ἑνώσεις (πίνακας 3.3.1).

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3.1
Φυσιολογικές τιμές ἀνοργάνων συστατικῶν σέ οὖρα 24/ωρου

ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
Χλωριοῦχα (NaCl)	12 - 14 g
Χλώριο (Cl)	7,6 - 9,6 g
Νάτριο (Na)	5 - 6,5 g
Κάλιο (K)	2,5 - 3 g
Φωσφορικά (PO_4)	3,5 - 4,1 g
Μαγνήσιο (Mg)	0,10 - 0,20 g
Ἀσβέστιο (Ca)	0,15 - 0,25 g
Ἀμμωνία (NH_3)	0,70 - 0,95 g
Σίδηρος (Fe)	1 - 5 mg
Χαλκός (Cu)	0,30 - 0,45 mg
Μαγγάνιο (Mn)	ἴχνη
Νιτρικά	0,4 - 0,8
Ἰωδιοῦχα	28 - 65 γ

Τά ὀργανικά συστατικά εἶναι: οὐρία, κρεατίνη, κρεατινίνη, ἀμινοξέα, οὐρικό ὀξύ, βάσεις πουρίνης, ὁρμόνες, ὀργανικά ὀξέα, ἔνζυμα καί βιταμίνες (πίνακας 3.3.2).

Ἐκτός ἀπό τά φυσιολογικά συστατικά, στά οὖρα ἀνευρίσκονται καί παθολογικά συστατικά, ὅπως λεύκωμα, σάκχαρο, λίπη, κετονικά ἤ ὀξονικά σώματα, αἱμοσφαιρίνη, χολικά ἅλατα, χολοχρωστικές καί φάρμακα (σχ. 3.3).

Ἐρωτήσεις.
1. Ποιοί εἶναι οἱ γενικοί χαρακτῆρες τῶν οὔρων;
2. Σέ τί διακρίνονται τά συστατικά τῶν οὔρων;
3. Ποιά εἶναι τά παθολογικά συστατικά τῶν οὔρων;
4. Τί γνωρίζετε γιά τήν ἀντίδραση τῶν οὔρων;
5. Τί προσδιορίζεται μέ τή «γενική οὔρων»;

3.4 Ποιοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων.

Ἡ ποιοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων ἔχει ἁπλουστευθεῖ μέ τή χρησιμοποίηση διαφόρων δισκίων καί λωρίδων χαρτιοῦ πού ἔχει ἐμποτισθεῖ μέ ἀντιδραστήρια. Τά δίσκια καί οἱ λωρίδες χαρτιοῦ ἐπιτρέπουν νά γίνονται ἄμεσες χρωματικές ἀντιδράσεις. Τά ἀποτελέσματα εἶναι τόσο ἀκριβή, ὅσο καί τῶν κλασικῶν προσδιορισμῶν μέ διαλύματα ἀντιδραστηρίων.

3.4.1 Λεύκωμα.

Φυσιολογικά στά οὖρα δέν ἀνευρίσκεται λεύκωμα παρά μόνο ἴχνη λευκώματος

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3.2

Φυσιολογικές τιμές όργανικών συστατικών σέ οὔρα 24/ώρου

ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
Οὐρία	25 - 35 g
Κρεατίνη	80 - 100 mg
Κρεατινίνη	1 - 1,8 g
Ἀμινοξέα	0,5 - 0,8 g
Οὐρικό ὀξύ	0,5 - 1 g
Βάσεις πουρίνης	16 - 20 mg
Οἰστρογόνα	Ἄνδρες 2 - 29 mg Γυναῖκες 4 - 160 mg
Προγεστερόνη	Γυναῖκες 50 - 120mg Ἄνδρες Δέν ὑπάρχει
Γοναδοτρόποι ὁρμόνες ὑποφύσεως	6 - 50 μονάδες
Χοριακή γοναδοτρόπος	Στίς γυναῖκες ἴχνη (ἐπί κυήσεως) 2000 - 10000 μονάδες
Κορτικοστεροειδή	1 - 2,5 mg
17-κετοστεροειδή	10 - 20 mg
Ἀμυλάση	16 - 64 D38°/30 κατά Wolhgemuth
Βιταμίνη B_1 ἤ Θειαμίνη	50 - 150 γ
Βιταμίνη B_2 ἤ Ριβοφλαβίνη	500 - 800 γ
Βιταμίνη B_6 ἤ Πυριδοξίνη	0,5 γ κατά cm^3 οὔρων
Βιταμίνη B_{12} ἤ Κυανοκοβολαμίνη	Πάνω ἀπό 15% τῆς ραδιενεργοῦ B_{12} πού χορηγήθηκε
Βιταμίνη C ἤ Ἀσκορβινικό ὀξύ	29 mg

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ _____ Ν.Μ. _____ ΘΑΛ. _____

ΟΝΟΜΑ _____

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ _____

Ὄγκος 24ώρου		5-HIAA	mg/24ωρον
Οὐρία	mg/ml	Οὐροπεψίνη	μον.
Κρεατινίνη	»	Διαστάση	»
Οὐρικὸν ὀξὺ	mg/24ωρον	DIAGNEX	
Ἀμινοξέα	»	Βαρβιτουρικὰ	
P.S.P. (ἀπέκρ.)	%	Σαλικυλικὰ	mg %
D – Ξυλόζη	g/5ωρον	Μελανίνη	
BENCE – JONES		Πορφυρίνη	

Ἡμερομηνία _____

Ὑπογραφὴ

Ὑπόδ. Β - 2/9

17. ΟΥΡΑ (Διάφορα)

Σχ. 3.3.

Ἔντυπο ἀπαντήσεων προσδιορισμοῦ διαφόρων φυσιολογικῶν καί παθολογικῶν συστατικῶν τῶν οὔρων.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

μικροῦ μοριακοῦ βάρους. Ἡ παρουσία λευκώματος στά οὖρα ἀποτελεῖ τήν καλούμενη ***λευκωματουρία*** καί τό ποσό του ἐκφράζεται σέ ***ἴχνη, ἴχνη ἐλάχιστα, ἴχνη σαφή*** καί ***μετρητό λεύκωμα.*** Ὅταν μέ τήν ποιοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων διαπιστωθεῖ παρουσία λευκώματος, τότε γίνεται καί ποσοτικός προσδιορισμός τοῦ λευκώματος, διαφορετικά δέν προβαίνομε σέ ποσοτικό προσδιορισμό. Ἡ παρουσία λευκώματος στά οὖρα διαπιστώνεται μέ μιά ἀπό τίς ἑξῆς τρεῖς μεθόδους.

α) Δοκιμασία βρασμοῦ.

Στήν ἐξέταση αὐτή μεγάλη σημασία ἔχει τό pH τῶν οὔρων. Δοκιμαστικός σωλήνας γεμάτος κατά τά $^3/_4$ μέ διαυγή διηθημένα ἄν εἶναι ἀπαραίτητο, οὖρα, ἐλέγχεται μέ χαρτί ἡλιοτροπίου καί ρυθμίζεται τό pH τῶν οὔρων ἐλαφρά ὄξινο μέ τήν προσθήκη μιᾶς σταγόνας ὀξικοῦ ὀξέος. Ἡ ἀνώτερη στιβάδα τῶν οὔρων τοῦ σωλήνα, μέ ἐλαφρά κλίση του, θερμαίνεται σέ μικρή φλόγα ὥσπου αὐτή νά βράσει. Ἡ ἐμφάνιση ***θολερότητας*** φανερώνει τήν παρουσία λευκώματος.

β) Χάρτης-Δείκτης Albustix.

Πρόκειται γιά δοκιμασία λευκώματος πολύ εὐαίσθητη καί ἱκανή νά ἀνιχνεύσει μικρές ποσότητές του στά οὖρα (20 Mg/100 M*l* ἤ καί λιγότερα). Τό Albustix περιέχει δείκτη καί ρυθμιστικό διάλυμα pH. Τό κατάλληλο ἄκρο τοῦ χαρτιοῦ ἐμβαπτίζεται στό πρός ἐξέταση δεῖγμα τῶν οὔρων, ἀποσύρεται ἀμέσως καί διαβάζεται. Ὅταν ἡ ἀντίδραση εἶναι ἀρνητική τό ἄκρο τοῦ χαρτιοῦ παραμένει ***κίτρινο.***

Σέ οὖρα μέ λεύκωμα 10 Mg/100 M*l* τό χαρτί παίρνει χρῶμα ἀσθενῶς ***πράσινο.*** Ὅταν τά οὖρα περιέχουν μεγαλύτερη συγκέντρωση λευκώματος, τό χρῶμα τοῦ χαρτιοῦ μεταβάλλεται ἀπό ***πράσινο μέχρι κυανό.***

Ἡ δοκιμασία αὐτή δέν πρέπει νά χρησιμοποιεῖται σέ οὖρα πού ἔχουν παραμείνει ἐπί ἀρκετό χρονικό διάστημα καί πού κατά τή συλλογή τους ἔχουν χρησιμοποιηθεῖ ἀντισηπτικά.

γ) Δοκιμασία θειοσαλικυλικοῦ ὀξέος.

Ἡ δοκιμασία αὐτή εἶναι τόσο ἱκανοποιητική, ὥστε εἶναι δοκιμασία ἐκλογῆς. Σέ ποσότητα 1 M*l* καθαρῶν οὔρων, προσθέτονται 3 M*l* διάλυμα θειοσαλικυλικό ὀξύ καί ἀναμιγνύονται. Ἀνάπτυξη ***θολερότητας*** ἤ ***ἰζήματος*** σημαίνει παρουσία λευκώματος.

Ἡ θολερότητα πού παρουσιάζουν τά οὖρα μέ τή μέθοδο τοῦ βρασμοῦ, μπορεῖ νά μᾶς βοηθήσει νά ὑπολογίσομε τό ποσό ***περίπου*** τοῦ λευκώματος, πού ὑπάρχει σέ αὐτά (πίνακας 3.4.1).

3.4.2 Σάκχαρο.

Ἀποβολή σακχάρου μέ τά οὖρα (σακχαρουρία) παρατηρεῖται ἤ ὅταν τό ποσό τοῦ σακχάρου στό αἷμα αὐξηθεῖ πάνω ἀπό 180 mg%, ἤ ὅταν εἶναι μειωμένη ἡ ἐπαναρροφητική ἱκανότητα τοῦ νεφροῦ. Ὁ ποιοτικός προσδιορισμός τοῦ σακχάρου στά οὖρα γίνεται μέ τή ***δοκιμασία Benedict,*** τή ***μέθοδο δισκίου Clinitest*** καί μέ τήν ***ἐνζυματική δοκιμασία γιά γλυκόζη Clinistix.*** Ὅταν τό ἀποτέλεσμα τοῦ ποιοτικοῦ προσδιορισμοῦ εἶναι θετικό, τότε μόνο προβαινομε σέ ποσοτικό προσδιορισμό τοῦ σακχάρου.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4.1

Ὑπολογισμός λευκώματος στά οὖρα μέ τή δοκιμασία βρασμοῦ

Θολερότητα	Ἔκφραση ἀποτελέσματος	Ποσό λευκώματος σέ mg%
ΟΧΙ	ΟΧΙ	0
Μόλις διακρίνεται	± = ἴχνη ἐλάχιστα	1 - 10
Φανερή	+ = ἴχνη	15 - 30
Φανερή. Μόλις διακρίνεται παχιά μαύρη γραμμή τοποθετημένη πίσω ἀπ' αὐτά	+ + = ἴχνη σαφή	40 - 100
Μέ λεπτές κροκύδες	+ + + = μετρητό	10 - 500
Κροκύδες πού συνέχεια παράγονται καί καθιζάνουν	+ + + = μετρητό πολύ	600 - 2000

α) Δοκιμασία Benedict.

Μέσα σέ δοκιμαστικό σωλῆνα πού περιέχει 5 ml ποιοτικό ἀντιδραστήριο Benedict, προσθέτομε 8 σταγόνες οὖρα. Βράζομε ἐπί δύο λεπτά ἤ τοποθετοῦμε τό δοκιμαστικό σωλῆνα μέσα σέ ***ζέον*** ὑδατόλουτρο ἐπί 5 min.

Ὅταν ἡ δοκιμασία εἶναι ἀρνητική, τό διάλυμα παραμένει ***κυανό*** καί ἐμφανίζει τίς περισσότερες φορές μία λευκάζουσα θολερότητα.

Ἄν ὑπάρχει σάκχαρο, ἐμφανίζεται ἴζημα πού προοδευτικά μεταβάλλει χρῶμα ἀπό πράσινο σέ κίτρινο καί τελικά πρός πορτοκαλί καί κόκκινο, ἀνάλογα μέ τό ποσό τοῦ σακχάρου (πίνακας 3.4.2).

Ἀπό τό χρῶμα τοῦ διαλύματος καί τοῦ ἰζήματος μπορεῖ νά ὑπολογισθεῖ περίπου τό ποσό σακχάρου τοῦ ἐξεταζόμενου δείγματος, προτοῦ καταφύγομε στόν ποσοτικό προσδιορισμό.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.4.2

Ποσοτικός προσδιορισμός σακχάρου στά οὖρα μέ τήν ποιοτική δοκιμασία Benedict

Ποσό σακχάρου (g/100 ml)	Χρῶμα	Κλινική ἀναγραφή
Μηδέν	κυανό	0
Ἴχνη	πράσινο (χωρίς ἴζημα)	±
0,5	πράσινο (μέ ἴζημα)	+
1,0	καστανό	+ +
1,5	πορτοκαλί	+ + +
2,0 καί πάνω	κόκκινο	+ + + +

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

β) Μέθοδος μέ δισκίο Clinitest.

Τά δίσκια Clinitest περιέχουν θειϊκό χαλκό, καυστικό νάτριο, κιτρικό ὀξύ καί διττανθρακικό νάτριο. Σέ δοκιμαστικό σωλήνα, βάζομε 5 σταγόνες οὖρα, 10 σταγόνες νερό καί 1 δισκίο Clinitest. Τό δισκίο διαλύεται ἀμέσως καί τό διάλυμα ἀναβράζει καί γίνεται θερμό. Δέν ἀνακινοῦμε τό δοκιμαστικό σωλήνα κατά τή διάρκεια τοῦ βρασμοῦ καί ἐπί 15 sec μετά τό τέλος του. Μετά ἀνακινοῦμε τό σωλήνα μαλακά καί γίνεται ἡ ἀνάγνωση. Τά ἀποτελέσματα εἶναι ὅμοια μέ αὐτά πού παίρνομε μέ τή μέθοδο Benedict.

γ) Ἐνζυματική δοκιμασία γιά γλυκόζη Clinistix.

Οἱ λωρίδες χαρτιοῦ-ἀντιδραστηρίου Clinistix, εἶναι ἐμποτισμένες μέ ὀξειδάση γλυκόζης, ὑπεροξειδάση καί ὀρθοτολουϊδίνη. Τό ἕνα ἄκρο τοῦ χαρτιοῦ βαπτίζεται στιγμιαία μέσα στό δεῖγμα οὔρων. Παρουσία γλυκόζης τό ἄκρο τοῦ χαρτιοῦ πού ἐμβαπτίστηκε στά οὖρα, παίρνει χρῶμα κυανό μέσα σέ ἕνα λεπτό.

Ἄν μετά τήν πάροδο τοῦ ἑνός λεπτοῦ τό ἄκρο τῆς λωρίδας παραμείνει ἄχρωμο δέν ὑπάρχει σημαντικό ποσό γλυκόζης στά οὖρα. (Θετική εἶναι ἡ δοκιμασία, ὅταν τά οὖρα περιέχουν 0,08-0,1 g γλυκόζη ἀνά 100 ml).

3.4.3 Κετονικά ἤ ὀξονικά σώματα.

Κετονικά ἤ ὀξονικά σώματα εἶναι ἡ ***ὀξόνη*** ἤ ***ἀκετόνη,*** τό ***ἀκετοξικό ὀξύ*** καί τό ***β-ὑδροξυβουτυρικό ὀξύ.***

Ὁ ποιοτικός προσδιορισμός τους γίνεται μέ τή ***δοκιμασία Rothera,*** τή ***δοκιμασία Gerhardt,*** τή ***δοκιμασία μέ δισκίο Acetest*** καί ***μέ χάρτινες ταινίες Ketostix.***

α) Δοκιμασία Rothera.

Σέ μισό δοκιμαστικό σωλήνα οὔρων, προσθέτομε 1,2 g ***μίγμα κρυστάλλων θειϊκοῦ ἀμμωνίου καί νιτροπρωσσικοῦ νατρίου.*** Ἔπειτα προσθέτομε 1-2 ml πυκνό διάλυμα ***ἀμμωνίας.*** Κλείνομε τό στόμιο τοῦ σωλήνα μέ τόν ἀντίχειρα, ἀναταράζομε καλά καί ἀφήνομε τό σωλήνα στό στατό. Ἡ ἀνάπτυξη ***ἰώδους*** χρώματος σημαίνει ὅτι ὑπάρχει ὀξόνη ἤ ἀκετοξικό ὀξύ.

Ἀνάλογα μέ τήν ἔνταση τοῦ ἰώδους χρώματος ἡ ὀξόνη ἐκφράζεται μέ ἕνα (+), δύο (+ +) ἤ τρεῖς (+ + +) σταυρούς. Ἡ δοκιμασία εἶναι πολύ εὐαίσθητη καί θεωρεῖται ἱκανή νά ἀνιχνεύσει ἕνα μέρος σέ ἀραίωση 10^5.

β) Δοκιμασία μέ δισκίο Acetest.

Τοποθετοῦμε δισκίο Acetest ἐπάνω σέ καθαρή λευκή ἐπιφάνεια καί ρίχνομε μιά σταγόνα οὔρων ἐπάνω στό δισκίο. Ὕστερα ἀπό 1 min παρατηροῦμε μήπως ἐμφανίσθηκε ***πορφυρό*** χρῶμα. Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζεται ὅπως καί στή μέθοδο Rothera.

3.4.4 Αἱμοσφαιρίνη (HB).

Ἡ παρουσία της στά οὖρα ἀποτελεῖ τήν καλούμενη ***αἱμοσφαιρινουρία.*** Ὁ ποιοτικός προσδιορισμός της γίνεται ὡς ἑξῆς:

Φυγοκεντροῦμε οὖρα καί στό ἴζημά τους ἤ σέ 2-3 ml οὖρα ρίχνομε ὀξικό ὀξύ 33%. Ἀνακινοῦμε τό διάλυμα γιά νά καταστραφεῖ τό περίβλημα τῶν ἐρυθρῶν αἱ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

μοσφαιρίων καί στή συνέχεια ρίχνομε ἀλκοολικό διάλυμα πυραμιδόνης 5% καί μερικές σταγόνες ὀξυγονοῦχο ὕδωρ (ὀξυζενέ).

Ὅταν ἡ ἀντίδραση εἶναι θετική ἐμφανίζεται ἰῶδες χρῶμα. Ἀνάλογα μέ τή ἔνταση τοῦ χρώματος ἐκφράζομε τό ἀποτέλεσμα μέ ἕνα (+), δύο (+ +) ἤ τρεῖς (+ + +) σταυρούς.

Ἡ παρουσία αἱμοσφαιρίνης ἤ ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων στά οὖρα μπορεῖ νά προσδιορισθεῖ καί μέ τό δισκίο ***Occultest,*** ὡς ἑξῆς:

Ἀνακινοῦμε τά οὖρα καί στάζομε μία σταγόνα ἀπό αὐτά σέ διηθητικό χαρτί. Στό κέντρο τῆς ὑγρῆς περιοχῆς τοῦ χαρτιοῦ τοποθετοῦμε ἕνα δισκίο Occultest. Ἀφήνομε νά πέσουν ἐπάνω στό δισκίο 1-2 σταγόνες νερό. Ἄν μέσα σέ 2 min ἐμφανισθεῖ ***κυανό*** χρῶμα στό διηθητικό χαρτι ἡ δοκιμασία θεωρεῖται θετική. Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζεται μέ σταυρούς ὅπως καί στήν προηγούμενη μέθοδο.

3.4.5 Χολοχρωστικές.

Σέ μερικές παθολογικές καταστάσεις ἀνευρίσκονται στά οὖρα ***χολοχρωστικές,*** ὅπως ***χολερυθρίνη, οὐροχολίνη, οὐροχολινογόνο*** καί ***χολικά ἄλατα.*** Οὖρα πού περιέχουν χολοχρωστικές ἔχουν συνήθως χαρακτηριστική κίτρινη ἤ πράσινη χροιά. Ἄν τά ἀναταράξομε, σχηματίζεται ἀφρός πού ἐμφανίζει τήν ἴδια χροιά.

1) Χολερυθρίνη.

Ἡ χολερυθρίνη παρουσιάζεται στά οὖρα ὅταν ὑπάρχει ἰκτέρος καί συγκεκριμένα ὅταν τό ποσό τῆς ἄμεσης χολερυθρίνης τοῦ αἵματος ἔχει αὐξηθεῖ. Ὁ προσδιορισμός της γίνεται μέ τή ***δοκιμασία Harrison,*** τή ***δοκιμασία Hunter*** καί τή ***δοκιμασία μέ δισκίο Ictotest.***

α) Δοκιμασία Harrison.

Σέ δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετοῦμε 10 ml οὖρα. Προσθέτομε 5 ml διάλυμα χλωριούχου βαρίου 10%, ἀνακατεύομε καί διηθοῦμε. Ὅταν τό ὑγρό περάσει ἀπό τό διηθητικό χαρτί, τοποθετοῦμε τό χαρτί ἐπάνω σέ ἄλλο κομάτι διηθητικοῦ χαρτιοῦ καί τό ἀφήνομε, ὥστε τό ἴζημα πού ὑπάρχει ἐπάνω του νά ξεραθεῖ. Στό ἴζημα ρίχνομε 1-2 σταγόνες ***ἀντιδραστήριο Fouchet.***

Ἄν ἐμφανισθεῖ ***πράσινο*** χρῶμα ἡ δοκιμασία θεωρεῖται θετική γιά τήν παρουσία χολερυθρίνης. Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζεται, ἀνάλογα μέ τή ἔνταση τοῦ χρώματος μέ ἕνα (+), δύο (+ +) ἤ μέ τρεῖς (+ + +) σταυρούς.

β) Δοκιμασία δισκίου Ictotest.

Τοποθετοῦμε 5 σταγόνες οὖρα ἐπάνω σέ εἰδικό ὕφασμα Ictotest ἤ σέ μικρό φύλλο διηθητικοῦ χαρτιοῦ. Ἐπάνω στή βρεγμένη περιοχή τοποθετοῦμε 1 δισκίο ***Ictotest*** καί ρίχνομε ἐπάνω στό δισκίο 2 σταγόνες νερό.

Ἄν μετά 30 sec τό ὕφασμα ἤ τό διηθητικό χαρτί πάρει ***πορφυροκυανωπό*** χρῶμα ἡ δοκιμασία θεωρεῖται θετική. Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζεται, ἀνάλογα μέ τή ἔνταση τοῦ χρώματος, μέ ἕνα (+), δύο (+ +), τρεῖς (+ + +) σταυρούς.

2) Οὐροχολίνη.

Ἡ οὐροχολίνη καί τό οὐροχολινογόνο σχηματίζονται μέσα στό ἔντερο ἀπό τήν

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ἐπίδραση βακτηριδίων στή χολερυθρίνη.

Ὁ προσδιορισμός τῆς οὐροχολίνης γίνεται μέ τή δοκιμασία Schlesinger.

Δοκιμασία Schlesinger.

Ἀνακατεύομε 5 ml οὖρα μέ 2 σταγόνες ἀλκοολικό διάλυμα ***ἰωδίου.*** Ὕστερα ἀπό 1-2 min προσθέτομε 5 ml ἐναιωρήμα ***ὀξικοῦ ψευδαργύρου.*** Ἀφήνομε τό μίγμα νά καθιζήσει καί παρατηροῦμε τό ὑπερκείμενο, γιά νά διαπιστώσομε ἄν ἐμφανίσθηκε ***πρασινοκίτρινος*** φθορισμός, πού ὀφείλεται στή δημιουργία συμπλόκης ἑνώσεως ψευδαργύρου-οὐροχολίνης. Ὁ φθορισμός αὐτός διαπιστώνεται καλύτερα ἄν τοποθετήσομε τό σωλήνα μπροστά ἀπό μαύρη ἐπιφάνεια καί τόν φωτίσομε μέ ἀνακλώμενο φῶς.

3) Οὐροχολινογόνο.

Ὁ προσδιορισμός τοῦ οὐροχολινογόνου στά οὖρα γίνεται μέ τή δοκιμασία Ehrlich.

Δοκιμασία Ehrlich.

Σέ 5 ml πρόσφατα οὖρα προσθέτομε 2 ml ἀντιδραστήριο ***Ehrlich*** (τό ἀντιδραστήριο Ehrlich προστίθεται μέ μορφή σταγόνων). Ἄν ἐμφανισθεῖ ἐν ψυχρῷ ***κόκκινο*** χρῶμα, τότε τό ποσό τοῦ οὐροχολινογόνου εἶναι αὐξημένο. Ἄν τό κόκκινο χρῶμα ἐμφανισθεῖ ὕστερα ἀπό θέρμανση, τό οὐροχολινογόνο βρίσκεται σέ φυσιολογικές τιμές.

4) Χολικά ἄλατα.

Τά χολικά ἄλατα στά οὖρα προσδιορίζονται μέ τή δοκιμασία Hay.

Δοκιμασία Hay.

Σέ ποτήρι ζέσεως τοποθετοῦνται οὖρα διηθημένα. Μέ προσοχή προσθέτομε ***ἄνθη θείου.*** Παρουσία χολικῶν ἁλάτων τά ἄνθη θείου βυθίζονται ἀργά στόν πυθμένα τοῦ ποτηριοῦ. Αὐτό ὀφείλεται στό ὅτι τά χολικά ἄλατα ἐλαττώνουν τήν ἐπιφανειακή τάση.

Ἐρωτήσεις.

1. Μέ ποιές μεθόδους προσδιορίζεται τό λεύκωμα στά οὖρα;
2. Τί γνωρίζετε γιά τή δοκιμασία Benedict;
3. Ποιά εἶναι τά κετονικά σώματα καί πῶς προσδιορίζονται μέ τή μέθοδο Rothera;
4. Πῶς ἀνιχνεύεται στά οὖρα ἡ αἱμοσφαιρίνη;
5. Ποιές εἶναι οἱ χολοχρωστικές τῶν οὔρων καί μέ ποιές δοκιμασίες προσδιορίζονται;
6. Πῶς προσδιορίζονται τά χολικά ἄλατα;
7. Πῶς γίνεται ὁ ποιοτικός προσδιορισμός τοῦ οὐροχολινογόνου;

3.5 Ποσοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων.

Ἡ ποσοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων ἀποτελεῖ συμπληρωματική ἐξέταση καί γίνεται μετά τήν ποιοτική ἀνάλυση καί τή διαπίστωση τῆς ὑπάρξεως τῶν οὐσιῶν (λεύκωμα, σάκχαρο κλπ.) στά οὖρα.

3.5.1 Σάκχαρο.

Ὅταν διαπιστωθεῖ ἡ παρουσία σακχάρου στά οὖρα μέ τόν ποιοτικό προσδιορι-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

σμό, προβαίνομε στή μέτρησή του μέ τόν ποσοτικό προσδιορισμό. Χρησιμοποιεῖται ἡ μέθοδος Meyer-Benedict.

Μέσα σέ μία μικρή φιάλη Erlenmeyer βάζομε 5 ml ποσοτικό ἀντιδραστήριο Benedict, 2 γραμμάρια ἀνθρακικό νάτριο καί λίγο τάλκ. Τοποθετοῦμε τή φιάλη πάνω σέ μεταλλικό τρίποδα μέ πλέγμα ἀπό ἀμίαντο καί θερμαίνομε μέ γυμνή φλόγα τή φιάλη. Τά ἀντιδραστήρια θερμαίνονται μέχρι βρασμοῦ καί μέ μιά πιπέττα τοῦ 1 ml προσθέτομε ὑπό μορφή σταγόνων οὖρα, ὥσπου νά ἀποχρωματισθεῖ τό ἀντιδραστήριο. Μόλις τό ἀντιδραστήριο ἀποχρωματισθεῖ, σημειώνομε τό ποσό τῶν οὔρων πού καταναλώθηκαν.

Ὅσο περισσότερο σάκχαρο ὑπάρχει στά οὖρα, τόσο λιγότερα οὖρα θά καταναλωθοῦν. Ἄν γνωρίζομε τό ποσό τῶν οὔρων, μποροῦμε νά ὑπολογίσομε τό ποσό τοῦ σακχάρου ἀπό τόν τύπο:

$$\text{Σάκχαρο οὔρων} = \frac{0{,}01 \times 100}{\text{ml οὔρων πού καταναλώθηκαν}}$$

Παράδειγμα.

Ἄς ὑποθέσομε ὅτι καταναλώθηκαν 0,6 ml οὖρα. Τότε τό ποσό τοῦ σακχάρου θά εἶναι:

$$\boxed{\text{Σάκχαρο οὔρων} = \frac{0{,}01 \times 100}{0{,}6} = \frac{1}{0{,}6} = 1{,}66\ \text{g\%}}$$

3.5.2 Οὐροχολινογόνο.

Μαζεύομε οὖρα 2 ὡρῶν. Παίρνομε δύο σωληνάρια καί τά χαρακτηρίζομε: τό ἐξεταστέο ***E*** καί τό τυφλό ***T.***

Στό σωληνάριο Ε τοποθετοῦμε 3 ml οὖρα, 3 ml ἀντιδραστήριο Ehlich καί ἀνακατεύομε. Στό σωληνάριο Τ τοποθετοῦμε 6 ml ὀξικό νάτριο, 3 ml ἀντιδραστήριο Ehrlich καί ἀνακατεύομε. Στή συνέχεια στό Ε σωληνάριο ρίχνομε 6 ml ὀξικό νάτριο καί ἀνακατεύομε καί στό Τ σωληνάριο 3 ml οὖρα καί ἀνακατεύομε.

Φωτομετροῦμε καί ἀπό τίς ἐνδείξεις τοῦ φωτόμετρου διαβάζομε τήν ποσότητα τοῦ οὐροχολινογόνου σέ mg %. Ἀπό τό ποσό αὐτό τῶν οὔρων τῶν δύο ὡρῶν ὑπολογίζομε τό ποσό τοῦ οὐροχολινογόνου στό 24ωρο.

3.5.3 Λεύκωμα.

Ὁ ποσοτικός προσδιορισμός τοῦ λευκώματος τῶν οὔρων γίνεται μέ πολλές μεθόδους. Θά ἀναφέρομε τήν πιό ἁπλή, τή ***μέθοδο Esbach,*** πού εἶναι καί ἡ πιό συνηθισμένη.

Χρησιμοποιοῦμε τό λευκωματόμετρο Esbach, πού εἶναι γυάλινος σωλήνας ἀριθμημένος καί στηρίζεται σέ ξύλινο βάθρο. Στό λευκωματόμετρο Esbach ρίχνομε οὖρα φυγοκεντρημένα ὥς τό σημεῖο U καί κατόπιν προσθέτομε ἀντιδραστήριο Esbach ὥς τό σημεῖο R. Ἀνακατεύομε τά δύο ὑγρά καί φυγοκεντροῦμε σέ 2500 στροφές 10 ὥς 15 λεπτά. Δημιουργεῖται ἴζημα πού καθιζάνει.

Ὁ ἀριθμός τοῦ σωλήνα, ὥς τόν ὁποῖο φθάνει τό ἴζημα, ἀντιπροσωπεύει τό πο-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

σό τοῦ λευκώματος σέ γραμμάρια ἐπί τοῖς ἑκατό. Μερικές φορές τό ἴζημα δέν καθιζάνει, ἀλλά ἀνέρχεται. Τότε ρίχνομε NaCl καί τό ἴζημα καθιζάνει. Σέ περιπτώσεις πού τό ποσό τοῦ λευκώματος εἶναι μεγάλο ἀραιώνομε τά οὖρα.

3.5.4 Ἠλεκτροφόρηση λευκωμάτων.

Ἡ ἠλεκτροφόρηση τῶν λευκωμάτων τῶν οὔρων εἶναι ἀπαραίτητη καί βοηθᾶ στή διάγνωση καί στήν παρακολούθηση τῆς πορείας νεφρικῶν ἤ γενικῶν ἀσθενιῶν. Γιά νά γίνει ὅμως ἠλεκτροφόρηση πρέπει τά οὖρα νά περιέχουν λεύκωμα, πού τό ποσό του νά εἶναι πάνω ἀπό 1,5 g%. Ἄν τό λεύκωμα τῶν οὔρων εἶναι λιγότερο, χρειάζεται νά γίνει συμπύκνωσή τους μέ τή μέθοδο τῆς διαπιδύσεως.

Ἡ ἠλεκτροφόρηση γίνεται ὅπως καί στόν ὀρό αἵματος (θά περιγραφεῖ στό ἀντίστοιχο κεφάλαιο). Ἐπειδή ὅμως τό ποσό τοῦ λευκώματος τῶν οὔρων εἶναι λίγο, παρά τή συμπύκνωση, τοποθετοῦμε δύο καί τρεῖς φορές στό ἴδιο σημεῖο τῆς ταινίας ἀπό τό δεῖγμα καί χρησιμοποιοῦμε ὄχι χάρτινες ταινίες ἀλλά ταινίες ὀξικῆς κυτταρίνης.

3.5.5 Μέθοδος ταινιῶν μέ πολλαπλές ἀντιδράσεις.

Μέ τίς ταινίες πολλαπλῶν ἀντιδράσεων μποροῦμε νά προσδιορίσομε διάφορες οὐσίες τῶν οὔρων εὔκολα καί γρήγορα. Πρόκειται γιά ταινίες ἀπό ἀνθεκτική διαφανή πλαστική ὕλη, 0,5 × 8 cm, πάνω στήν ὁποία εἶναι τοποθετημένα τετράγωνα κομματάκια ἀπό διηθητικό χαρτί μέ διαφορετικά χρώματα. Κάθε ἕνα εἶναι ἐμποτισμένο μέ ἀντιδραστήρια μιᾶς ὁρισμένης χημικῆς ἀντιδράσεως. Ἔτσι, ὅταν τά κομματάκια τοῦ διηθητικοῦ χαρτιοῦ ἔλθουν σέ ἐπαφή μέ τήν οὐσία πού ἀνιχνεύουν, ἀλλάζουν χρῶμα. Ἡ ἀνάγνωση τοῦ ἀποτελέσματος τῆς ἀλλαγῆς χρώματος γίνεται μέ τή σύγκριση διαφόρων χρωμάτων πού ὑπάρχουν πάνω στό φιαλίδιο πού βρίσκονται οἱ ταινίες.

Μέ τίς ταινίες πολλαπλῶν ἀντιδράσεων προσδιορίζονται τό pH, τό λεύκωμα, ἡ γλυκόζη, τά ὀξονικά σώματα, ἡ χολερυθρίνη, ἡ αἱμοσφαιρίνη καί τό οὐροχολιγόνο τῶν οὔρων.

Προϋπόθεση: τά οὖρα νά εἶναι πρόσφατα καί ὄχι πολύ κρύα. Ἡ τεχνική εἶναι πολύ ἁπλή, γιατί ἁπλῶς βαπτίζομε τήν ταινία στά οὖρα καί τήν ἀλλαγή χρωμάτων τῆς ταινίας τή συγκρίνομε μέ τά χρώματα πού ὑπάρχουν στό φιαλίδιο τῶν ταινιῶν (σχ. 3.5).

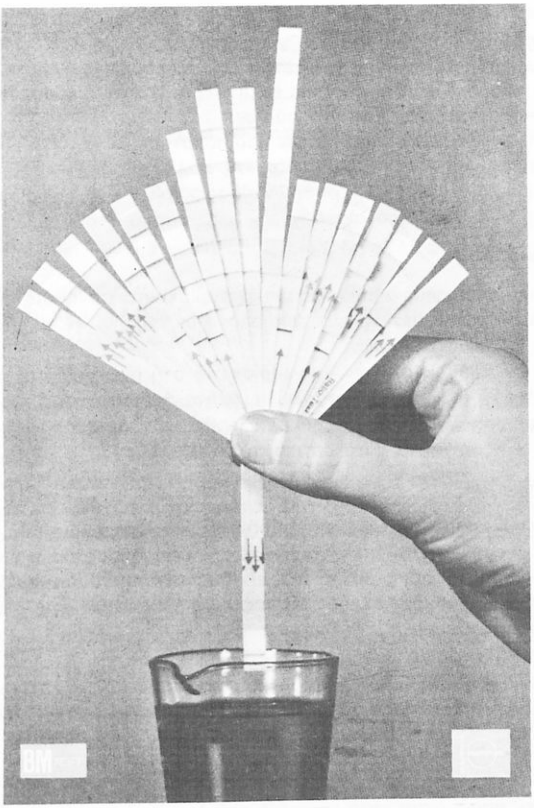
Ἐρωτήσεις.

1. Πῶς προσδιορίζεται ποσοτικά τό σάκχαρο οὔρων;
2. Πῶς προσδιορίζεται ποσοτικά τό οὐροχολινογόνο τῶν οὔρων;
3. Τί γνωρίζετε γιά τίς ταινίες πολλαπλῆς ἀντιδράσεως;
4. Ποῦ χρησιμοποιεῖται ἡ μέθοδος Esbach;
5. Τί γνωρίζετε γιά τήν ἠλεκτροφόρηση τῶν λευκωμάτων τῶν οὔρων;

3.6 Μικροσκοπική ἐξέταση τῶν οὔρων.

Ἡ μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἰζήματος τῶν φυγοκεντρημένων οὔρων ἀποτελεῖ ἀναμφισβήτητα τό σπουδαιότερο μέρος τῆς γενικῆς ἐξετάσεως τῶν οὔρων. Τά εὑρήματα διακρίνονται σέ ὀργανωμένα καί μή ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 3.5.
Ταινίες πολλαπλῆς χρήσεως.

3.6.1 Ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά.

1) Ἐρυθρά αἱμοσφαίρια — Αἱματουρία.

Ἡ παρουσία τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων στό ἴζημα τῶν οὔρων σημαίνει ***αἱματουρία*** καί ἔχει μεγάλη διαγνωστική σημασία.

Ἄν ἡ αἱματουρία εἶναι μεγάλη, γιά νά διαπιστωθεῖ ἀρκεῖ μόνο ἡ μακροσκοπική ἐξέταση τῶν οὔρων, πού ἔχουν ὄψη ***ἀκάθαρτη, θολή καί χροιά σκοτεινῶς κόκκινη.***

Γιά νά γίνει διαφορική διάγνωση τοῦ τόπου προελεύσεως τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων, χρησιμοποιεῖται ἡ ***μέθοδος τῶν τριῶν ποτηριῶν,*** μέσα στά ὁποῖα οὐρεῖ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ὁ ἀσθενής. Ἄν ἡ αἱματουρία ἐμφανίζεται στό πρῶτο ποτήρι, τότε προέρχεται ἀπό τήν οὐρήθρα. Ἄν παρατηρεῖται αἱματουρία στό δεύτερο καί τρίτο ποτήρι, προέρχεται ἀπό τήν κύστη καί ἄν παρατηρεῖται καί στά τρία ποτήρια ἡ αἱματουρία προέρχεται ἀπό τά νεφρά. Ἄν ἡ αἱματουρία εἶναι μικρή, γίνεται μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ φυγοκεντρημένου ἰζήματος τῶν οὔρων.

Τό ποσό τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων πού παρατηρεῖται κατά τή μικροσκόπηση ἐκφράζεται σέ ***σπάνια ἐρυθρά, ὀλίγα, ἀρκετά, πολλά*** καί ***ἄφθονα.*** Ἐπίσης μπορεῖ νά ἀναφερθεῖ καί ὁ ἀριθμός τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων πού ἀνευρίσκεται κατά ὀπτικό πεδίο, π.χ. 3-5 ἐρυθρά αἱμοσφαίρια κατά ὀπτικό πεδίο (Κ.Ο.Π.).

2) Πυοσφαίρια.

Σπάνια λευκά αἱμοσφαίρια (πυοσφαίρια) ἀνευρίσκονται συνήθως κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἰζήματος τῶν φυσιολογικῶν οὔρων. Ἡ παρουσία πολλῶν πυοσφαιρίων σημαίνει ***πυουρία.***

Τό ποσό τῶν πυοσφαιρίων πού ἀνευρίσκεται στή μικροσκοπική ἐξέταση τῶν οὔρων ἐκφράζεται σέ ***σπάνια πυοσφαίρια, ὀλίγα, ἀρκετά, πολλά, ἄφθονα*** καί ***ἄφθονα κατά σωρούς.*** Μπορεῖ ὅμως νά ἀναφερθεῖ καί ὁ ἀριθμός τους κατά ὀπτικό πεδίο, π.χ. 2-3 πυοσφαίρια κατά ὀπτικό πεδίο (Κ.Ο.Π).

3) Μικροοργανισμοί.

Ἡ παρουσία μικροοργανισμῶν στά οὖρα σημαίνει ***βακτηριδιουρία.*** Οἱ μικροοργανισμοί πού ἀνευρίσκονται διακρίνονται σέ μή παθογόνους, ὅπως εἶναι οἱ ***τριχομονάδες***, καί σέ παθογόνους, ὅπως εἶναι ***οἱ σπειροχαῖτες, τό βακτηρίδιο τοῦ Κώχ, τό βακτηρίδιο τοῦ τύφου*** καί ***ἄλλες σαλμονέλες, ὁ σταφυλόκοκκος, ὁ στρεπτόκοκκος, ὁ γονόκοκκος*** κλπ.

4) Παράσιτα.

Εἶναι δυνατό στά οὖρα νά ἀνευρεθοῦν παράσιτα, ὅπως ***ἐχινόκοκκοι, ὀξύουροι, ἀσκαρίδες*** κλπ.

5) Κύλινδροι.

Οἱ κύλινδροι παράγονται κατά τήν πήξη τοῦ λευκώματος μέσα στά οὐροφόρα σωληνάρια καί ἀποτελοῦν τό ἐκμαγεῖο τους. Ἡ ἀνεύρεσή τους μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση σημαίνει βλάβη τῶν νεφρῶν, γιατί προέρχονται μόνο ἀπ' αὐτούς. Ἡ ἀναζήτηση τῶν κυλίνδρων πρέπει ἀπαραίτητα νά γίνεται σέ πρόσφατα καί ὄξινα οὖρα, ἐπειδή αὐτοί καταστρέφονται εὔκολα κατά τήν ἀποσύνθεση τῶν οὔρων. Διακρίνομε διάφορα εἴδη.

α) Ὑαλοειδεῖς κύλινδροι.

Ἀποτελοῦνται ἀμιγῶς ἀπό λεύκωμα καί παριστάνουν τά ἐκμαγεῖα τῶν οὐροφόρων σωληναρίων. Ἀπαρτίζουν τό σκελετό πάνω στόν ὁποῖο σχηματίζονται ἐπιγενῶς ὅλα τά ἄλλα εἴδη τῶν κυλίνδρων.

β) Κοκκιώδεις ἤ Κοκκώδεις κύλινδροι.

Οἱ κοκκιώδεις κύλινδροι παράγονται μέ τήν ἐναπόθεση κοκκίων πάνω στούς ὑαλοειδεῖς κυλίνδρους πού προέρχονται ἀπό ἐπιθήλια τῶν οὐροφόρων σωληναρίων.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

γ) Ὑαλοκοκκιώδεις κύλινδροι.

Εἶναι ἐνδιάμεση μορφή κυλίνδρων μεταξύ ὑαλοειδῶν καί κοκκιωδῶν. Ἐμφανίζουν ἀραιά κοκκία στό ἕνα ἄκρο τῆς ὑαλώδους μάζας τους.

δ) Λιπώδεις κύλινδροι.

Παράγονται μέ τήν ἐναπόθεση πάνω στούς ὑαλοειδεῖς κυλίνδρους λιπωδῶν κοκκίων (λιποσφαιρίων).

ε) Κηρώδεις κύλινδροι.

Ὁ τρόπος παραγωγῆς καί ἡ χημική σύσταση τῶν κηρωδῶν κυλίνδρων δέν ἔχει ἀκόμα διευκρινισθεῖ. Ἔχουν χροιά ὑποκίτρινη, ὅπως τό κερί.

στ) Ἐπιθηλιακοί κύλινδροι.

Σχηματίζονται μέ τήν ἐναπόθεση ἐπιθηλιακῶν κυττάρων τῶν οὐροφόρων σωληναρίων στούς ὑαλώδεις κυλίνδρους.

ζ) Αἱμορραγικοί κύλινδροι.

Ἀποτελοῦνται ἀπό ἐκφυλισμένα ἐρυθρά αἱμοσφαίρια μέ σπάνια λευκά στήν περιφέρεια τῆς μάζας τους. Ἡ ἀνεύρεσή τους σημαίνει αἱματουρία, πού ἐντοπίζεται στούς νεφρούς.

Ἐκτός ἀπό τίς παραπάνω μορφές κυλίνδρων, πού ἀπαντοῦν συχνά, εἶναι δυνατόν νά ἀνευρεθοῦν κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση καί ἄλλα σπάνια εἴδη κυλίνδρων ὅπως, λευκοκυτταρικοί, αἱμοσφαιρίνης, ἀπό οὐρικά ἅλατα, ἀπό χολοχρωστική χοληστερίνης κλπ.

6) Ἐπιθηλιακά κύτταρα.

Φυσιολογικά κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἰζήματος τῶν οὔρων μπορεῖ νά ἀνευρεθοῦν καί λίγα ἐπιθηλιακά κύτταρα. Αὐτά μπορεῖ νά εἶναι ***πλακώδη ἐπιθήλια*** καί ***ἐπιθήλια κύστεως.*** Σέ παθολογικές ἐξετάσεις παρατηρεῖται ἀφθονία ἐπιθηλιακῶν κυττάρων, τά ὁποῖα εἶναι ***ἐπιθήλια πυέλου*** καί ***ἐπιθήλια οὐροφόρων σωληναρίων.***

3.6.2 Μή ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά.

Στό ἴζημα τῶν φυσιολογικῶν οὔρων παρατηροῦνται κατά τή μικροσκοπική ἐξέτασή του διάφορα ἅλατα εἴτε ὡς ἄμορφα συστατικά εἴτε ὡς ***κρύσταλλοι.*** Διακρίνομε διάφορα εἴδη κρυστάλλων.

1) Κρύσταλλοι οὐρικοῦ ὀξέος.

Ἡ μορφή αὐτή τῶν κρυστάλλων ἐμφανίζεται στό ἴζημα ὄξινων οὔρων. Οἱ κρύσταλλοι ἔχουν σχῆμα ρομβικῶν πρισμάτων καί πρισματικῶν βελονῶν.

2) Κρύσταλλοι ὀξαλικοῦ ἀσβεστίου.

Τό ὀξαλικό ἀσβέστιο μπορεῖ νά ἐμφανίζεται στά οὖρα ἄμορφο κοκκῶδες ἤ καί κρυσταλλικό. Οἱ κρύσταλλοι παρατηροῦνται σέ ὄξινα οὖρα καί ἔχουν διάφορα σχήματα, συνήθως ὅμως εἶναι ὀκτάεδρα.

3) Κρύσταλλοι οὐρικῶν ἁλάτων.

Διακρίνομε οὐρικά ἅλατα Καλίου, Νατρίου, Ἀμμωνίου, Ἀσβεστίου, Μαγνησίου.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4) Κρύσταλλοι ἐναμμώνιου φωσφορικοῦ μαγνησίου.

Οἱ κρύσταλλοι αὐτοί σχηματίζονται μόνο σέ οὐδέτερα ἤ ἀλκαλικά οὖρα καί ἔχουν μορφή ἀστεροειδή (φερετροειδή).

5) Κρύσταλλοι ἀνθρακικοῦ ἀσβεστίου.

Τό ἀνθρακικό ἀσβέστιο κρυσταλλώνεται μέ τή μορφή κοκκίων καί σφαιρίων.

6) Κρύσταλλοι φωσφορικοῦ ἀσβεστίου.

Τό φωσφορικό ἀσβέστιο ἐμφανίζεται στά οὖρα ἄμορφο ἤ μέ κρυσταλλική μορφή καί σέ σχῆμα πρίσματος ἤ θυσάνου. Ἐκτός ἀπό τίς παραπάνω μορφές κυλίνδρων, πού ἀνευρίσκονται πιό συχνά, εἶναι δυνατό νά βρεθοῦν κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση καί ἄλλα σπάνια εἴδη, ὅπως κρύσταλλοι θειϊκοῦ ἀσβεστίου, κρύσταλλοι κυστίνης, κρύσταλλοι χοληστερίνης, κρύσταλλοι ἱπουρικοῦ ὀξέος, κρύσταλλοι λευκίνης, κρύσταλλοι τυροσίνης, κρύσταλλοι χολερυθρίνης, κρύσταλλοι μελανίνης.

Ἐρωτήσεις.

1. Ποιά εἶναι τά ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά τῶν οὔρων;
2. Ποιά εἶναι τά μή ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά τῶν οὔρων;
3. Πῶς ἐκφράζεται τό ποσό τῶν ἐρυθρῶν τοῦ ἰζήματος τῶν οὔρων;
4. Πόσα εἴδη κυλίνδρων γνωρίζετε;
5. Πόσα εἴδη κρυστάλλων γνωρίζετε;

3.7 Δοκιμές νεφρικῆς λειτουργίας.

Οἱ δοκιμές νεφρικῆς λειτουργίας μᾶς βοηθοῦν νά ἀποκαλύψομε βλάβη στή λειτουργία τῶν νεφρῶν. Οἱ δοκιμές αὐτές μποροῦν νά χωρισθοῦν σέ τρεῖς ὁμάδες.

1) Δοκιμές τοῦ ρυθμοῦ τῆς σπειραματικῆς διηθήσεως.
2) Δοκιμές τῆς συμπυκνωτικῆς ἱκανότητας τῶν νεφρῶν.
3) Δοκιμές τῆς ἀπεκκριτικῆς ἱκανότητας τῶν οὐροφόρων σωληναρίων.

3.7.1 Δοκιμές τοῦ ρυθμοῦ τῆς σπειραματικῆς διηθήσεως.

Ὁ ρυθμός τῆς σπειραματικῆς διηθήσεως ἐλέγχεται μέ τίς δοκιμές πλασματικῆς καθάρσεως ἤ Clearance. ***Πλασματική κάθαρση*** μιᾶς οὐσίας ὀνομάζεται τό ποσό τῆς οὐσίας αὐτῆς στά οὖρα πού ἀποβάλλεται σέ ἕνα λεπτό, πρός τό ποσό τῆς οὐσίας αὐτῆς στό πλάσμα.

$$\text{Clearance} = \frac{\text{ποσό τῆς οὐσίας στά οὖρα σέ 1 λεπτό}}{\text{ποσό τῆς οὐσίας στό πλάσμα}}$$

Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζει τό ποσό τοῦ πλάσματος σέ ml πού περνώντας ἀπό τό νεφρό ἀπαλλάσσεται ἀπό τήν οὐσία σέ 1 λεπτό.

Στήν κλινική πράξη χρησιμοποιοῦνται σήμερα οἱ ἑξῆς δοκιμασίες (πίνακας 3.7.1).

1) Δοκιμή καθάρσεως ἰνουλίνης.
2) Δοκιμή καθάρσεως κρεατινίνης.
3) Δοκιμή καθάρσεως οὐρίας.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.7.1

Φυσιολογικές τιμές λειτουργικών δοκιμασιών τοῦ νεφροῦ

ΕΞΕΤΑΣΗ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
1. Δοκιμασία φαινολσουλφοφθαλεϊνης	15΄ μετά τήν ἐνδοφλέβια ἔνεση ἀποβάλλονται ἀπό τά οὖρα τά 30-40% 2 ὧρες μετά, τά 60-80% τῆς ποσότητας πού μπῆκε μέ τήν ἔνεση.
2. Clearance οὐρίας	75 $cm^3/1'$
3. Clearance κρεατινίνης	145 $cm^3/1'$
4. Clearance παρα-αμινοϊππουρικοῦ νατρίου (PAH)	600-700 cm^3/l'
5. Clearance ἰνουλίνης	125 $cm^3/1$ min
6. Δοκιμασία ἀραιώσεως καί συμπυκνώσεως τῶν οὔρων κατά Volhard	***Στή φάση τῆς ἀραιώσεως:*** α) Ἀποβάλλεται ἡ ποσότητα τοῦ νεροῦ πού πάρθηκε β) Τό μεγαλύτερο ποσό τῶν οὔρων ἀποβάλλεται κατά τό 2° ἤ 3° ἡμίωρο καί γ) Τό εἰδικό βάρος τῶν οὔρων κατέρχεται στό 1000. ***Στή φάση τῆς συμπυκνώσεως:*** Τό εἰδικό βάρος τῶν οὔρων ἀνέρχεται στά 1030.

Ἡ δοκιμή καθάρσεως ἰνουλίνης ἐφαρμόζεται πάρα πολύ σπάνια. Μέθοδος ἐκλογῆς εἶναι ἡ δοκιμή καθάρσεως κρεατινίνης.

Ἡ δοκιμή καθάρσεως κρεατινίνης γίνεται ὡς ἑξῆς:

Μαζεύομε οὖρα 24ώρου ἤ μικρότερου χρονικοῦ διαστήματος. Παίρνομε αἷμα χωρίς ἀντιπηκτικό καί ἀποχωρίζομε τόν ὀρό. Προσδιορίζομε τήν κρεατινίνη ὀροῦ ὡς ἑξῆς:

Σέ ἕνα σωληνάριο φυγοκέντρου βάζομε 4,5 ml ἀποσταγμένο νερό, 3 ml ὀρό, 1,5 ml βολφραμικό νάτριο καί 3ml θειϊκό ὀξύ. Ἀνακατεύομε τά ὑλικά καί τά ἀφήνομε σέ ἠρεμία 30 λεπτά. Φυγοκεντροῦμε σέ 2000 στροφές καί παίρνομε 5 ml ἀπό τό ὑπερκείμενο. Αὐτό εἶναι τό ***E,*** δηλαδή τό ἐξεταστέο. Σέ ἄλλο σωληνάριο τοποθετοῦμε 5 ml ἀπό τό πρότυπο διάλυμα ἐργασίας καί τό σημειώνομε ***ST.*** Σέ τρίτο σωληνάριο, πού εἶναι τό ***T,*** δηλαδή τό τυφλό, τοποθετοῦμε 5 ml ἀποσταγμένο νερό.

Καί στά τρία σωληνάρια E, ST καί T προσθέτομε 100 mg ἀντιδραστηρίου L Lloyd καί 0,5 ml ὀξαλικό ὀξύ. Φυγοκεντροῦμε καί τά τρία σωληνάρια 20 λεπτά σέ 3000 στροφές. Πετᾶμε τό ὑπερκείμενο, ἀναποδογυρίζομε τά σωληνάρια σέ διηθητικό χαρτί καί ἀφήνομε νά στεγνώσει τό ἴζημα. Στή συνέχεια προσθέτομε 7,5 ml ἀλκαλικό πικρικό ὀξύ. Ἀνακατεύομε καί φυγοκεντροῦμε 10 λεπτά σέ 2000 στροφές. Ἀφήνομε τά σωληνάρια σέ θερμοκρασία δωματίου 10 λεπτά καί τέλος φωτομετροῦμε τό ὑπερκείμενο τοῦ E καί τοῦ ST, σέ σύγκριση μέ τό T στά 520 nm.

Ὑπολογισμός $\frac{E}{ST} \times 2 =$ mg % κρεατινίνης

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Μετά τόν προσδιορισμό τῆς κρεατινίνης ὁροῦ, προσδιορίζομε τήν κρεατινίνη οὔρων ὡς ἑξῆς:

Παίρνομε τρεῖς ὀγκομετρικές φιάλες τῶν 100 ml καί σημειώνομε τή μία μέ ***E,*** τήν ἄλλη ***ST*** καί τήν τρίτη ***T.*** Βάζομε 1 ml οὔρων στήν Ε, 1 ml πρότυπο διάλυμα στή ST καί 1 ml νερό στήν Τ. Καί στίς τρεῖς φιάλες προσθέτομε 2 ml κεκορεσμένο πικρικό ὀξύ καί 1 ml 1N NaOH. Φωτομετροῦμε τέλος στά 520 nm.

Ὑπολογισμός $\frac{E}{ST} \times 100 = \text{mg \% κρεατινίνης}$

3.7.2 Δοκιμή τῆς συμπυκνωτικῆς ἱκανότητας τοῦ νεφροῦ.

Ὁ νεφρός διατηρεῖ καλή τή συμπυκνωτική του ἱκανότητα, ὅταν τό εἰδικό βάρος τῶν οὔρων εἶναι μεγαλύτερο ἀπό τό εἰδικό βάρος τοῦ πλάσματος, πού εἶναι 1007. Ὅταν βροῦμε χαμηλό εἰδικό βάρος στά οὖρα πρέπει νά ἐκτελέσομε τή δοκιμή πυκνώσεως τῶν οὔρων.

Ὁ ἐξεταζόμενος παύει νά παίρνει νερό καί ὁποιαδήποτε ὑγρή τροφή ἀπό τίς 6 μ.μ. Τρώει μόνο στεγνό φαγητό. Τό βράδυ στίς 10 οὐρεῖ καί τά οὖρα αὐτά τά πετᾶμε. Τήν ἄλλη μέρα τό πρωί ὁ ἐξεταζόμενος οὐρεῖ σέ διαφορετικά δοχεῖα στίς 6 π.μ., στίς 7 π.μ. καί στίς 8 π.μ. Στό ἐργαστήριο μετροῦμε μόνο τό εἰδικό βάρος τῶν τριῶν αὐτῶν δειγμάτων. Ἄν ὁ νεφρός λειτουργεῖ καλά, ἕνα ἤ καί τά τρία δείγματα θά δώσουν φυσιολογικό εἰδικό βάρος. Εἰδικό βάρος 1010 καί κάτω στά τρία δείγματα δείχνει νεφρική βλάβη.

3.7.3 Δοκιμή ἀπεκκριτικῆς ἱκανότητας τῶν νεφρικῶν σωληναρίων.

Γιά τή δοκιμή αὐτή χρησιμοποιοῦμε μία οὐσία πού ἀποβάλλεται κυρίως ἀπό τά οὐροφόρα σωληνάρια. Ἡ οὐσία αὐτή ὀνομάζεται ***φαινυλοσουλφοφθαλεΐνη P.S.P.*** καί χορηγεῖται μέ ἔνεση στόν ἐξεταζόμενο. Φυσιολογικά σέ 1 ὥρα ἀπό τήν ἔνεση ἀποβάλλονται τά 40-60% τῆς οὐσίας καί τά ἄλλα 15-25% τήν ἄλλη ὥρα.

Ἡ δοκιμή γίνεται ὡς ἑξῆς:

Στόν ἐξεταζόμενο δίνομε νά πιεῖ ἕνα ποτήρι νερό καί μετά ἀπό 10-15 λεπτά τοῦ λέμε νά οὐρήσει. Τά οὖρα αὐτά ἀπορρίπτονται. Κάνομε στόν ἐξεταζόμενο μιά ἐνδομυϊκή ἔνεση 1 ml P.S.P. καί μετά μιά ὥρα τοῦ λέμε νά οὐρήσει. Αὐτά τά οὖρα εἶναι τό δεῖγμα τῆς πρώτης ὥρας. Μετά ἀπό μιά ὥρα τοῦ λέμε νά οὐρήσει πάλι καί τά οὖρα αὐτά ἀποτελοῦν τό δεῖγμα τῆς δεύτερης ὥρας. Σέ κάθε δεῖγμα οὔρων ρίχνομε μερικές σταγόνες 10% NaOH μέχρις ὅτου τό χρῶμα πού ἐμφανίζεται νά πάρει τή μεγαλύτερή του ἔνταση. Συγκρίνομε τό χρῶμα τοῦ πρότυπου διαλύματος μέ τό χρῶμα κάθε δείγματος. Γιά νά γίνει ἡ σύγκριση πρέπει τά οὖρα νά τά ἀραιώσομε. Ἄς ὑποθέσομε ὅτι χρειάσθηκε νά ἀραιώσομε τά οὖρα τῆς πρώτης ὥρας 1/500. Αὐτό σημαίνει ὅτι στά οὖρα αὐτά ὑπάρχει τό μισό τῆς οὐσίας δηλαδή τά 50%. Ἄν κάνομε ἀραίωση 1/200, τότε ἀπεκκρίθηκε τό 20%. Μέ τόν τρόπο αὐτό ὑπολογίζομε τήν P.S.P. καί στά οὖρα τῆς δεύτερης ὥρας.

Σήμερα χρησιμοποιεῖται ἐπίσης καί φωτομετρικός προσδιορισμός πού εἶναι πιό ἀκριβής.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

4.1 Λήψη δειγμάτων αἵματος.

Γιά τούς βιοχημικούς προσδιορισμούς μεγάλη σημασία ἔχουν ὁ ***τρόπος λήψεως τοῦ αἵματος,*** ἡ ***χρησιμοποίηση ἤ ὄχι ἀντιπηκτικῶν οὐσιῶν*** καί ἡ ***κατεργασία τοῦ δείγματος αἵματος.*** Ἐπίσης πρέπει νά γνωρίζομε ὅτι μερικοί παράγοντες μποροῦν νά μεταβάλλουν τή συγκέντρωση τῶν διαφόρων οὐσιῶν τοῦ αἵματος καί νά ἐπηρεάσουν τούς βιοχημικούς προσδιορισμούς. Τέτοιοι παράγοντες εἶναι ἡ δίαιτα, ἡ ὥρα τῆς ἡμέρας, ἡ μυϊκή ἄσκηση, ἡ θέση τοῦ σώματος, ἡ ἔμμηνος ρύση, τά φάρμακα καί διάφορες ἐνδογενεῖς οὐσίες. Γιά νά ἐκμηδενίσομε τήν ἐπίδραση αὐτῶν τῶν παραγόντων πρέπει τή στιγμή τῆς λήψεως τοῦ δείγματος νά ἐφαρμόσομε τά παρακάτω:

1) Ὁ ἀσθενής πρέπει νά εἶναι νηστικός τουλάχιστον 8 ὧρες.
2) Ἡ αἱμοληψία πρέπει νά γίνεται κατά τίς πρωϊνές ὧρες.
3) Ὁ ἀσθενής νά ἔχει ἀποφύγει τή γυμναστική ἤ ὁποιαδήποτε ἄλλη μυϊκή ἄσκηση.
4) Ἡ αἱμοληψία γίνεται μέ τόν ἀσθενή ξαπλωμένο.
5) Πρέπει νά ρωτᾶμε τόν ἀσθενή ἄν παίρνει φάρμακα, γιατί πολλές φορές τά φάρμακα εἶναι ἡ αἰτία τῶν λανθασμένων ἀποτελεσμάτων.
6) Στίς γυναῖκες νά ρωτᾶμε ἄν βρίσκονται σέ ἔμμηνο ρύση.

4.2 Τρόποι λήψεως αἵματος.

Στούς βιοχημικούς προσδιορισμούς ἡ αἱμοληψία γίνεται ἀπό τή φλέβα. Σέ εἰδικές περιπτώσεις παίρνομε αἷμα τριχοειδικό καί σπάνια ἀρτηριακό.

Φλεβικό αἷμα παίρνομε ὅταν ἀπαιτεῖται πλάσμα ἤ ὀρός γιά τόν προσδιορισμό καί ὅταν πρόκειται νά γίνουν πολλοί καί διαφορετικοί προσδιορισμοί. Αἷμα παίρνομε ἀπό μία φλέβα τῆς ἐσωτερικῆς ἐπιφάνειας τῆς ἀρθρώσεως τοῦ ἀγκώνα. Σημασία μεγάλη ἔχει ἡ περίδεση, πού δέν πρέπει νά παρατείνεται, γιατί ἐπέρχονται σοβαρές ἀλλοιώσεις στή σύσταση τοῦ αἵματος. Ἄν παραταθεῖ γιά διάφορους λόγους ἡ περίδεση εἶναι καλύτερα νά πάρομε αἷμα ἀπό ἄλλη φλέβα ἤ ἀκόμα καλύτερα ἀπό τό ἄλλο χέρι. Ὁ τρόπος λήψεως εἶναι γνωστός ἀπό τήν αἱμοληψία. Θά ἀναφέρομε τήν περίπτωση πού ὁ ἄρρωστος παίρνει ἐνδοφλέβια ἔκχυση κάποιου θεραπευτικοῦ ὀροῦ. Τότε πρέπει νά πάρομε αἷμα ἀπό τό ἄλλο χέρι καί σέ περίπτωση πού δέν βροῦμε φλέβα νά πάρομε ἀπό τή βελόνα τοῦ ὀροῦ, ἀφοῦ πρῶτα τήν ἀποσυνδέσομε ἀπό τόν ὀρό καί ἀφήσομε νά τρέξει 20-30 ml αἵματος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Τριχοειδικό αἷμα παίρνομε:

α) Ὅταν δέν βρίσκομε φλέβα.

β) Ὅταν ἀπαιτοῦνται ἐπανειλημμένα δείγματα σέ μικρά χρονικά διαστήματα ἀπό τό ἴδιο ἄτομο καί,

γ) ὅταν θέλομε νά προσδιορίσομε τά pH τοῦ αἵματος.

Ὁ τρόπος λήψεως εἶναι γνωστός ἀπό τήν αἱμοληψία.

4.3 Προφυλάξεις καί προετοιμασία γιά τή λήψη αἵματος.

Γιά νά κάνομε σῶστά λήψη αἵματος πρέπει νά πάρομε ὁρισμένες ἀπαραίτητες προφυλάξεις καί νά ἔχομε προετοιμασθεῖ κατάλληλα.

Συγκεκριμένα:

1) Ἡ βελόνα τῆς παρακεντήσεως πρέπει νά εἶναι τῆς μιᾶς χρήσεως. Βελόνες πολλῶν χρήσεων, λόγω βλάβης τῆς αἰχμῆς τους καί τῆς ἐπιφάνειας τῶν αὐλῶν, δημιουργοῦν προβλήματα στή φλεβοκέντηση καί συντελοῦν σέ αἱμόλυση.

2) Ἡ σύριγγα πρέπει νά εἶναι τῆς μιᾶς χρήσεως. Ἄν ἡ αἱμοληψία γίνεται μέ γυάλινη σύριγγα αὐτή πρέπει νά ἔχει ἀποστειρωθεῖ μέ ξηρή ἀποστείρωση. Πάντως οἱ γυάλινες σύριγγες ἐπειδή δέν ἔχουν πάντοτε πολύ λεῖα τοιχώματα δημιουργοῦν αἱμόλυση.

3) Τό ποσό τοῦ αἵματος πρέπει νά εἶναι τουλάχιστον διπλάσιο ἀπό τό ποσό πού μᾶς χρειάζεται γιά τήν ἐξέταση ἤ τίς ἐξετάσεις πού πρόκειται νά κάνομε. Κι' αὐτό γιά νά μποροῦμε σέ περίπτωση ἀμφιβολίας νά ἐπαναλάβομε τήν ἐξέταση. Στά νεογνά καί στά βρέφη τό ποσό αἵματος πού παίρνομε πρέπει νά εἶναι ὅσο τό δυνατό μικρότερο, γιατί μπορεῖ νά προκαλέσομε μέ τή λήψη μεγάλου ποσοῦ κυκλοφοριακές διαταραχές. Στά νεογνά π.χ. ἄν πάρομε 5 ml αἷμα εἶναι σάν νά παίρνομε 300 ml ἀπό τόν ἐνήλικα. Πρέπει ἐπίσης νά γνωρίζομε ὅτι γιά κάθε 1 ml ὁροῦ ἀπαιτοῦνται 2,5 ml αἵματος.

4) Τό σωληνάριο ἤ τό φιαλίδιο μέσα στά ὁποῖα θά τοποθετηθεῖ τό αἷμα πού πήραμε πρέπει νά εἶναι στεγνό καί χημικά καθαρό.

5) Πρέπει νά γνωρίζομε ἄν ἡ ἐξέταση πού πρόκειται νά γίνει ἀπαιτεῖ ἤ ὄχι τοποθέτηση ἀντιπηκτικοῦ μέσα στό σωληνάριο ἤ τό φιαλίδιο.

6) Ἄν χρειάζεται ἡ τοποθέτηση ἀντιπηκτικοῦ μέσα στό σωλήνα ἤ τό φιαλίδιο, νά τοποθετεῖται ἡ κατάλληλη ποσότητα καί τό κατάλληλο γιά κάθε ἐξέταση ἀντιπηκτικό. Τό ἀντιπηκτικό δέν πρέπει νά περιέχει τήν οὐσία γιά τήν ὁποία πρόκειται νά ἐξετασθεῖ τό λαμβανόμενο δεῖγμα.

7) Ἡ μεταφορά τοῦ αἵματος ἀπό τή σύριγγα στό σωληνάριο ἤ τό φιαλίδιο θά γίνει ἀφοῦ πρῶτα ἀφαιρεθεῖ ἡ βελόνα καί τό αἷμα, μέ μικρή πίεση τῆς σύριγγας, τρέξει κατά μῆκος τοῦ ἐσωτερικοῦ τοιχώματος τοῦ σωληναρίου ἤ φιαλιδίου. Ἀφήνομε λίγη ποσότητα αἵματος στή σύριγγα, γιά νά μήν φυσήσομε ἀέρα καί γίνουν φυσαλίδες ἤ ἀφρός.

8) Ὅταν τό φιαλίδιο ἤ σωληνάριο περιέχει ἀντιπηκτικό, προσπαθοῦμε μετά τήν τοποθέτηση τοῦ δείγματος αἵματος νά ἀναμείξομε αἷμα καί ἀντιπηκτικό μέ ἤπιες κινήσεις. Συγκεκριμένα ἀναστρέφομε ἐπανειλημμένα καί ἤρεμα τό σωληνάριο ἤ φιαλίδιο μέ τό αἷμα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4.4 Προετοιμασία τοῦ πρός ἐξέταση δείγματος αἵματος.

Οἱ περισσότεροι βιοχημικοί προσδιορισμοί γίνονται σέ ὀρό καί λίγοι σέ πλάσμα ἤ σέ πλῆρες αἷμα. Ὀρός ἤ πλάσμα ἀπαιτεῖται γιά ὅλες τίς ἀναλύσεις οὐσιῶν πού κατανέμονται ἄνισα μεταξύ κυττάρων καί πλάσματος, π.χ. νάτριο, κάλιο, χολερυθρίνη.

Στόν ὀρό ὑπάρχουν μερικές ἐξετάσεις πού γίνονται ὑποχρεωτικά, ὅπως οἱ προσδιορισμοί ἀσβεστίου, σιδήρου, μαγνησίου, λευκωμάτων κλπ. Ἄλλες ἐξετάσεις μποροῦν νά γίνουν εἴτε στόν ὀρό εἴτε στό πλάσμα. Στό διαχωρισμό ὀροῦ ἤ πλάσματος πρέπει νά προσέχομε πολύ νά ἀποφεύγομε τήν αἱμόλυση, γιατί οὐσίες πού ὑπάρχουν μέσα στά ἐρυθρά θά εἰσέλθουν στόν ὀρό καί θά μεταβάλουν τή σύνθεση του. Ἀφήνομε τό αἷμα σέ θερμοκρασία δωματίου νά πήξει. Ἀποκολλᾶμε τό πῆγμα μέ ἕνα γυάλινο ραβδάκι καί φυγοκεντροῦμε. Ἀποχωρίζομε τόν ὀρό καί τόν παίρνομε μέ μιά πιπέττα Pasteur. Ἄν πάρομε μαζί μέ τόν ὀρό καί ἐρυθρά, ξαναφυγοκεντροῦμε καί ἀποχωρίζομε τόν ὀρό. Στή συνέχεια τόν τοποθετοῦμε στό ψυγεῖο ὥς τή στιγμή πού θά ἀρχίσομε τήν ἐξέταση. Ἐπειδή μερικές οὐσίες καί κυρίως ἔνζυμα καταστρέφονται σέ θερμοκρασία δωματίου, ἀμέσως μετά τή λήψη τοῦ αἵματος τό τοποθετοῦμε σέ ψυγεῖο ὥσπου νά πήξει. Ἀποχωρίζομε τόν ὀρό καί πάλι τόν τοποθετοῦμε στό ψυγεῖο.

Τό πλάσμα χρησιμοποιεῖται σέ πολλούς προσδιορισμούς ἐναλλακτικά μέ τόν ὀρό, ἐνῶ σέ μερικούς ὑποχρεωτικά, ὅπως στόν προσδιορισμό ἰνωδογόνου. Ἐμποδίζομε τό δεῖγμα αἵματος νά πήξει καί νά σχηματίσει θρόμβο τοποθετώντας κάποιο ἀντιπηκτικό. Τό ταχύτερο δυνατό πρέπει νά γίνεται ὁ διαχωρισμός ὀροῦ καί πλάσματος, πρός ἀποφυγή αἱμολύσεως. Ἔτσι τό δεῖγμα αἵματος φυγοκεντρεῖται καί τό πλάσμα διαχωρίζεται ἀπό τά κύτταρα.

Πλῆρες αἷμα παίρνομε μέ ἀντιπηκτικό καί τό χρησιμοποιοῦμε γιά ἀνίχνευση οὐσιῶν πού βρίσκονται στήν ἴδια συγκέντρωση καί στά ἐρυθρά καί στό πλάσμα καί πού διέρχονται ἐλεύθερα τίς κυτταρικές μεμβράνες, ὅπως εἶναι ἡ γλυκόζη καί ἡ οὐρία. Ἐπίσης χρησιμοποιεῖται καί γιά ἀνίχνευση οὐσιῶν πού βρίσκονται ὑποχρεωτικά στά ἐρυθρά, ὅπως τά διάφορα ἔνζυμα.

4.5 Φύλαξη τῶν δειγμάτων.

Ἄν καί συνιστᾶται ἡ ἀνάλυση νά ἐκτελεῖται τό ταχύτερο, αὐτό δέν εἶναι δυνατό καί ἔτσι ἀναπόφευκτα τά δείγματα φυλάσσονται. Ὅλα τά δείγματα πρέπει νά διατηροῦνται σέ ψύξη, γιατί αὐτή ἐπιβραδύνει τίς χημικές ἀντιδράσεις πού προκαλοῦν ἀλλαγή στή σύστασή τους. Ἔτσι τοποθετοῦνται σέ ψυγεῖα μέ θερμοκρασία 2-4° C. Ἄν θέλομε νά διατηρήσομε ὀρό ἤ πλάσμα προκειμένου νά προσδιορίσομε ὁρισμένα ἔνζυμα ἀπαιτεῖται ***κατάψυξη.*** Ὅταν πάρομε τά δείγματα πού ἦταν στήν κατάψυξη, αὐτά πρέπει νά λυώσουν τελείως καί νά ἀναμιχθοῦν μέ προσοχή, γιατί κατά τήν κατάψυξη καί τήξη συμβαίνουν μεγάλες μεταβολές τῆς συγκεντρώσεως.

4.6 Ἀντιπηκτικά.

Ὑπάρχουν πολλά εἴδη ἀντιπηκτικῶν πού χρησιμοποιοῦνται στήν ἐργαστηριακή

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

τεχνική, ἀλλά στούς βιοχημικούς προσδιορισμούς δύο εἶναι τά βασικά ἀντιπηκτικά, ἡ ***ἡπαρίνη*** καί τά ***ὀξαλικά.***

α) Ὀξαλικά ἀντιπηκτικά.

Προτιμοῦμε τό ὀξαλικό κάλιο σέ ἀναλογία 2 ml γιά κάθε 1 ml αἵματος. Ὁ καλύτερος τρόπος χρησιμοποιήσεώς του εἶναι ἡ μορφή διαλύματος σέ νερό πού ἀποξηραίνεται μέσα στά σωληνάρια. Ἄν τό χρησιμοποιήσομε σάν ξηρό ἀλάτι, χωρίς προετοιμασία σωληναρίων, τότε χρειάζεται μεγάλη προσοχή στήν ποσότητα.

Τά ὀξαλικά εἶναι ἀκατάλληλα γιά προσδιορισμούς καλίου, νατρίου καί ἀσβεστίου. Γιά νά πετύχομε τή σωστή ἀναλογία ὀξαλικῶν, ἑτοιμάζομε τά σωληνάρια ὡς ἑξῆς:

Διαλύομε 20 g ὀξαλικό κάλιο σέ 100 ml νερό καί ρυθμίζομε τό pH στό 7,4. Σέ 0,1 ml διάλυμά του ὑπάρχουν 20 mg ὀξαλικό κάλιο καί σέ 0,01 ml ὑπάρχουν 2 mg. Μοιράζομε σέ σωληνάρια 0,02 ἤ 0,05 ml. Βάζομε τά σωληνάρια στή συνέχεια ἀνοικτά σέ ξηροκλίβανο μέ θερμοκρασία 80°-100°C καί τά ἀφήνομε μέχρι νά ἐξατμισθεῖ ὅλο τό νερό τοῦ διαλύματος. Τά σωληνάρια μέ 0,02 ml θά εἶναι γιά ποσότητα αἵματος 2 ml καί τά σωληνάρια μέ 0,05 γιά ποσότητες αἵματος 5 ml.

β) Ἡπαρίνη.

Χρησιμοποιεῖται τό ***ἡπαρινικό νάτριο*** καί τό ***ἡπαρινικό ἀσβέστιο.*** Εἶναι κατάλληλο ἀντιπηκτικό γιά ὅλους τούς προσδιορισμούς ἐκτός ἀπό τόν προσδιορισμό ἀσβεστίου καί νατρίου. Μειονέκτημά του ὅτι εἶναι ἀκριβό. Ἡ ἀναλογία εἶναι 0,2 mg ἡπαρίνη γιά κάθε 1 ml αἷμα.

Ἡ παρασκευή τῶν ἡπαρινισμένων σωληναρίων γίνεται ὡς ἑξῆς:

Παρασκευάζομε διάλυμα ἡπαρινικοῦ νατρίου ἤ ἀσβεστίου 1%. Μοιράζομε 0,1 ml σέ σωληνάρια ἤ φιαλίδια καί τά τοποθετοῦμε σέ ξηροκλίβανο μέ θερμοκρασία 120° C. Τά ἀφήνομε ὥσπου νά ἐξατμισθεῖ τό νερό καί τά ἡπαρινισμένα σωληνάρια εἶναι ἕτοιμα. Ὑπάρχουν καί ἄλλα ἀντιπηκτικά ὅπως τό Edta καί τό Wintrobe.Τό πρῶτο χρησιμοποιεῖται γιά προσδιορισμό ἀσβεστίου καί στίς αἱματολογικές ἐξετάσεις, ἐνῶ τό δεύτερο δέν πρέπει νά χρησιμοποιεῖται γιά βιοχημικούς προσδιορισμούς.

4.7 Τί χρειάζεται γιά κάθε ἐξέταση.

Ὅταν παίρνομε τά δείγματα αἵματος γιά τίς βιοχημικές ἐξετάσεις, πρέπει νά γνωρίζομε τό ποσό πού ἀπαιτεῖται γιά κάθε ἐξέταση, ἄν αὐτή προσδιορίζεται στόν ὀρό, τό πλάσμα ἤ στό πλῆρες αἷμα καί ἄν χρειάζεται ἀντιπηκτικό ἤ ὄχι.

Ἀναφέρομε παρακάτω τί χρειάζεται γιά τίς βασικές βιοχημικές ἐξετάσεις (πίνακας 4.6.1).

1) Οὐρία.

Ὁ προσδιορισμός τῆς οὐρίας μπορεῖ νά γίνει στόν ὀρό, τό πλάσμα ἤ τό πλῆρες αἷμα, γιατί τό ποσό εἶναι τό ἴδιο στά ὑγρά αὐτά. Ὅταν ὁ προσδιορισμός γίνεται στόν ὀρό δέν χρησιμοποιοῦμε ἀντιπηκτικό, διαφορετικά χρησιμοποιοῦμε ἡπαρίνη. Τό ἀπαιτούμενο ποσό αἵματος εἶναι 2-3 ml.

2) Σάκχαρο.

Χρειάζεται αἷμα πλῆρες φλεβικό καί ὄχι ὀρός ἤ πλάσμα. Τό αἷμα τό παίρνομε μέ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.6.1

Τί χρειάζεται γιά κάθε βιοχημική έξέταση

Ἐξέταση	Ἀπαιτούμενη Ποσότητα αἵματος σέ cm^3	Τρόπος συλλογῆς αἵματος	Ἀπαιτούμενο δεῖγμα	Φυσιολογικές τιμές
Οὐρία	2 - 3 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό στόν ὀρό Διαφορετικά ἡπαρίνη	Αἷμα, πλάσμα ἤ ὀρός	25 - 45 mg/100 ml
Σάκχαρο	2 cm^3	Μέ ἀντιπηκτικό Ὀξαλικό κάλιο	Πλῆρες αἷμα	80 - 120 mg/100ml
Κρεατινίνη	7 - 8 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	0,7 - 1,5 mg/100ml
Οὐρικό ὀξύ	3 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό στόν ὀρό Στό πλάσμα ἡπαρίνη	Ὀρός ἤ πλάσμα	2,5 - 7 mg/100 ml
Χοληστερίνη	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	151 - 250 mg/100ml
Χολερυθρίνη	2 - 3 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	0,20 - 0,75 mg/100 ml
Ἀλκαλική φωσφατάση	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	4 - 13 μονάδες King-Armstrong 2 - 4 Bodansky
Ὀξινη φωσφατάση	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	1 - 5 μονάδες King-Armstrong 0,5 - 2 Bodansky
SGOT	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	5 - 30 μονάδες
SGPT	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	1 - 25 μονάδες
Λεύκωμα	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	5,6 - 7,5 g/100 ml
Νάτριο	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	135 - 152 mEq/l
Χλώριο	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	98 - 105 mEq/l
Κάλιο	5 cm^3	Χωρίς ἀντιπηκτικό	Ὀρός	3,6 - 5,4 mEq/l

ἀντιπηκτικό. Ἄν τό ἀντιπηκτικό εἶναι ὀξαλικό κάλιο, ὁ προσδιορισμός πρέπει νά γίνει γρήγορα, μέσα σέ μιά ὥρα, γιατί ἡ γλυκόζη διασπᾶται. Ἄν χρησιμοποιήσομε φθοριοῦχο νάτριο μποροῦμε νά διατηρήσομε τή γλυκόζη 24 ὧρες.

Ἄν ἀπό ἀνάγκη χρησιμοποιήσομε τριχοειδικό αἷμα, τότε πρέπει νά γνωρίζομε ὅτι τό ποσό τῆς γλυκόζης εἶναι κατά τι λιγότερο ἀπό τό φλεβικό. Τό ποσό τοῦ αἵματος πού χρειάζεται εἶναι 2 ml.

3) Κρεατινίνη.

Ὁ προσδιορισμός της γίνεται στόν ὀρό. Παίρνομε 7-8 ml φλεβικό αἷμα χωρίς

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ἀντιπηκτικό, γιατί χρειαζόμαστε 3 ml ὁροῦ.

4) Οὐρικό ὀξύ.

Ὁ προσδιορισμός του γίνεται στόν ὀρό ἤ τό πλάσμα. Στήν ἐνζυματική μέθοδο χρησιμοποιοῦμε πρόσφατο ὀρό χωρίς ἀντιπηκτικό. Ἄν ὁ προσδιορισμός γίνει στό πλάσμα χρησιμοποιοῦμε ἡπαρίνη. Ὁ ὀρός ἤ τό πλάσμα φυλάγονται στό ψυγεῖο μέχρι καί μιά ἑβδομάδα. Τό ποσό τοῦ αἵματος πού χρειάζεται εἶναι 3 ml.

5) Χολερυθρίνη.

Ὁ προσδιορισμός γίνεται στόν ὀρό καί πρέπει νά μήν ἔχει γίνει αἱμόλυση καί νά μήν εἶναι θολός. Χρειαζόμαστε 2-3 ml αἷμα πού τό παίρνομε χωρίς ἀντιπηκτικό.

6) Χοληστερίνη.

Παίρνομε αἷμα 5 ml χωρίς ἀντιπηκτικό. Χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό πού κατά προτίμηση πρέπει νά εἶναι φρέσκος καί χωρίς αἱμόλυση. Ὁ ὀρός μπορεῖ νά διατηρηθεῖ στό ψυγεῖο 6 ἡμέρες χωρίς καμμιά μεταβολή στό ποσό τῆς χοληστερίνης.

7) Ἀλκαλική φωσφατάση.

Παίρνομε αἷμα 5 ml χωρίς ἀντιπηκτικό. Χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό πού πρέπει νά εἶναι πρόσφατος καί χωρίς αἱμόλυση.

8) Ὄξινη φωσφατάση.

Παίρνομε 5 ml χωρίς ἀντιπηκτικό. Χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό. Ἐπειδή ἡ ὄξινη φωσφατάση εἶναι ἀσταθές ἔνζυμο καί καταστρέφεται πολύ εὔκολα στή θερμοκρασία τοῦ δωματίου, τό αἷμα πρέπει νά φυλάγεται στό ψυγεῖο.

9) SGOT.

Παίρνομε αἷμα 5 ml χωρίς ἀντιπηκτικό. Χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό, πού πρέπει νά εἶναι πρόσφατος καί χωρίς αἱμόλυση. Στήν κατάψυξη μποροῦμε νά διατηρήσομε τόν ὀρό 2-3 ἡμέρες.

10) SGPT.

Ἰσχύουν ὅτι καί μέ τή SGOT.

11) Λεύκωμα.

Παίρνομε αἷμα 5 ml χωρίς ἀντιπηκτικό. Χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό πού πρέπει νά εἶναι πρόσφατος, διαυγής καί χωρίς αἱμόλυση. Ἄν εἶναι θολός ἤ ἰκτερικός θά μπεῖ ἰδιαίτερο «τυφλό ὀροῦ».

12) Κάλιο.

Παίρνομε 5 ml αἷμα χωρίς ἀντιπηκτικό. Ἡ αἱμοληψία πρέπει νά γίνει χωρίς περίδεση ἤ ἀφοῦ λύσομε τήν περίδεση. Χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό, πού πρέπει νά ἀποχωρίζεται γρήγορα, ἀμέσως μετά τήν πήξη τοῦ αἵματος. Τό αἷμα δέν πρέπει νά παραμένει γιά πολύ, γιατί θά δεχθεῖ κάλιο ἀπό τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια.

13) Νάτριο — Χλώριο.

Παίρνομε 5 ml αἷμα χωρίς ἀντιπηκτικό καί χρησιμοποιοῦμε τόν ὀρό.

Ἐρωτήσεις.

1. Ποιές προφυλάξεις παίρνομε καί ποιά προετοιμασία κάνομε στή λήψη αἵματος;
2. Πῶς φυλάγονται τά δείγματα;
3. Ποιά ἀντιπηκτικά χρησιμοποιοῦμε στούς βιοχημικούς προσδιορισμούς;

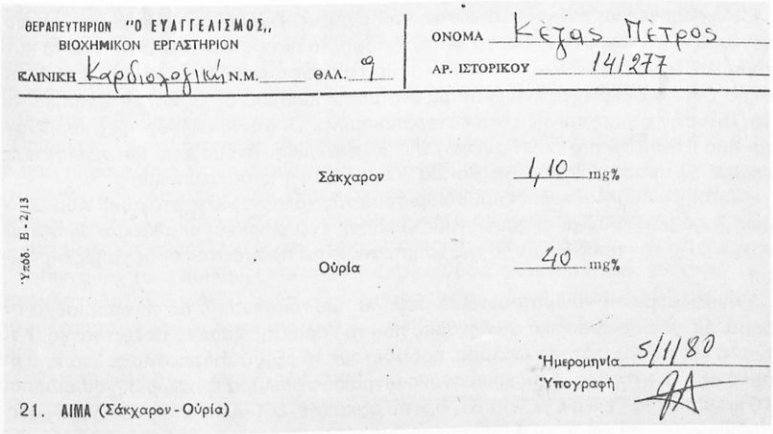
Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4. Τί χρειάζεται γιά τήν ἐξέταση τῆς οὐρίας, τοῦ σακχάρου καί τῆς χοληστερίνης;
5. Τί χρειάζεται γιά τήν ἐξέταση τοῦ οὐρικοῦ ὀξέος, τῆς χολερυθρίνης καί τῶν λευκωμάτων;

4.8 Ὀργανικές ἑνώσεις — Ἐξετάσεις.

4.8.1 Οὐρία.

Ἡ οὐρία ἀποτελεῖ τό τελικό προϊόν τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν πρωτεϊνῶν. Παράγεται συνεχῶς στό ἧπαρ καί ἀποβάλλεται ἀπό τά νεφρά. Τό ποσό τῆς οὐρίας στόν ὀρό, τό πλάσμα καί τό πλῆρες αἷμα εἶναι σχεδόν τό ἴδιο, γι' αὐτό ὁ προσδιορισμός της μπορεῖ νά γίνει σέ ὁποιοδήποτε ἀπό τά ὑγρά αὐτά. Προσδιορίζομε τήν οὐρία εἴτε μέ μέθοδο ἐνζυμική, ***μέθοδος οὐρεάσης,*** εἴτε μέ μέθοδο βιοχημική, ***μέθοδος ὀξίμης.*** Φυσιολογικές τιμές 22-40 mg% (σχ. 4.8).


ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ
ΚΛΙΝΙΚΗ Καρδιολογική Ν.Μ. ΘΑΛ. 9
ΟΝΟΜΑ Κέγας Πέτρος
ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ 141277
Σάκχαρον 1,10 mg%
Οὐρία 40 mg%
Ἡμερομηνία 5/1/80
Ὑπογραφή
21. ΑΙΜΑ (Σάκχαρον - Οὐρία)
Ὑπόδ. Ε - 2/13

Σχ. 4.8.
Τρόπος ἐγγραφῆς στό ἔντυπο ἀπαντήσεως βιοχημικῶν ἐξετάσεων.

Μέθοδος οὐρεάσης.

Ἡ ἀρχή τῆς μεθόδου αὐτῆς εἶναι ὅτι ἡ οὐρεάση διασπᾶ τήν οὐρία καί παράγεται ἀνθρακική ἀμμωνία. Ἡ ἀμμωνία ἀντιδρᾶ μέ τό ὑποχλωριῶδες νάτριο καί τή φαινόλη καί σχηματίζεται μιά οὐσία μέ μπλέ χρῶμα. Ἡ ἔνταση τοῦ χρώματος εἶναι ἀνάλογη πρός τό ποσό τῆς οὐρίας πού διασπάσθηκε. Χρησιμοποιοῦμε ὀρό ἀπό αἷμα πού πήραμε χωρίς ἀντιπηκτικό.

Ὁ προσδιορισμός γίνεται ὡς ἑξῆς:

Παίρνομε 3 δοκιμαστικά σωληνάρια καί τά χαρακτηρίζομε ***T*** τό τυφλό, ***ST*** τό πρότυπο καί ***E*** τό ἐξεταστέο. Στό Ε σωληνάριο τοποθετοῦμε 0,02 ml ὀρό πού ἐξετάζομε καί 0,2 ml οὐρεάση. Στό ST σωληνάριο τοποθετοῦμε 0,02 ml πρότυπο διάλυμα οὐρίας καί 0,2 ml οὐρεάση. Στό Τ σωληνάριο τοποθετοῦμε 0,2 ml οὐρεά-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ση. Σκεπάζομε καί τά τρία σωληνάρια, τά ἀνακατεύομε καλά καί τά βάζομε σέ ὑδατόλουτρο 37°C γιά 15 λεπτά. Στή συνέχεια βγάζομε τά σωληνάρια ἀπό τό ὑδατόλουτρο καί τά ψύχομε μέ νερό βρύσης. Προσθέτομε καί στά τρία σωληνάρια ἀπό 5 ml ἀντιδραστήριο φαινόλης-νιτροπρωσσικοῦ καί ἀπό 5 ml ἀντιδραστήριο NaOH-ὑποχλωριώδους νατρίου. Ἀνακατεύομε καλά τά ἀντιδραστήρια καί τά ξαναβάζομε στό ὑδατόλουτρο 37°C γιά 15 λεπτά.

Μηδενίζομε τό φωτόμετρο μέ τό Τ σωληνάριο καί φωτομετροῦμε σέ μῆκος κύματος 630 nm. Σημειώνομε τίς ἐνδείξεις τῶν ἄλλων δύο σωληναρίων καί ὁ ὑπολογισμός γίνεται μέ τόν τύπο:

$$\frac{E}{ST} \times 100 = \text{mg \% οὐρίας}$$

4.8.2 Χοληστερίνη.

Ἡ χοληστερίνη ἀνήκει στά ***λιπίδια*** τοῦ αἵματος. Παράγεται ἀπό τό ἀκετυλοσυνένζυμο Α κυρίως στό ἧπαρ. τό λεπτό ἔντερο, τά ἀγγεῖα καί γενικά σέ ὅλα τά κύτταρα τοῦ ὀργανισμοῦ, ἐκτός ἀπό τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια. Τό μόριό της μέ τό ἐλεύθερο ΟΗ πού περιέχει, ἑνώνεται μέ ἕνα μόριο λιπαροῦ ὀξέος καί ἐστεροποιεῖται. Τά 75% τῆς χοληστερίνης εἶναι ἐστεροποιημένα. Οἱ φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται ἀπό 150-250 mg %. Ἡ αὔξηση τῆς χοληστερίνης ὀνομάζεται ***ὑπερχοληστεριναιμία.*** Ὁ προσδιορισμός της βοηθᾶ στή μελέτη τῆς ὑπερλιπαιμίας.

Ὑπάρχουν πολλοί τρόποι προσδιορισμοῦ τῆς χοληστερίνης στό αἷμα. Κυρίως ὅμως χρησιμοποιοῦνται οἱ χρωματομετρικοί, οἱ ἐνζυμικοί καί οἱ μέθοδοι μέ αὐτοαναλυτή. Γιά τόν προσδιορισμό της χρησιμοποιεῖται πρόσφατος ὀρός χωρίς αἱμόλυση.

Ἀναφέρομε τή χρωματομετρική μέθοδο προσδιορισμοῦ, μέ τριχλωριοῦχο σίδηρο. Σέ τρία δοκιμαστικά σωληνάρια, πού τά χαρακτηρίζομε ***Ε,*** τό ἐξεταστέο, ***Τ*** τό τυφλό καί ***ST*** τό πρότυπο διάλυμα, προσθέτομε τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια. Στό Ε, 6 ml ὀξικό ὀξύ, 0,1 ml ὀρό, 4 ml χρωμογόνο μίγμα ἀπό διάλυμα τριχλωριούχου σιδήρου 10% καί πυκνό θεϊκό ὀξύ. Στό ST, 5,9 ml ὀξικό ὀξύ, 0,1 ml πρότυπο διάλυμα χοληστερίνης, 0,1 ml νερό καί 4 ml χρωμογόνο μίγμα. Στό τυφλό Τ, 6 ml ὀξικό ὀξύ, 0,1 ml νερό καί 4 ml χρωμογόνο μίγμα. Ἀνακατεύομε καλά καί ἀφήνομε 20 λεπτά τά σωληνάρια νά κρυώσουν καί νά φύγουν οἱ φυσαλίδες. Φωτομετροῦμε σέ μῆκος κύματος 570 nm. Σημειώνομε τίς ἐνδείξεις τῆς ὀπτικῆς πυκνότητας τοῦ Τ, τοῦ ST καί τοῦ Ε.

Ὁ ὑπολογισμός τῆς χοληστερίνης γίνεται ὡς ἑξῆς:

$$\frac{E - T}{ST - T} \times 200 = \text{mg \% χοληστερίνη}$$

Ἄν πρόκειται νά κάνομε τόν προσδιορισμό σέ πολλά δείγματα αἵματος, τότε ἀριθμοῦμε τά Ε καί χρησιμοποιοῦμε μόνο ἕνα ST καί ἕνα Τ γιά ὅλη τή σειρά.

4.8.3 Σάκχαρο.

Γιά τόν προσδιορισμό τοῦ σακχάρου στό αἷμα, ὑπάρχουν πολλές μέθοδοι πού

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

μποροῦμε νά τίς κατατάξομε σέ τρεῖς κατηγορίες.

1) Μέθοδοι χρωματομετρικές.
2) Μέθοδοι τιτλοδοτικές.
3) Μέθοδοι ἐνζυμικές.

Οἱ ἐνζυμικές μέθοδοι πλεονεκτοῦν, γιατί μέ αὐτές προσδιορίζομε μόνο τό ποσό τῆς γλυκόζης στό αἷμα. Θά ἀναφέρομε τήν ἐνζυμική μέθοδο τῆς ὀξειδάσης τῆς γλυκόζης. Ἡ γλυκόζη μέ τό ἔνζυμο ὀξειδάση τῆς γλυκόζης, ὀξειδώνεται πρός γλυκολακτόνη. Σέ ὑδατικό διάλυμα μετατρέπεται ἡ γλυκολακτόνη σέ γλυκονικό ὀξύ καί ἀποδίδει ὑπεροξείδιο τοῦ ὑδρογόνου. Τό ὑπεροξείδιο τοῦ ὑδρογόνου, παρουσία ὑπεροξειδάσης ἀποδίδει ὀξυγόνο «ἐν τῷ γενᾶσθαι», πού ὀξειδώνει μιά χρωμογόνο οὐσία καί παράγεται μιά χρωστική. Ἡ ἔνταση τοῦ χρώματος τῆς χρωστικῆς αὐτῆς εἶναι ἀνάλογη μέ τό ποσό τῆς γλυκόζης.

Γιά τόν προσδιορισμό τῆς γλυκόζης μέ τή μέθοδο αὐτή παίρνομε αἷμα χωρίς ἀντιπηκτικό. Ἀφήνομε τό αἷμα 30 λεπτά στό ὑδατόλουτρο γιά νά κάνομε ἀποκόλληση τοῦ ὀροῦ. Σέ σωληνάριο αἱμολύσεως τοποθετοῦμε 1 ml ὑπερχλωρικό ὀξύ 0,33 N καί προσθέτομε 0,1 ml ὀρό μέ πιπέττα τοῦ 1 ml. Ἀναδεύομε τό διάλυμα φυσώντας καί φυγοκεντροῦμε 10 λεπτά στίς 3000 στροφές. Ἔχομε ἐπιτύχει μέ τά παραπάνω τήν ἀπολευκωματοποίηση καί παίρνομε ἀπό τό φυγοκεντρημένο διάλυμα 0,2 ml τοῦ ὑπερκείμενου.

Παίρνομε 3 δοκιμαστικούς σωλῆνες καί τούς χαρακτηρίζομε ***E, ST*** καί ***T.*** Τά 2 ml, πού πήραμε ἀπό τό ὑπερκείμενο τοῦ φυγοκεντρημένου διαλύματος, τά τοποθετοῦμε στό σωλήνα Ε. Στόν ἴδιο σωλήνα προσθέτομε 5 ml Buffer σακχάρου (πρότυπο διάλυμα). Στό σωλήνα Τ τοποθετοῦμε 5 ml Buffer καί στό σωλήνα ST 9,1 mg γλυκόζη ἀνά 100 ml, πού ὑπάρχει ἕτοιμο στό ἐμπόριο.

Ἀνακινοῦμε τούς σωλῆνες καί τούς βάζομε σέ ὑδατόλουτρο στούς 37°C γιά 15 λεπτά ἤ στούς 25°C γιά 30 λεπτά. Φωτομετροῦμε σέ μῆκος κύματος 590 nm. Στή φωτομέτρηση μηδενίζομε τό σωλήνα Τ καί σημειώνομε τίς ἐνδείξεις τοῦ σωλήνα Ε καί ST.

Ὁ ὑπολογισμός γίνεται μέ τόν τύπο:

$$\frac{E}{ST} \times 100 = \text{mg \% γλυκόζης}$$

ἤ

$$\frac{E}{ST} \times 5{,}55 = \text{mmol/}l \text{ γλυκόζης}$$

4.8.4 Κρεατινίνη.

Ἡ κρεατινίνη εἶναι ἕνα ἀπό τά τελικά προϊόντα τοῦ μεταβολισμοῦ. Ἐπειδή εἶναι ἄχρηστο τελικό προϊόν, δέν τό ἐπαναρροφᾶ ὁ νεφρός καί ἀποβάλλεται συνεχῶς μέ τά οὖρα. Τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια ἔχουν πολύ περισσότερο ποσό κρεατινίνης ἀπό τό πλάσμα, γι' αὐτό ὁ ὁρός πού χρησιμοποιοῦμε πρέπει νά εἶναι χωρίς αἱμόλυση.

Γιά τόν προσδιορισμό της στό αἷμα, χρησιμοποιοῦμε τή μέθοδο τοῦ πικρικοῦ ὀξέος, πού στηρίζεται στήν ἀρχή, ὅτι ἡ κρεατινίνη ἀντιδρᾶ μέ ἀλκαλικό διάλυμα πικρικοῦ ὀξέος καί οἱ ἑνώσεις πού σχηματίζονται ἔχουν κόκκινο χρῶμα. Ἡ ἔνταση τοῦ χρώματος εἶναι ἀνάλογη μέ τό ποσό τῆς κρεατινίνης.

Σέ ἕνα σωληνάριο φυγοκέντρου τοποθετοῦμε 4,5 ml νερό, 3 ml ὀρό, 1,5 ml βολφραμικό καί 3 ml θειϊκό ὀξύ. Ἀνακατεύομε καί ἀφήνομε τό διάλυμα γιά 30 λεπτά. Μετά φυγοκεντροῦμε στίς 2000 στροφές καί παίρνουμε 5 ml ἀπό τό ὑπερκείμενο, πού εἶναι ὀρός ἀραιωμένος μετά τήν ἀπολευκωματοποίηση.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Σέ τρία σωληνάρια πού τά χαρακτηρίζομε ***E, ST*** καί ***T*** τοποθετοῦμε τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια. Στό Ε σωληνάριο 5 ml ὀρό, 100 mg ἀντιδραστήριο Lloyd καί 0,5 ml ὀξαλικό ὀξύ. Στό ST σωληνάριο 5 ml πρότυπο διάλυμα κρεατινίνης, 100 mg ἀντιδραστήριο Lloyd καί 0,5 ml ὀξαλικό ὀξύ. Στό Τ σωληνάριο 5 ml νερό, 100 mg ἀντιδραστήριο Lloyd καί 0,5 ml ὀξαλικό ὀξύ.

Φυγοκεντροῦμε καί τά τρία σωληνάρια 20 λεπτά στίς 3000 στροφές. Τό ὑπερκείμενο διάλυμα τό πετᾶμε καί ἀναποδογυρίζομε τά σωληνάρια πάνω σέ διηθητικό χαρτί γιά νά στραγγίσει τό ἴζημα. Στή συνέχεια προσθέτομε καί στά 3 σωληνάρια 7 ml ἀλκαλικό πικρικό ὀξύ. Πωματίζομε τά σωληνάρια καί ἀνακατεύομε τό διάλυμα. Ἀφοῦ ἀνακατέψομε, φυγοκεντροῦμε 10 λεπτά στίς 2000 στροφές. Μετά τήν φυγοκέντρηση ἀφήνομε τά σωληνάρια 10 λεπτά στή θερμοκρασία δωματίου καί φωτομετροῦμε. Ἡ φωτομέτρηση γίνεται σέ μῆκος κύματος 520 nm, ἀφοῦ μηδενίσομε μέ τό Τ σωληνάριο. Ὁ ὑπολογισμός γίνεται μέ τόν τύπο:

$$\frac{E}{ST} \times 2 = \text{mg κρεατινίνης αἵματος}$$

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: 0,9-1,7%.

4.8.5 Οὐρικό ὀξύ.

Τό οὐρικό ὀξύ εἶναι τό τελικό προϊόν τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν πουρινῶν τοῦ ὀργανισμοῦ. Γιά τόν προσδιορισμό τοῦ οὐρικοῦ ὀξέος χρησιμοποιοῦνται μέθοδοι ἐνζυμικές καί χρωματομετρικές. Θά περιγράψομε μιά χρωματομετρική μέθοδο πού στηρίζεται στήν ἀρχή ὅτι τό οὐρικό ὀξύ ἀντιδρᾶ μέ τό φωσφοροβολφραμικό ὀξύ, σέ ἀλκαλικό περιβάλλον καί παράγει ἕνωση μέ μπλέ χρῶμα. Ἡ ἔνταση τοῦ χρώματος εἶναι ἀνάλογη μέ τό ποσό τοῦ οὐρικοῦ ὀξέος.

Χρησιμοποιοῦμε ὀρό καί στήν πρώτη φάση κάνομε ἀπολευκωματοποίηση ὡς ἑξῆς: Σέ σωληνάριο φυγοκέντρου τοποθετοῦμε 1 ml ὀρό, 8 ml νερό καί 1 ml διάλυμα φωσφομολυβδαινικοῦ. Ἀνακατεύομε καί φυγοκεντροῦμε 10 λεπτά στίς 4000 στροφές. Ἀπό τό ὑπερκείμενο παίρνομε 5 ml, πού τό τοποθετοῦμε σέ σωληνάριο πού χαρακτηρίσαμε ***E.*** Στό Ε σωληνάριο προσθέτομε ἀκόμα καί 1 ml διάλυμα ἀνθρακικοῦ νατρίου. Σέ ἄλλο σωληνάριο ***ST*** τοποθετοῦμε 5 ml πρότυπο διάλυμα οὐρικοῦ ὀξέος καί 1 ml διάλυμα ἀνθρακικοῦ νατρίου. Σέ τρίτο σωληνάριο ***T*** τοποθετοῦμε 5 ml νερό καί 1 ml διάλυμα ἀνθρακικοῦ νατρίου. Τά τρία σωληνάρια τά ἀφήνομε 10 λεπτά καί προσθέτομε σέ ὅλα 1 ml φωσφομολυβδαινικό ἀντιδραστήριο. Ἀφήνομε τά σωληνάρια 30 λεπτά καί φωτομετροῦμε. Ἡ φωτομέτρηση γίνεται σέ μῆκος κύματος 700 nm, ἀφοῦ μηδενίσομε μέ τό Τ σωληνάριο.

Ὁ ὑπολογισμός γίνεται μέ τόν τύπο:

$$\frac{E}{ST} \times 10 = \text{mg οὐρικό ὀξύ}$$

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: γιά τούς ἄνδρες 2,6-7% καί γιά τίς γυναῖκες 2-6%.

4.8.6 Χολερυθρίνη.

Ἡ χολερυθρίνη προέρχεται ἀπό τή διάσπαση τῆς αἱμοσφαιρίνης τῶν ἐρυθρῶν

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

αἰοσφαιρίων, πού συμβαίνει στά κύτταρα τοῦ δικτυοενδοθηλιακοῦ συστήματος. Διακρίνομε τήν ἔμμεση καί τήν ἄμεση χολερυθρίνη. Ἡ πρώτη παράγεται στά κύτταρα τοῦ ΔΕΣ, εἶναι ἀδιάλυτη στό νερό καί κατευθύνεται πρός τό ἧπαρ ἑνωμένη χαλαρά μέ λεύκωμα, γιά νά ἀποβληθεῖ. Ἡ ἄμεση παράγεται ἀπό τήν πρώτη μέσα στά ἡπατικά κύτταρα, ὅταν ἡ ἔμμεση χολερυθρίνη συνδεθεῖ μέ τό γλυκουρονικό ὀξύ. Ἡ ἄμεση εἶναι διαλυτή στό νερό καί ἀποβάλλεται ἀπό τό ἔντερο.

Ἡ ἄμεση, λέγεται ἔτσι, γιατί ἀντιδρᾶ ἀμέσως μέ τό διαζωαντιδραστήριο ὅταν ἔλθει σέ ἐπαφή μαζί του. Ἡ ἔμμεση χολερυθρίνη δέν ἀντιδρᾶ ἀμέσως μέ διαζωαντιδραστήριο, ἀλλά μόνο μετά τήν προσθήκη οἰνοπνεύματος.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: ὀλική 0,1-1,2 mg%, ἄμεση 0,1-0,4 mg% καί ἔμμεση 0,2-0,7 mg%.

Ὅλες οἱ μέθοδοι προσδιορισμοῦ στηρίζονται στήν ἀρχή ὅτι ἡ χολερυθρίνη ἀντιδρᾶ μέ τό διαζωαντιδραστήριο καί σχηματίζει διαζωχολερυθρίνη πού ἔχει μώβ χρῶμα. Ἡ ἄμεση σχηματίζει τό χρῶμα ἀμέσως, ἐνῶ ἡ ἔμμεση μετά τήν προσθήκη οἰνοπνεύματος. Γιά τόν προσδιορισμό τῆς χολερυθρίνης χρησιμοποιοῦμε ὀρό χωρίς αἱμόλυση καί νά μήν εἶναι θολός.

Ἀραιώνομε τόν ὀρό μέ νερό σέ ἀραίωση 1 : 10, ἀναμιγνύοντας 0,5 ml ὀρό καί 4,5 ml νερό. Μετά τήν ἀραίωση τοῦ ὀροῦ, ἐπειδή ἡ μέθοδος ἀπαιτεῖ πάντα πρόσφατο διαζωαντιδραστήριο, τό παρασκευάζομε ἀναμιγνύοντας 10 ml σουλφανιλικό ὀξύ 1‰ καί 0,3 ml νιτρῶδες νάτριο 0,5%. Γιά τή δοκιμασία χρησιμοποιοῦμε 4 σωληνάρια, δύο γιά τήν ὀλική, πού τά χαρακτηρίζομε ***Ε*** καί ***Τ,*** καί δύο γιά τήν ἄμεση μέ τόν ἴδιο χαρακτηρισμό. Στά σωληνάρια προσθέτομε τά ἑξῆς:

Στό σωληνάριο Ε τῆς ὀλικῆς χολερυθρίνης 1,25 ml μεθανόλη, 0,25 ml διαζωαντιδραστήριο καί 1 ml ὀρό. Στό Τ σωληνάριο τῆς ὀλικῆς χολερυθρίνης 1,25 ml μεθανόλη, 0,25 ml ὑδροχλωρικό ὀξύ 1,5 % καί 1 ml ὀρό. Στό Ε σωληνάριο τῆς ἄμεσης χολερυθρίνης 1,25 ml νερό, 0,25 ml διαζωαντιδραστήριο καί 1 ml ὀρό. Στό Τ σωληνάριο τῆς ἄμεσης χολερυθρίνης 1,25 ml νερό, 0,25 ml ὑδροχλωρικό ὀξύ 1,5% καί 1 ml νερό.

Ἀφήνομε τά τέσσερα σωληνάρια σέ θερμοκρασία δωματίου καί φωτομετροῦμε μετά ἀπό 15 λεπτά τά σωληνάρια τῆς ἄμεσης καί μετά 30 λεπτά τά σωληνάρια τῆς ὀλικῆς χολερυθρίνης. Ἡ φωτομέτρηση γίνεται σέ μῆκος κύματος 530 nm, ἀφοῦ μηδενίσομε μέ τό Τ σωληνάριο καί σημειώσομε τήν ἔνδειξη τοῦ Ε σωληναρίου. Ὁ ὑπολογισμός τῆς χολερυθρίνης γίνεται εἴτε μέ καμπύλη χολερυθρίνης πού ἔχομε κατασκευάσει, εἴτε μέ κάποιο συντελεστή πού βγάζομε ἀπό τήν καμπύλη αὐτή.

Ἐρωτήσεις.

1. Σέ ποιά ἀρχή στηρίζεται ὁ προσδιορισμός τῆς οὐρίας;
2. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τῆς οὐρίας;
3. Σέ ποιά ἀρχή στηρίζεται ὁ προσδιορισμός τοῦ σάκχαρου;
4. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τοῦ σάκχαρου;
5. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τῆς χολερυθρίνης;
6. Σέ ποιά ἀρχή στηρίζεται ὁ προσδιορισμός τῆς χολερυθρίνης;
7. Σέ ποιά ἀρχή στηρίζεται ὁ προσδιορισμός τοῦ οὐρικοῦ ὀξέος;
8. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τοῦ οὐρικοῦ ὀξέος;
9. Νά ἀναφέρετε τόν προσδιορισμό τῆς χοληστερίνης καί σέ ποιά ἀρχή στηρίζεται ἡ μέθοδος τοῦ προσδιορισμοῦ της.
10. Πῶς προσδιορίζεται ἡ κρεατινίνη;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4.9 Ἔνζυμα.

Τά ἔνζυμα εἶναι ὀργανικοί καταλύτες (βιοκαταλύτες) πού παράγονται μέσα στά κύτταρα ἤ ὑπό τήν ἐπίδραση τῶν κυττάρων τῶν φυτῶν καί τῶν ζώων. Μεταβάλλουν τήν ταχύτητα μιᾶς ἀντιδράσεως πού συμβαίνει σέ ἕνα ὀργανισμό, χωρίς νά παθαίνουν αὐτά τίποτα καί χωρίς νά συμμετέχουν στό τελικό προϊόν τῆς ἀντιδράσεως. Ἀποτελοῦνται ἀπό μιά πρωτεΐνη (ἀποένζυμο) καί μιά προσθετική ὁμάδα (συνένζυμο). Κάθε ἔνζυμο ἔχει εἰδική ἀποστολή καί δρᾶ σέ ὁρισμένη οὐσία, τό ***ὑπόστρωμα,*** ἀπό τήν ὁποία παίρνει καί τό ὄνομά του (λίπος → λιπάση). Διακρίνομε τά ***πεπτικά ἔνζυμα,*** τίς ***ἀφυδρογονάσες,*** τίς ***τρανσαμινάσεις,*** τίς ***φωσφατάσες,*** τίς ***χολινεστεράσες,*** τά ***γλυκολυτικά ἔνζυμα*** καί τήν ***ἀλδολάση*** (πίνακας 4.9.1).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.9.1

Φυσιολογικές τιμές τῶν ἐνζύμων τοῦ αἵματος

(Οἱ τιμές κάθε φορά μπορεῖ νά διαφέρουν, ἀνάλογα μέ τήν ἐργαστηριακή μέθοδο πού χρησιμοποιήθηκε

ΟΝΟΜΑ ΕΝΖΥΜΟΥ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
1. Ἀλδολάση (ALD)	3-8 μονάδες Silbey-Lehninger
2. Ἀμυλάση (α-ἀμυλάση ἤ διαστάση)	16-32 μονάδες Walgemuth ἤ 80-150 μονάδες Somogyi/100 ml
3. Ἀφυδρογονάσες	80-150 μονάδες Somogyi/100 ml
4. Γαλακτική δεϋδρογενάση (L.D.H)	200-600 μονάδες Wilkinson-Elliot
5. Ἰσοκιτρική δεϋδρογενάση (I.C.D)	50-80 μονάδες Sigma
6. Μαλική δεϋδρογενάση (M.D.H)	40-100 μονάδες Wilkinson
7. Ὑδροξυβουτυρική (H.B.D)	150-300 μονάδες Rosalki
8. Κρεατίνη φωσφοροκινάση (C.P.K)	0-12 μονάδες Sigma ἤ 5-50 μονάδες Oliver-Rosalki
9. Λευκίνη-Ἀμινοπεπτιδάση (L.A.P)	80-220 μονάδες Goldbarg-Rutenburg
10. Λιπάση	1-1,5 cm^3 N/20 NaOH
11. 5΄-Νουκλεοτιδάση (5΄-N)	0,4-1,6 Bodansky
12. Ὀρνιθίνη Καρβαμυλτρανσφεράση (OCT)	0-500 μονάδες Sigma
13. Τρανσαμινάσες: α) SGOT β) SGPT	Γενικά 5-40 μονάδες Henry καί συνεργατῶν 4-40 μονάδες Henry καί συνεργ. ἤ 10-40μονάδες/ml 5-40μονάδες Henry καί συνεργ. ἤ 5-35 μονάδες/ml
14. Φωσφατάσες: α) Ἀλκαλική	5-13 μονάδες King-Armstrong ἤ 2-4,5 μονάδες Bodansky ἤ 2-8,6 μονάδες Shinowara ἤ 0,8-2,3 μονάδες Bessey-Lowry
β) Ὄξινη	1-5 μονάδες King-Armstrong ἤ 0,5-2 μονάδες Bodansky ἤ 0-1,1 μονάδες Shinowara ἤ 0,1-0,8 μονάδες Bessey-Lowry
15. Χολινεστεράση ὁροῦ ἤ ψευδοχολινεστεράση	55-100 μονάδες Caraway

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4.9.1 Ἀλκαλική φωσφατάση.

Ἡ ἀλκαλική φωσφατάση βρίσκεται σέ ὅλους σχεδόν τούς ἱστούς τοῦ ὀργανισμοῦ. Ἰδιαίτερα ὅμως στά ὀστά, τό βλεννογόνο τοῦ ἐντέρου, τό ἧπαρ καί τά νεφρά. Γιά τόν προσδιορισμό της χρησιμοποιοῦμε τή μέθοδο Bodansky καί τή μέθοδο King-Armstrong. Ἀναφέρομε τή δεύτερη.

Σέ τέσσερα σωληνάρια φυγοκέντρου πού τά χαρακτηρίζομε ***T, C, ST*** καί ***B,*** τοποθετοῦμε τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια. Στό σωληνάριο Τ βάζομε 2 ml ρυθμιστικό διάλυμα Μ/10 ἀνθρακικό-διττανθρακικό νάτριο καί 2 ml διάλυμα Μ/100 τοῦ δινάτριου ἅλατος τοῦ φωσφορικοῦ μονοφαινυλεστέρα. Τό σωληνάριο τοποθετεῖται 3 λεπτά στό ὑδατόλουτρο. Προσθέτομε 0,2 ml ὀρό καί ἀνακατεύομε καλά. Τό σωληνάριο πωματίζεται καί ἀφήνεται γιά 15 λεπτά στό ὑδατόλουτρο. Προσθέτομε 1,8 ml ἀντιδραστήριο τῆς φαινόλης καί τό μίγμα φυγοκεντρεῖται ἤ διηθεῖται. Στό σωληνάριο C τοποθετοῦνται 2 ml ρυθμιστικό διάλυμα Μ/10 ἀνθρακικοῦ-διττανθρακικοῦ νατρίου, 2 ml διάλυμα Μ/100 τοῦ δινάτριου ἅλατος τοῦ φωσφορικοῦ μονοφαινυλεστέρα, 1,8 ml ἀντιδραστήριο τῆς φαινόλης καί 0,2 ml ὀρός. Τό μίγμα φυγοκεντρεῖται ἤ διηθεῖται. Ἀπό τά σωληνάρια Τ καί C παίρνομε 4 ml καί τά τοποθετοῦμε σέ ἄλλα σωληνάρια Τ καί C. Σέ κάθε ἕνα προσθέτομε 2 ml ἀνθρακικό νάτριο καί βάζομε τά σωληνάρια 10 λεπτά στό ὑδατόλουτρο. Στό σωληνάριο ST τοποθετοῦμε 4 ml συγκριτικό διάλυμα φαινόλης καί 2 ml διάλυμα ἄνυδρου ἀνθρακικοῦ νατρίου. Στό σωληνάριο Β τοποθετοῦμε 3,2 ml νερό, 0,8 ml ἀντιδραστήριο φαινόλης καί 2 ml διάλυμα ἄνυδρου ἀνθρακικοῦ νατρίου. Ὅλα τά σωληνάρια τά φωτομετροῦμε σέ μῆκος κύματος 700 nm.

Ὑπολογισμός.

$$\text{Ἀλκαλική φωσφατάση} = \frac{\text{Ὀπτική πυκνότητα T} - \text{Ὀπτική Πυκνότητα C}}{\text{Ὀπτική πυκνότητα ST} - \text{Ὀπτική Πυκνότητα B}} \times 0{,}04 \times \frac{6}{4} \times \frac{100}{0{,}2}$$

$$= \frac{\text{ΟΠ T} - \text{ΟΠ C}}{\text{ΟΠ ST} - \text{ΟΠ B}} \times 30 = \text{μονάδες King-Armstrong \%}$$

Ἡ φυσιολογική τιμή εἶναι: 3-13 μονάδες King-Armstrong σέ 100 ml ὀροῦ.

4.9.2 Ὄξινη φωσφατάση.

Παράγεται κυρίως στόν ἀδένα τοῦ προστάτη καί τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια. Προσδιορίζεται μέ τή μέθοδο Bodansky καί τή μέθοδο King-Armstrong. Περιγράφομε τήν πρώτη.

Σέ δύο δοκιμαστικούς σωλῆνες ***A*** καί ***B*** τοποθετοῦμε 4,5 ml ὑπόστρωμα γιά ὄξινη φωσφατάση, δηλαδή γλυκερινοφωσφορικό νάτριο μέ ὀξικό ὀξύ. Οἱ δύο σωλῆνες τοποθετοῦνται δέκα λεπτά σέ ὑδατόλουτρο 37°C. Στό σωλήνα Α βάζομε 0,5 ml ὀρό καί στό σωλήνα Β 0,5 ml νερό. Ἀνακατεύομε μαλακά καί τοποθετοῦμε τούς σωλῆνες σέ ὑδατόλουτρο 37°C. Μετά ἀπό 60 λεπτά βγάζομε τούς σωλῆνες ἀπό τό ὑδατόλουτρο καί τούς βάζομε γιά πέντε λεπτά σέ παγωμένο ὑδατόλουτρο. Προσθέτομε 5 ml τριχλωροξικό ὀξύ 10%, ἀναμιγνύομε καί μετά 10 λεπτά φυγοκεντροῦμε ἤ διηθοῦμε. Σέ ἄλλο σωλήνα Γ, βάζομε 0,5 ml ὀρό καί 0,5 ml τριχλωροξικό ὀξύ 5%. Ἀναμιγνύομε καί μετά 10 λεπτά φυγοκεντροῦμε ἤ διηθοῦμε. Στή

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

συνέχεια παίρνομε 5 δοκιμαστικούς σωλῆνες καί τούς χαρακτηρίζομε ***α, β, γ, δ*** καί ***ε.*** Στούς σωλῆνες α, β, καί γ, βάζομε 5 ml ἀπό τά διηθημένα τῶν σωλήνων Α, Β, καί Γ ἀντίστοιχα. Στό σωλήνα δ, βάζομε 5 ml συγκριτικό διάλυμα φωσφορικοῦ καί στόν ε σωλήνα 5 ml διάλυμα τριχλωροξικοῦ ὀξέος 5%. Σέ ὅλους τούς σωλῆνες προσθέτομε 1 ml μολυβδαινικό ἀντιδραστήριο, 0,4 ml ἀντιδραστήριο ἀμινοναφθολοσουλφονικοῦ ὀξέος καί 3,6 ml νερό. Ἀνακατεύομε καλά καί μετά 5 λεπτά φωτομετροῦμε σέ μῆκος κύματος 690 nm.

Ὑπολογισμοί.

$$\frac{\text{ΟΠ}\,\alpha - \text{ΟΠ}\,\beta}{\text{ΟΠ}\,\delta - \text{ΟΠ}\,\epsilon} \times 0{,}02 \times \frac{100}{0{,}5} \times \frac{10}{5} = \frac{\text{ΟΠ}\,\alpha - \text{ΟΠ}\,\beta}{\text{ΟΠ}\,\delta - \text{ΟΠ}\,\epsilon} \times 8 = \text{mg φωσφόρου}$$

πού ἐλευθερώθηκε μέ τή δράση τοῦ ἐνζύμου.

$$\frac{\text{ΟΠ}\,\gamma - \text{ΟΠ}\,\epsilon}{\text{ΟΠ}\,\delta - \text{ΟΠ}\,\epsilon} \times 0{,}02 \times \frac{100}{0{,}5} \times \frac{10}{5} = \frac{\text{ΟΠ}\,\gamma - \text{ΟΠ}\,\epsilon}{\text{ΟΠ}\,\delta - \text{ΟΠ}\,\epsilon} \times 8 = \text{mg ἀνόργανου φωσφόρου τοῦ ὁροῦ}$$

Ἡ διαφορά τῶν τιμῶν πού βρέθηκαν, ἀποτελεῖ τή ζητούμενη τιμή.

Ἡ φυσιολογική τιμή εἶναι: 1-2 μονάδες Bodansky κατά 100/ml αἵματος.

4.9.3 Τρανσαμινάσες.

Οἱ τρανσαμινάσες εἶναι κυτταρικά ἔνζυμα, πού παίρνουν μέρος στό μεταβολισμό τῶν ἀμινοξέων. Συγκεκριμένα, καταλύουν τήν ἀντίδραση μεταφορᾶς μιᾶς ἀμινοομάδας ἀπό ἕνα ἀμινοξύ σέ ἕνα κετοξύ. Ἀπό ἄποψη ἐργαστηριακῆς διαγνωστικῆς, οἱ πιό σημαντικές εἶναι δύο. Ἡ ***γλουταμινική ὀξαλοξική τρανσαμινάση*** ἢ ***ἀσπαρτική GOT,*** καί ἡ ***γλουταμική πυρουβική τρανσαμινάση*** ἢ ***ἀλανίνη GPT.*** Βρίσκονται κυρίως στά κύτταρα τοῦ ἥματος. Ὑπάρχουν καί σέ ἄλλους ἱστούς, ὅπως στό μυοκάρδιο καί τούς σκελετικούς μύες.

Ὁ προσδιορισμός καί τῶν δύο γίνεται μέ τήν ἴδια μέθοδο καί χρησιμοποιεῖται πρόσφατος ὁρός χωρίς αἱμόλυση, γιατί τά ἐρυθρά περιέχουν ἀρκετή ποσότητα τρανσαμινάσες. Σέ δύο δοκιμαστικούς σωλῆνες πού τούς χαρακτηρίζομε ***Τ*** καί ***Β,*** τοποθετοῦμε 1 ml ὑπόστρωμα, ἀνάλογα μέ τό ποιά τρανσαμινάση προσδιορίζομε. Τοποθετοῦμε τούς σωλῆνες 10 λεπτά σέ ὑδατόλουτρο 37°C. Στό σωλήνα Τ προσθέτομε 0,2 ml ὀρό αἵματος καί τοποθετοῦμε πάλι τό σωλῆνα στό ὑδατόλουτρο.

Ὁ χρόνος παραμονῆς ἐξαρτᾶται ἀπό τό ποιά τρανσαμινάση προσδιορίζομε. Ἄν γίνεται προσδιορισμός τῆς GOT παραμένει ὁ σωλήνας 60 λεπτά. Ἄν γίνεται προσδιορισμός τῆς GPT παραμένει ὁ σωλήνας 30 λεπτά.

Μετά τόν ἀπαιτούμενο χρόνο, βγάζομε τό σωλήνα ἀπό τό ὑδατόλουτρο καί προσθέτομε 1 ml διάλυμα 2,4 δινιτροφαινυλυδραζίνης περιεκτικότητας 1 mM κατά λίτρο. Στό σωλήνα Β προσθέτομε 0,2 ml ὀροῦ καί 1 ml διάλυμμα 2,4 δινιτροφαινυλυδραζίνης περιεκτικότητας 1 mM κατά λίτρο. Ἀφήνομε τούς σωλῆνες τουλάχιστον 20 λεπτά στή θερμοκρασία τοῦ δωματίου καί στή συνέχεια προσθέτομε καί στούς δύο 10 ml διάλυμα 0,4 N καυστικοῦ νατρίου. Πωματίζομε τούς σωλῆνες καί ἀνακατεύομε καλά. Μετά ἀπό 30 λεπτά φωτομετροῦμε καί μετροῦμε τήν ὀπτική πυκνότητα σέ μῆκος κύματος 505 nm.

Γιά νά κάνομε τή σύγκριση, παρασκευάζομε μιά σειρά ἀραιώσεων ἀπό ἕνα πρό-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

τυπο διάλυμα πυροσταφυλικοῦ ὀξέος, σέ ἐννέα σωληνάρια, ὅπου κάθε ἀραίωση ἀντιστοιχεῖ σέ ὁρισμένες μονάδες τρανσαμινάσης. Μηδενίζομε μέ τό κάθε σωληνάριο τοῦ πρότυπου διαλύματος καί μετροῦμε τήν ὀπτική πυκνότητα. Ἔτσι γράφομε μιά καμπύλη, μέ τήν ὁποία γίνεται ὁ ὑπολογισμός τῶν μονάδων.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: GOT = 10-40 μονάδες
GPT = 5-35 μονάδες

Ἐρωτήσεις.

1. Τί εἶναι τά ἔνζυμα καί ποιά ἀπό αὐτά γνωρίζετε;
2. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τῶν τρανσαμινασῶν;
3. Πῶς προσδιορίζεται ἡ ἀλκαλική φωσφατάση;
4. Πῶς προσδιορίζεται ἡ ὀξινη φωσφατάση;

4.10 Λευκώματα καί ἠλεκτροφόρηση λευκωμάτων.

4.10.1 Λευκώματα.

Τά λευκώματα τοῦ αἵματος εἶναι ἡ ***λευκωματίνη,*** οἱ ***σφαιρίνες*** καί τό ***ἰνοδωγόνο.*** Χρησιμεύουν στήν ἄμυνα τοῦ ὀργανισμοῦ, στήν πήξη τοῦ αἵματος, στή διατήρηση τῆς κολλοειδωσμωτικῆς πιέσεως μεταξύ αἵματος καί ἐξωκυττάριου ὑγροῦ καί στή μεταφορά διαφόρων οὐσιῶν. Τό ὁλικό ποσό τῶν λευκωμάτων εἶναι 6,3-8,5 g%. Τό ποσό τῆς λευκωματίνης εἶναι 3,7-5,1 g% καί τῶν σφαιρινῶν 2,4-3,5 g%. Ἡ σχέση λευκωματίνης πρός σφαιρίνες, πού καλεῖται ***λευκωματικό πηλίκο (Λ/Σ)*** εἶναι 1,5-2,5. Ὅταν ἐξετάζομε ὀρό, τότε τά λευκώματα εἶναι λευκωματίνη καί σφαιρίνες. Ἄν ἐξετάζομε πλάσμα, τότε τά λευκώματα τοῦ αἵματος εἶναι τά δύο προηγούμενα καί τό ἰνωδογόνο.

α) Προσδιορισμός ὁλικοῦ λευκώματος στόν ὀρό.

Μέθοδος ἐκλογῆς γιά τόν προσδιορισμό ὁλικοῦ λευκώματος στόν ὀρό, εἶναι ἡ μέθοδος ***διουρίας.*** Ὁ ὀρός πρέπει νά εἶναι πρόσφατος, διαυγής καί χωρίς αἱμόλυση. Σέ τρία σωληνάρια πού τά χαρακτηρίζομε ***Ε*** τό ἐξεταστέο, ***ST*** τό πρότυπο καί ***Τ*** τό τυφλό, τοποθετοῦμε τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια. Στό Ε σωληνάριο 0,2 ml ἐξεταστέο ὀρό, 2,8 ml νερό καί 5 ml ἀντιδραστήριο διουρίας. Στό ST σωληνάριο 3 ml πρότυπο ὀρό καί 5 ml ἀντιδραστήριο διουρίας. Στό τυφλό 3 ml νερό καί 5 ml ἀντιδραστήριο διουρίας. Θερμαίνομε καί τά τρία σωληνάρια σέ ὑδατόλουτρο μέ θερμοκρασία 37° C γιά 10 λεπτά καί στή συνέχεια φωτομετροῦμε μέ φίλτρο 530 nm ἕως 565 nm. Στή φωτομέτρηση μηδενίζομε μέ τό τυφλό καί σημειώνομε τήν ἔνδειξη τοῦ ST καί Ε σωληναρίου. Ὁ ὑπολογισμός γίνεται ὡς ἑξῆς:

$$\boxed{\frac{E}{ST} \times 6 = g\% \text{ ὁλικό λεύκωμα}}$$

β) Προσδιορισμός λευκωματίνης — σφαιρινῶν.

Γιά νά προσδιορίσομε στή συνέχεια τίς σφαιρίνες καί τή λευκωματίνη ἐκμεταλλευόμαστε τήν ἀρχή, ὅτι οἱ σφαιρίνες καθιζάνουν μέ θειϊκό νάτριο, ἐνῶ ἡ λευκωματίνη δέν καθιζάνει.

Σέ ἕνα σωληνάριο φυγοκέντρου τοποθετοῦμε 0,5 ml ὀρό καί προσθέτομε 5,5 ml θειϊκό νάτριο. Ἀνακατεύομε καί προσθέτομε 1 ml αἰθέρα. Πωματίζομε τό σωληνάριο καί τό ἀνακατεύομε μέ ἤπιες ἀναστροφές. Στή συνέχεια φυγοκεντροῦμε

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

10 λεπτά στίς 1500 στροφές καί οἱ σφαιρίνες σχηματίζουν ἴζημα καί καθιζάνουν. Τότε, μέ μιά πιπέττα πληρώσεως τῶν 3 ml, ἀναρροφοῦμε 3 ml ἀπό τό ὑπερκείμενο ὑγρό. Στό ὑγρό αὐτό προσδιορίζομε τό ποσό τοῦ λευκώματος μέ τή μέθοδο τῆς διουρίας. Τό ποσό πού θά βροῦμε εἶναι τό ποσό τῆς λευκωματίνης. Ἄν λοιπόν ἀφαιρέσομε τό ποσό τῆς λευκωματίνης, ἀπό τό ὁλικό ποσό τῶν λευκωμάτων βρίσκομε τό ποσό τῶν σφαιρινῶν.

Παράδειγμα.	Ὁλικό λεύκωμα	7,5 g%
	Λευκωματίνη	4,6 g%
	Σφαιρίνες	2,9 g%

$$\text{Λευκωματικό πηλίκο Λ/Σ} = \frac{4,6}{2,9} = 1,58$$

4.10.2 Ἠλεκτροφόρηση λευκωμάτων.

Ἄν τά λευκώματα τοῦ ὀροῦ βρεθοῦν σέ ἠλεκτρικό πεδίο, τότε θά μετακινηθοῦν, ἄλλα πρός τήν ἄνοδο καί ἄλλα πρός τήν κάθοδο. Ἡ μετακίνησή τους πρός τήν ἄνοδο ἤ τήν κάθοδο, ἐξαρτᾶται ἀπό τό ἠλεκτρικό τους φορτίο. Τό ἠλεκτρικό φορτίο τῶν λευκωμάτων εἶναι μία ἀπό τίς διαφορές πού παρουσιάζουν καί αὐτό μπορεῖ νά εἶναι θετικό ἤ ἀρνητικό, ἀνάλογα μέ τό ἄν ἐπικρατοῦν οἱ καρβοξυλικές ἤ ἀμινικές ὁμάδες στά μόριά τους.

Ἐπίσης στή μετακίνηση τῶν λευκωμάτων, ρόλο παίζει καί τό μοριακό τους βάρος, πού κάνει τά λευκώματα μέ μικρότερο μοριακό βάρος νά κινοῦνται γρηγορότερα. Ἔτσι, ἄν τά λευκώματα τοῦ ὀροῦ βρεθοῦν σέ ἕνα ἠλεκτρικό πεδίο, πού τό pH τοῦ διαλύματός του εἶναι ἀλκαλικό, π.χ. 8,6, τότε ὅλα τά λευκώματα θά μετακινηθοῦν πρός τήν ἄνοδο, ἀλλά μέ διαφορετική ταχύτητα. Τά πιό ἀρνητικά φορτισμένα καί μέ μικρότερο μοριακό βάρος (λευκωματίνη) θά κινηθοῦν γρηγορότερα, ἀπό τά θετικά φορτισμένα (σφαιρίνες).

Ἄς ὑποθέσομε ὅτι βάζομε στό ἕνα ἄκρο μιᾶς ταινίας διηθητικοῦ χαρτιοῦ μιά σταγόνα ὀροῦ καί ὅλη τήν ταινία τήν τοποθετοῦμαι στήν ἐπιφάνεια ἑνός ρυθμιστικοῦ διαλύματος μέ pH 8,6 καί ἀφήνομε νά περάσει ἠλεκτρικό ρεῦμα. Τότε τά λευκώματα τοῦ ὀροῦ θά ἀρχίσουν νά τρέχουν πρός τήν ἄνοδο, ἀλλά μέ διαφορετική ταχύτητα τό κάθε ἕνα.

Ἄν τώρα σέ κάποια στιγμή, προτοῦ ὅλα τά λευκώματα συσσωρευθοῦν στήν ἄνοδο, σταματήσομε τό ἠλεκτρικό ρεῦμα καί χρωματίσομε τήν ταινία μέ εἰδική χρωστική πού χρωματίζει τό λεύκωμα, θά δοῦμε νά ἐμφανίζονται στήν ταινία τοῦ χαρτιοῦ κάθετες παχιές γραμμώσεις, πού κάθε μία ἀντιστοιχεῖ σέ κάποιο διαφορετικό λεύκωμα.

Τό πάχος τῶν καθέτων αὐτῶν γραμμώσεων καί ἡ ἔνταση τοῦ χρώματος, ἐξαρτᾶται ἀπό τό ποσό τοῦ λευκώματος πού μαζεύτηκε ἐκεῖ. Μέ τόν τρόπο, πού ἀναφέραμε, διαχωρίζονται πέντε παχιές γραμμώσεις πού ἀντιστοιχοῦν κατά σειρά στά παρακάτω λευκώματα.

1) ***Λευκωματίνη,*** ἡ πιό παχιά καί ἡ πιό ἀπομακρυσμένη γράμμωση ἀπό τό σημεῖο πού τοποθετήσαμε τόν ὀρό.
2) ***α_1-σφαιρίνη***
3) ***α_2-σφαιρίνη***

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4) *β-σφαιρίνη*
5) *γ-σφαιρίνη,* ἡ πιό κοντινή γράμμωση ἀπό τό σημεῖο πού τοποθετήσαμε τόν ὀρό.

Ἡ ἐκτίμηση τῶν λευκωμάτων γίνεται ποιοτικά μέ ἁπλή παρατήρηση καί ποσοτικά ἄν μετατρέψομε τό διηθητικό χαρτί σέ διαφανές καί μέ κατάλληλο ὄργανο μετρήσομε τήν ὀπτική πυκνότητα κάθε γραμμώσεως.

4.10.3 Τεχνική ἠλεκτροφορήσεως.

Ἡ τεχνική τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἐξαρτᾶται ἀπό τή συσκευή, τό ὑπόστρωμα πού θά χρησιμοποιήσομε (χαρτί ἤ μεμβράνη) καί τόν τρόπο χρώσεως. Θά περιγράψομε μέθοδο, πού γίνεται σέ μεμβράνη ὀξικῆς κυτταρίνης, μέ κοινή συσκευή ἠλεκτροφορήσεως πού ἀποτελεῖται ἀπό μία λεκάνη μέ δύο ἐσωτερικά κανάλια, μία γέφυρα, πάνω στήν ὁποία θά τοποθετηθεῖ τεντωμένη ἡ μεμβράνη καί θέσεις γιά νά προσαρμόσομε τά καλώδια πού συνδέονται μέ μιά πηγή ρεύματος. Ἐπίσης στήν τεχνική θά χρησιμοποιήσομε ρυθμιστικό διάλυμα βερονάλης pH 8,6, χρωστική καί διάλυμα ἐκπλύσεως.

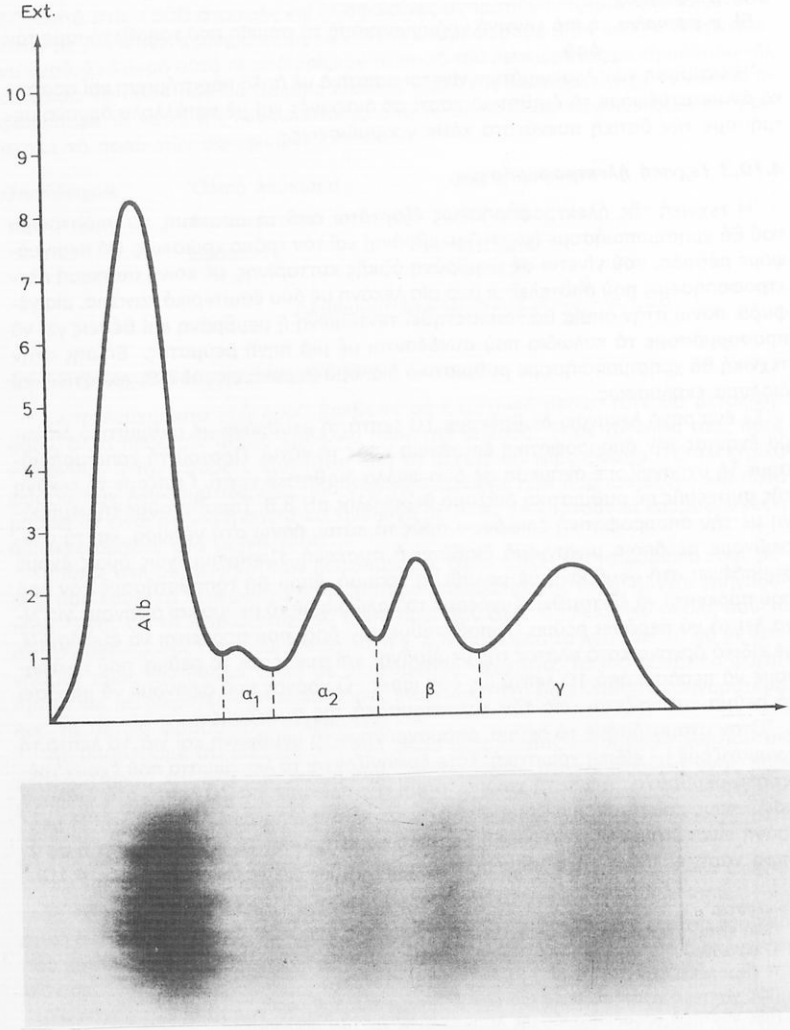
Σέ ἕνα ρηχό λεκανάκι διαβρέχομε 10 λεπτά τή μεμβράνη μέ ρυθμιστικό διάλυμα ἔχοντας τήν ἀπορροφητική ἐπιφάνεια πρός τά κάτω. Προτοῦ τή χρησιμοποιήσομε τή στραγγίζομε ἀνάμεσα σέ δύο φύλλα διηθητικό χαρτί. Γεμίζομε τή λεκάνη τῆς συσκευῆς μέ ρυθμιστικό διάλυμα βερονάλης pH 8,6. Τοποθετοῦμε τή μεμβράνη μέ τήν ἀπορροφητική ἐπιφάνεια πρός τά κάτω, πάνω στή γέφυρα, καί τή στερεώνομε μέ ὅποιο μηχανισμό διαθέτει ἡ συσκευή. Προηγουμένως ὅμως ἔχομε σημαδέψει στή μεμβράνη μέ μολύβι τή γραμμή, ὅπου θά τοποθετήσομε τόν ὀρό πού πρόκειται νά ἐξετασθεῖ. Συνδέομε τά καλώδια μέ τό ρεῦμα καί ἀφήνομε γιά λίγα λεπτά νά περάσει ρεῦμα. Τοποθετοῦμε τόν ὀρό, πού πρόκειται νά ἐξετάσομε, μέ εἰδικό ὄργανο κατά πλάτος τῆς μεμβράνης καί συνδέομε τό ρεῦμα, πού τό ἀφήνομε νά περάσει ἀπό 10 λεπτά ὥς δύο ὧρες. Ὁ χρόνος πού ἀφήνομε νά περάσει τό ρεῦμα καθορίζεται ἀπό τόν κατασκευαστή τῆς συσκευῆς.

Ὅταν σταματήσομε τό ρεῦμα, ἀπομακρύνομε τή μεμβράνη καί γιά 10 λεπτά τή χρωματίζομε μέ εἰδική χρωστική. Τότε ἐμφανίζονται τά λευκώματα πού ἔχουν τρέξει στή μεμβράνη. Ἀφοῦ τή χρωματίσομε τήν πλένομε γιά 20 λεπτά στό διάλυμα ἐκπλύσεως καί τή στραγγίζομε ἀνάμεσα σέ δύο φύλλα διηθητικό χαρτί. Ἡ μεμβράνη εἶναι ἕτοιμη γιά ἀνάγνωση μέ ἁπλή παρατήρηση. Σέ εἰδικό ἔντυπο ἤ σέ ἄσπρο χαρτί κολλᾶμε τή μεμβράνη καί σημειώνομε τυχόν ἀνωμαλίες (σχ. 4.10).

Ἐρωτήσεις.

1. Ποιά εἶναι ἡ τεχνική ἠλεκτροφορήσεως;
2. Τί θά κάνουν τά λευκώματα ἄν βρεθοῦν σέ ἠλεκτρικό πεδίο καί γιατί;
3. Τί εἶναι λευκωματικό πηλίκο;
4. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τοῦ ὁλικοῦ λευκώματος τοῦ ὀροῦ;
5. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τῆς λευκωματίνης καί τῶν σφαιρινῶν;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 4.10.
Πρωτεϊνόγραμμα καί γραφική παράσταση σάν καμπύλη, πού σέ ὕψος καί πλάτος ἀντιπροσωπεύει τό ποσό τοῦ κάθε κλάσματος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4.11 Ἠλεκτρολύτες.

4.11.1 Γενικά.

Μέσα στό πλάσμα τοῦ αἵματος βρίσκονται διαλυμένοι πολλοί ἀνόργανοι ἠλεκτρολύτες, ὅπως νάτριο, κάλιο, ἀσβέστιο, μαγνήσιο, χλώριο κλπ, μέ τό χλωριοῦχο νάτριο νά προεξάρχει. Οἱ περισσότεροι ὑπάρχουν σέ μορφή ἰόντων (κατιόντα, ἀνιόντα). Τό κυριότερο κατιόν τοῦ πλάσματος εἶναι τό νάτριο, ἐνῶ τό χλώριο ἀποτελεῖ τό κύριο ἀνιόν. Ἡ παρουσία τῶν ἠλεκτρολυτῶν μέσα στό πλάσμα (καί στό ὑγρό τῶν ἱστῶν) σέ σχετικά σταθερή πυκνότητα καί ὁρισμένη μεταξύ τους ἀναλογία, ἔχει σάν ἐπακόλουθο:

α) τή γένεση καί διατήρηση σταθερῆς φυσιολογικῆς ὡσμωτικῆς πιέσεως (ἰσοτονία).

β) τή διατήρηση τῆς ἰσοϊοντίας καί

γ) τή διατήρηση σταθερῆς ἀντιδράσεως τοῦ ἐξωκυττάριου ὑγροῦ.

4.11.2 Φλογοφωτόμετρο — Φλογοφωτομετρία.

Ἡ φωτοφλογομετρία εἶναι μιά σπουδαία μέθοδος προσδιορισμοῦ ὁρισμένων στοιχείων πού βρίσκονται στόν ὀρό, ὅπως τό νάτριο, κάλιο καί ἀσβέστιο. Ἡ ἀρχή της εἶναι ἁπλή. Ἄν ψεκάσομε ὑπό μορφή νέφους λεπτῶν σταγονιδίων, ἕνα διάλυμα μιᾶς οὐσίας μέσα σέ ἰσχυρή καί ἄχρωμη φλόγα, τότε μερικά ἄτομα τῆς οὐσίας αὐτῆς θά καοῦν καί θά ἀρχίσουν νά ἐκπέμπουν ἔγχρωμη φλόγα. Ἡ ἔνταση τοῦ χρώματος τῆς φλόγας εἶναι ἀνάλογη μέ τή συγκέντρωση τῆς οὐσίας στό διάλυμα πού ψεκάσαμε. Μέ σύστημα φίλτρων ἤ πρισμάτων, τό φῶς πού παράγεται πέφτει σέ ἕνα φωτοκύτταρο πού τό μεταβάλλει σέ ἠλεκτρική ἐνέργεια καί μετριέται μέ ἕνα εὐαίσθητο γαλβανόμετρο, τό φωτόμετρο. Ἔτσι τήν περιεκτικότητα τῆς οὐσίας πού ψεκάσαμε, τή διαβάζομε σέ ὀπτική πυκνότητα.

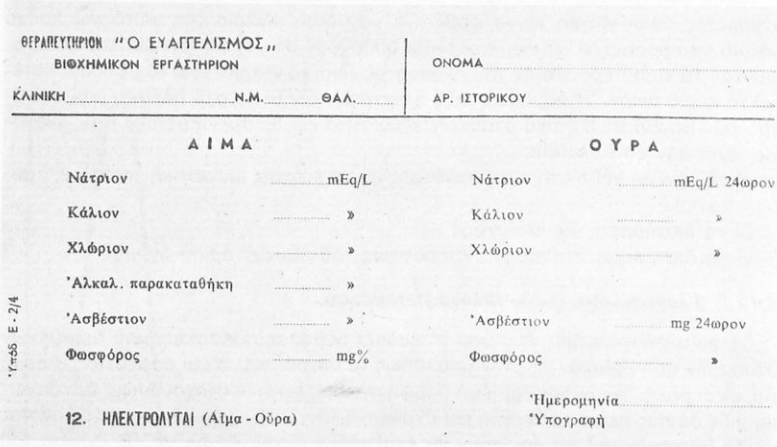
Ἄν ψεκάσομε ὀρό αἵματος καί θέλομε νά προσδιορίσομε μία οὐσία του, εἶναι φυσικό ὅτι καί ἄλλες οὐσίες τοῦ ὀροῦ, ἐκτός ἀπό τήν οὐσία πού μᾶς ἐνδιαφέρει, θά καοῦν καί θά ἐκπέμψουν χρωματιστό φῶς, πού θά εἶναι διαφορετικοῦ μήκους κύματος. Ἄν χρησιμοποιήσομε διάφορα μονοχρωματικά φίλτρα, πού ἐπιτρέπουν τή διέλευση φωτός ὁρισμένου μόνο μήκους κύματος, τότε ἐξουδετερώνομε τήν παρεμβολή ἄλλων οὐσιῶν. Τέτοιες παρεμβολές δημιουργοῦν τά ἄτομα νατρίου, πού αὐξάνουν τήν ἀκτινοβολία τῶν ἀτόμων καλίου καί τά φωσφορικά πού μειώνουν τήν ἀκτινοβολία τοῦ ἀσβεστίου.

Ἡ λειτουργία τοῦ φλογοφωτόμετρου εἶναι ἁπλή καί πρέπει νά τηροῦνται οἱ ὁδηγίες τοῦ κατασκευαστῆ. Τό πρῶτο βῆμα τοῦ προσδιορισμοῦ εἶναι ἡ κατάλληλη ἀραίωση τοῦ ὀροῦ. Μετά συνδέομε τό φλογοφωτόμετρο μέ τό ἠλεκτρικό ρεῦμα καί τό ἀφήνομε νά ζεσταθεῖ 15 λεπτά. Ἀνοίγομε τή στρόφιγγα τοῦ γκαζιοῦ, ἀνάβομε τή λυχνία καί ἀνοίγομε τή στρόφιγγα τοῦ ὀξυγόνου. Βάζομε τό κατάλληλο φίλτρο γιά τόν προσδιορισμό πού θέλομε νά κάνομε. Ρυθμίζομε τό δείκτη τοῦ γαλβανόμετρου στό μηδέν μέ τό πρότυπο διάλυμα. Τοποθετοῦμε τό ποτηράκι, πού ἔχει τόν ὀρό πού θέλομε νά ἐξετάσομε στό χῶρο καύσεως καί βυθίζομε τή βελόνα ψεκασμοῦ. Διαβάζομε στό γαλβανόμετρο τήν ἔνδειξη τῆς ἐξεταζόμενης οὐσίας.

Τά ἀντιδραστήρια τῆς φλογοφωτομετρίας εἶναι πολλά. Ἐκεῖνα ὅμως πού εἶναι βασικά εἶναι τά ***πρότυπα διαλύματα*** νατρίου, καλίου καί ἀσβεστίου καί οἱ ἀραιώ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

σεις μέ τούς συνδυασμούς τῶν ἀντιδραστηρίων αὐτῶν. Μέ τή φλογοφωτομετρική μέθοδο, ὄχι μόνο παίρνομε ἀκριβεῖς τιμές πού μποροῦμε νά τίς ἐπαναλάβομε, ἀλλά οἱ προσδιορισμοί γίνονται σέ ἐλάχιστο χρονικό διάστημα (σχ. 4.11).



ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ"
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. .....

ΟΝΟΜΑ .....

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

ΑΙΜΑ			ΟΥΡΑ		
Νάτριον	.....	mEq/L	Νάτριον	.....	mEq/L 24ωρον
Κάλιον	.....	»	Κάλιον	.....	»
Χλώριον	.....	»	Χλώριον	.....	»
Ἀλκαλ. παρακαταθήκη	.....	»			
Ἀσβέστιον	.....	»	Ἀσβέστιον	.....	mg 24ωρον
Φωσφόρος	.....	mg%	Φωσφόρος	.....	»

Ἡμερομηνία .....
Ὑπογραφή

12. ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΤΑΙ (Αἷμα - Οὖρα)

Ὑπτ56 Ε - 2/4

Σχ. 4.11.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως προσδιορισμοῦ ἠλεκτρολυτῶν στά οὖρα καί τό αἷμα.

4.11.3 Προσδιορισμός νατρίου καί καλίου.

Γιά τόν προσδιορισμό τοῦ νατρίου καί τοῦ καλίου χρησιμοποιοῦνται τά ἴδια ἀντιδραστήρια καί ἀλλάζουν, τό φίλτρο, ἡ ρύθμιση τοῦ δείκτη στό γαλβανόμετρο καί ὁ τρόπος ὑπολογισμοῦ ἀπό τήν ἔνδειξη τοῦ γαλβανόμετρου. Χρησιμοποιοῦμε ὀρό, πού ἀποχωρίζεται γρήγορα μετά τήν πήξη τοῦ αἵματος. Κάνομε ἀραίωση τοῦ ὀροῦ 1 πρός 100. Σέ σωληνάριο φυγοκέντρου βάζομε 2 ml ἀπορρυπαντική οὐσία Sterox 0,02% καί μέ πιπέττα προσθέτομε 0,02 ml ὀρό. Μέ τήν πιπέττα καθαρή ἀνακατεύομε καλά. Βάζομε σέ λειτουργία τό φλογοφωτόμετρο καί τό συνδέομε μέ τό γαλβανόμετρο. Ἀνάλογα μέ τήν ἐξέταση πού θά κάνομε, τοποθετοῦμε τό κατάλληλο φίλτρο, δηλαδή τό φίλτρο νατρίου ἤ τό φίλτρο καλίου. Ρυθμίζομε τό δείκτη τοῦ γαλβανόμετρου στό 0. Σέ ἕνα ποτηράκι τοῦ φλογοφωτόμετρου βάζομε κατά τά 4/5 περίπου πρότυπο διάλυμα ἀντιδραστηρίου νατρίου-καλίου. Τοποθετοῦμε τό ποτηράκι στόν ὑποδοχέα τοῦ φλογοφωτόμετρου ὅπου ὑπάρχει ἡ βελόνα. Ρυθμίζομε τό δείκτη τοῦ γαλβανόμετρου στήν κατάλληλη ἔνδειξη γιά τό κάλιο ἤ νάτριο. Ὅταν ρυθμίζομε τό δείκτη τοῦ γαλβανόμετρου, τοποθετοῦμε ἕνα ποτηράκι μέ τήν ἀραίωση τοῦ ἐξεταστέου ὀροῦ στόν ὑποδοχέα καί διαβάζομε τήν ἔνδειξη τῆς ὀπτικῆς πυκνότητας.

Γιά νά βροῦμε τήν τιμή τοῦ νατρίου σέ mE/*l*, ἀνατρέχομε σέ εἰδικό πίνακα, καί παίρνομε ἀπό τίς ἐνδείξεις τοῦ γαλβανόμετρου τήν τιμή τοῦ νατρίου πού ἰσοδυνα-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.11.1.

Φυσιολογικές τιμές ὁρισμένων συστατικῶν τοῦ αἵματος

1. Οὐρία*		25-45 mg%
2. Σάκχαρο*		80-120 mg% (ἀναγωγική μέθοδος)
3. Κρεατίνη		60-90 mg% (ἐνζυμική μέθοδος) Δέν ὑπάρχει φυσιολογικά στό αἷμα
4. Κρεατινίνη*		0,7-1,5 mg%
5. Οὐρικό ὀξύ		3-5,5 mg%
6. Χολερυθρίνη		
	ὁλική	0,5-1 mg%
	ἄμεση	0,1-0,4 mg%
	ἔμμεση	0,2-0,7 mg%
7. Χοληστερίνη:		
	ὁλική	150-280 mg%
	ἐλεύθερη	50-100 mg%
	ἐστεροποιημένη	100-180 mg%
8. Λιπίδια ὁλικά*		450-850 mg%
9. Κλάσματα λιπιδίων:		
	Φωσφολιπίδια	60-350 mg%
	Χοληστερίνη	150-280 mg%
	Τριγλυκερίδια	50-160 mg%
10. Ἰνωδογόνο*		200-350 mg%
11. Λευκώματα	ὁλικά	6-8 g%
	Λευκωματίνη	3,5-5,2 g%
	Σφαιρίνη	1,5-3,4 g%
Σχέση	Λευκωματίνη / Σφαιρίνη	1,2-2,5 / 1
ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ		
Λευκωματίνη		45-55% τοῦ ὁλικοῦ
α_1 σφαιρίνη		5-8% τοῦ ὁλικοῦ
α_2 σφαιρίνη		8-12% τοῦ ὁλικοῦ
β σφαιρίνη		10-16% τοῦ ὁλικοῦ
γ σφαιρίνη		15-22% τοῦ ὁλικοῦ
12. Κάλιο (K)		15-20 mg% ἤ 3,8 - 5,3 mg/λίτρο (mEq/*l*)
13. Νάτριο (Na)		315-340 mg% ἤ 130 - 145 mg/λίτρο (mEq/*l*)
14. Χαλκός (Cu)		10-160 μg%
15. Ἀσβέστιο (Ca)		9-11 mg% ἤ 4,5 - 5,5 mEq/λίτρο
16. Φωσφόρος (P)		2-4,5 mg%, ἐνήλικες καί 4 - 7 mg%, παιδιά
17. Μαγνήσιο		1,8-3,0 mg% ἤ 1,5 - 2,5 mEq/λίτρο
18. Σίδηρος (Fe)		80-170 μg%
19. Χλώριο (Cl) ἰόντα		350-270 mg%
20. Χλωριοῦχα, ὅπως Na		570-620 mg% ἤ 98-105 mg/λίτρο

Στίς ἐξετάσεις πού εἶναι σημειωμένες μέ ἀστερίσκο (*) ἡ λήψη τοῦ αἵματος γίνεται μέ ἀντιπηκτικό.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

μει σέ mEq/*l*. Γιά νά βροῦμε τήν τιμή τοῦ καλίου σέ mEq/*l*, δέν χρειάζεται νά ἀνατρέξομε σέ πίνακα, γιατί ἡ ἔνδειξη τοῦ γαλβανόμετρου ἀντιστοιχεῖ στήν τιμή καλίου σέ mEq/*l*.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: νάτριο 136-148 mEq/*l*, καί κάλιο 3,7-5,3 mEq/*l*.

4.11.4 Προσδιορισμός χλωρίου.

Σέ δύο σωληνάρια, πού τά χαρακτηρίζομε ***E*** καί ***ST*** προσθέτομε τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια. Στό E προσθέτομε 0,9 ml νερό, 0,1 ml ὀρό καί 1 σταγόνα βενζοϊκό ὀξύ. Στό ST σωληνάριο προσθέτομε 0,9 ml νερό, 0,1 ml πρότυπο διάλυμα NaCl καί 1 σταγόνα βενζοϊκό ὀξύ.

Μέ μιά πιπέττα τῶν 2 ml, ρίχνομε στό E σωληνάριο σταγόνες ἀπό τό διάλυμα 0,005 M νιτρικοῦ ὑδραργύρου. Ἡ ἀντίδραση σταματᾶ μόλις ἡ τελευταία σταγόνα προκαλέσει μεταβολή στό χρῶμα ἀπό πορτοκαλί σέ ρόζ. Τότε σημειώνομε τό ποσό τοῦ διαλύματος νιτρικοῦ ὑδραργύρου πού καταναλώθηκε γιά τό E σωληνάριο. Τά ἴδια ἐπαναλαμβάνομε καί στό ST σωληνάριο καί σημειώνομε τό ποσό νιτρικοῦ ὑδραργύρου πού καταναλώθηκε. Ὁ ὑπολογισμός γίνεται μέ τόν τύπο:

$$\frac{\text{E (ml νιτρικοῦ ὑδραργύρου)}}{\text{ST (ml νιτρικοῦ ὑδραργύρου)}} \times 100 = \text{mg \% χλώριο}$$

$$\frac{\text{E (ml νιτρικοῦ ὑδραργύρου)}}{\text{ST (ml νιτρικοῦ ὑδραργύρου)}} \times 335 = \text{mEq/}l\text{ χλώριο}$$

4.11.5 Προσδιορισμός ἀσβεστίου.

Ἡ μέθοδος ἐκλογῆς γιά τόν προσδιορισμό τοῦ ἀσβεστίου στό ὀρό, εἶναι ἡ φλογοφωτομετρική. Σέ σωληνάριο φυγοκέντρου βάζομε 2,4 ml διάλυμα Sterox 0,02% καί προσθέτομε 0,1 ml ὀρό. Βάζομε σέ λειτουργία τό φλογοφωτόμετρο καί τό συνδέομε μέ τό γαλβανόμετρο. Τοποθετοῦμε τό φίλτρο ἀσβεστίου, καί σέ ἕνα ποτηράκι βάζομε ἀντιδραστήριο τοῦ νατρίου 6 mEq/*l*, πού τοποθετοῦμε στόν ὑποδοχέα τοῦ φλογοφωτόμετρου. Ρυθμίζομε τό δείκτη τοῦ γαλβανόμετρου στό 0. Στή συνέχεια τοποθετοῦμε ἕνα ποτηράκι μέ πρότυπο διάλυμα ἀσβεστίου καί νατρίου καί ρυθμίζομε τήν κατάλληλη ἔνδειξη γιά τό ἀσβέστιο. Τό ὄργανο εἶναι ἕτοιμο νά μετρήσει τό ἀσβέστιο τοῦ ὀροῦ. Τοποθετοῦμε στόν ὑποδοχέα ἕνα ποτηράκι μέ τήν ἀραίωση τοῦ ὀροῦ καί διαβάζομε τήν ἔνδειξη τῆς ὀπτικῆς πυκνότητας. Ὁ ὑπολογισμός γίνεται ἄν πολλαπλασιάσομε τήν ἔνδειξη τοῦ γαλβανόμετρου μέ τό 2. Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζει τό ποσό τοῦ ἀσβεστίου σέ mg%.

Ἐρωτήσεις.

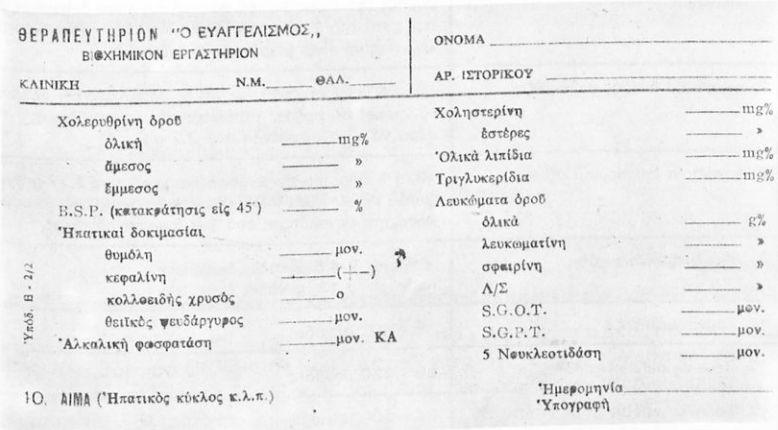
1. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή τῆς φλογοφωτομετρίας;
2. Πῶς λειτουργεῖ σέ γενικές γραμμές τό φλογοφωτόμετρο;
3. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός νατρίου-καλίου;
4. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός ἀσβεστίου;
5. Σέ τί διαφέρει ὁ προσδιορισμός νατρίου ἀπό τόν προσδιορισμό καλίου;
6. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός χλωρίου;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

4.12 Δοκιμασίες ἐλέγχου τῆς ἡπατικῆς λειτουργίας.

Τό ἧπαρ μέ τίς λειτουργίες πού ἐπιτελεῖ συμμετέχει στό μεταβολισμό ὑδατανθράκων, πρωτεϊνῶν, λιπῶν καί ὁρμονῶν. Ἐκκρίνει διάφορες χρωστικές, συμβάλλει στήν πήξη τοῦ αἵματος καί ἀσκεῖ «ἀντιτοξική» ἐνέργεια, γιατί ἐξουδετερώνει διάφορες τοξικές οὐσίες. Ἐπίσης παράγει ἔνζυμα, ἀποταμιεύει οὐσίες καί χρησιμεύει ὡς ἀποθήκη φλεβικοῦ αἵματος (σχ. 4.12). Γιά τόν ἔλεγχο τῆς λειτουργικότητας τοῦ ἥπατος, ὑπάρχουν πολλές ἐργαστηριακές ἐξετάσεις πού μποροῦμε νά τίς κατατάξομε ὡς ἑξῆς:

1) Δοκιμασίες κροκυδώσεως καί θολερότητας.
2) Δοκιμασίες πού στηρίζονται στήν ἔκκριση χρωστικῶν.
3) Δοκιμασίες πού στηρίζονται στή μεταβολική λειτουργία τοῦ ἥπατος.
4) Δοκιμασίες πού στηρίζονται στήν ἀντιτοξική ἱκανότητα τοῦ ἥπατος.
5) Δοκιμασίες γιά τόν προσδιορισμό ἐνζύμων.



ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ _____ Ν.Μ. _____ ΘΑΛ. _____

ΟΝΟΜΑ _____

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ _____

Χολερυθρίνη ὁροῦ		Χοληστερίνη	____ mg%
ὁλική	____ mg%	ἐστέρες	____ »
ἄμεσος	____ »	Ὁλικά λιπίδια	____ mg%
ἔμμεσος	____ »	Τριγλυκερίδια	____ mg%
B.S.P. (κατακράτησις εἰς 45')	____ %	Λευκώματα ὁροῦ	
Ἡπατικαί δοκιμασίαι		ὁλικά	____ g%
θυμόλη	____ μον.	λευκωματίνη	____ »
κεφαλίνη	____ (+–)	σφαιρίνη	____ »
κολλοειδής χρυσός	____ ο	Α/Σ	____ »
θειϊκός ψευδάργυρος	____ μον.	S.G.O.T.	____ μον.
Ἀλκαλική φωσφατάση	____ μον. ΚΑ	S.G.P.T.	____ μον.
		5 Νουκλεοτιδάση	____ μον.

ΙΟ. ΑΙΜΑ (Ἡπατικός κύκλος κ.λ.π.)

Ἡμερομηνία _____
Ὑπογραφή

Ὑπόδ. Β - 2/2

Σχ. 4.12.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως βιοχημικῶν ἐξετάσεων τοῦ ἡπατικοῦ κύκλου.

Ἀπό τίς δοκιμασίες αὐτές, πολλές ἀναφέρονται σέ ἄλλα κεφάλαια τοῦ βιβλίου. Στή συνέχεια θά περιγράψομε τήν πρώτη καί δεύτερη ὁμάδα δοκιμασιῶν (πίνακας 4.12.1).

4.12.1 Δοκιμασίες κροκυδώσεως καί θολερότητας.

Οἱ διάφορες δοκιμασίες κροκυδώσεως καί θολερότητας ἐξαρτῶνται ἀπό τίς ἀλλοιώσεις τῶν πρωτεϊνῶν τοῦ πλάσματος καί συγκεκριμένα ἀπό τήν ἐλάττωση τῶν λευκωματινῶν καί τήν αὔξηση τῶν σφαιρινῶν. Στήν καθημερινή πράξη, οἱ δοκιμασίες αὐτές ὀνομάζονται συνήθως ***ἡπατικές δοκιμασίες.*** Αὐτό εἶναι λάθος, ἀλλά ἔχει ἐπικρατήσει. Οἱ δοκιμασίες αὐτές εἶναι πέντε.

1) Δοκιμασία κροκυδώσεως κεφαλίνης-χοληστερίνης.
2) Δοκιμασία θολερότητας καί κροκυδώσεως θυμόλης.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.12.1

Φυσιολογικές τιμές τῶν λειτουργικῶν δοκιμασιῶν τοῦ ἥπατος

ΕΞΕΤΑΣΗ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
1. Δοκιμασία κροκυδώσεως κεφαλίνης-χοληστερίνης	0 ἢ + ἢ + + μετά 48 ὧρες
2. Δοκιμασία θολερότητας θυμόλης	0 - 4 μονάδες (Maclagan)
3. Δοκιμασία κροκυδώσεως θυμόλης	0 ἢ +
4. Δοκιμασία θολερότητας θειϊκοῦ Zn	0 - 12 μονάδες
5. Δοκιμασία κολλοειδοῦς χρυσοῦ	+++ ἢ ++++ στό πρῶτο σωληνάριο (προοδευτικά ἐλαττώνεται στά ὑπόλοιπα).
6. Δοκιμασία βρωμοσουλφονοφθαλεΐνης (B.S.P.)	Μετά ἀπό ἐνδοφλέβια ἔγχυση 5 mg οὐσίας γιά κάθε kg βάρους τοῦ σώματος τοῦ ἀσθενῆ καί λήψη δείγματος ὁροῦ μετά ἀπό 1 ὥρα ἀπό τήν ἔγχυση, θά πρέπει ἡ κατακράτηση νά εἶναι μικρότερη ἀπό 5%.
7. Δοκιμασία ἀνοχῆς γαλακτόζης	Μετά 5 ὧρες ἀπό τή λήψη 40 g γαλακτόζης per-os (ἀπό τό στόμα) θά πρέπει ἡ ἀποβολή τῆς γαλακτόζης ἀπό τά οὖρα νά εἶναι μικρότερη ἀπό 2,5 g.
8. Δοκιμασία ἱππουρικοῦ ὀξέος	Μετά 1 ὥρα ἀπό τήν ἐνδοφλέβια χορήγηση 1,77 g βενζοϊκοῦ νατρίου, θά πρέπει νά ἀποβάλλεται ἀπό τά οὖρα ποσότητα μεγαλύτερη ἀπό 1 g ἱππουρικοῦ ὀξέος.
9. Ἀλκαλική φωσφατάση	Ἐνήλικες 2-4,5 μονάδες Bodansky παιδιά 3-13 μονάδες Bodansky
10. Τρανσαμινάσες	5 - 40 μονάδες
11. Λευκίνη ἀμινοπεπτιδάση	80 - 220 μονάδες
12. Χοληνεστεράση	55 - 100 μονάδες
13. Ἀφυδρογονάση γαλακτική	50 - 180 μονάδες
14. Ἀφυδρογονάση ἰσοκιτρική	50 - 180 μονάδες

3) Δοκιμασία θολερότητας θειϊκοῦ ψευδαργύρου.
4) Δοκιμασία Takata-Ara.
5) Δοκιμασία κολλοειδοῦς χρυσοῦ.

Ἀπό τίς δοκιμασίες κροκυδώσεως καί θολερότητας θά περιγράψομε τίς τρεῖς πρῶτες.

4.12.2 Δοκιμασία κροκυδώσεως κεφαλίνης-χοληστερίνης ἤ δοκιμασία Hanger.

Ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας αὐτῆς στηρίζεται στό γεγονός, ὅτι ὁ ὁρός αἵματος ἡπατοπαθοῦς προκαλεῖ κροκύδωση τοῦ γαλακτώματος κεφαλίνης-χοληστερίνης. Ὁ ὁ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ρός πρέπει νά εἶναι νωπός καί τό ἀντιδραστήριο κεφαλίνης-χοληστερίνης ὑπάρχει σάν πυκνό γαλάκτωμα στό ἐμπόριο, ἀπό τό ὁποῖο παρασκευάζομε τό γαλάκτωμα πού χρησιμοποιοῦμε στή δοκιμασία.

Ἡ δοκιμασία γίνεται σέ ἕνα σωληνάριο μέσα στό ὁποῖο τοποθετοῦμε τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια: 1 ml ἀντιδραστήριο κεφαλίνης-χοληστερίνης, 4 ml ἰσότονο διάλυμα NaCl καί 0,2 ml ὀρό. Ἀνακατεύομε, πωματίζομε τό σωληνάριο καί τό ἀφήνομε σέ κάθετη θέση μέσα σέ σκοτεινό συρτάρι 24-48 ὧρες.

Ὁ ὀρός ἀνθρώπου χωρίς ἡπατοπάθεια, δέν θά προκαλέσει καμμιά μεταβολή στό γαλάκτωμα. Ἐνῶ, ἀντίθετα, ὁ ὀρός ἀνθρώπου μέ ἡπατοπάθεια θά προκαλέσει κροκύδωση τοῦ ἀντιδραστηρίου καί δημιουργία ἰζήματος. Ἄν δημιουργηθεῖ ἴζημα ἡ δοκιμασία θεωρεῖται θετική καί ἐκφράζεται μέ σταυρούς ἀνάλογα μέ τό ποσό τοῦ ἰζήματος.

Παράδειγμα.

Ἀμετάβλητο γαλάκτωμα	= 0
Ἐλάχιστο ἴζημα	= +
Ἀρκετό ἴζημα	= + +
Πολύ ἴζημα	= + + +
Τέλεια κροκύδωση	= + + + +

Ἡ φυσιολογική τιμή κυμαίνεται ἀπό 0-1 σταυρός.

4.12.3 Δοκιμασία θολερότητας καί κροκυδώσεως θυμόλης ἤ δοκιμασία Maclagan.

Ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας αὐτῆς στηρίζεται στό γεγονός ὅτι ὁ ὀρός ἡπατοπαθοῦς προκαλεῖ θόλωση διαλύματος θυμόλης πού καταλήγει σέ κροκύδωση καί καθίζηση ἑνός συμπλέγματος θυμόλης, γ-σφαιρίνης, β-σφαιρίνης καί φωσφολιπιδίων. Ἡ ἔνταση τῆς θολερότητας καί τῆς κροκυδώσεως ἐξαρτᾶται ἀπό τήν ἐλάττωση τῆς λευκωματίνης καί τήν αὔξηση τῶν σφαιρινῶν. Γιά τή δοκιμή θολερότητας χρησιμοποιεῖται πρόσφατος καί διαυγής ὀρός. Τό ἀντιδραστήριο θυμόλης ὑπάρχει στό ἐμπόριο.

Παίρνομε δύο σωληνάρια καί τά χαρακτηρίζομε ***Ε*** καί ***Τ.*** Στό Ε σωληνάριο τοποθετοῦμε 0,1 ml ὀρό καί 0,5 ml ἀντιδραστήριο θυμόλης. Στό Τ σωληνάριο τοποθετοῦμε 0,1 ml ὀρό καί 0,5 ml ἰσότονο NaCl. Ἀνακατεύομε καί ἀφήνομε 30 λεπτά τά δύο σωληνάρια στή θερμοκρασία δωματίου. Μηδενίζομε μέ τό ἀντιδραστήριο θυμόλης καί φωτομετροῦμε πρῶτα τό Τ σωληνάριο καί στή συνέχεια τό Ε, σέ μῆκος κύματος 578 nm.

Ἀπό τήν ἔνδειξη τοῦ Ε σωληναρίου, ἀφαιροῦμε τήν ἔνδειξη τοῦ Τ σωληναρίου καί διαβάζομε πάνω σέ μιά καμπύλη τήν ἔνταση τῆς θολερότητας σέ μονάδες Maclagan ἀπό 0-10. Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι 2-3 μονάδες Maclagan. Ἡ ἐκτίμηση τῆς δοκιμασίας μπορεῖ νά γίνει τελείως ἐμπειρικά μέ τό μάτι. Στήν περίπτωση αὐτή ἐκτιμοῦμε τή θολερότητα ὡς ἑξῆς:

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Διάλυμα διαυγές	= 0
Ἐλάχιστη θολερότητα	= +
Θολερότητα διαφανής	= + +
Θολερότητα ἀδιαφανής	= + + +
Θολερότητα σάν γάλα	= + + + +

Γιά τή δοκιμασία κροκυδώσεως, μετά τήν μέτρηση τῆς θολερότητας, ἀφήνομε τό σωληνάριο μέ τόν ὀρό πωματισμένο σέ ἕνα συρτάρι γιά 24 ὧρες καί μετά διαβάζομε τήν κροκύδωση ὡς ἑξῆς:

Χωρίς ἴζημα	= 0
Ἐλάχιστο ἴζημα	= +
Πολύ λίγο ἴζημα	= + +
Ἀρκετό ἴζημα	= + + +
Παχύ κροκυδῶδες ἴζημα	= + + + +

Φυσιολογική τιμή 0-1 σταυρός.

Ἀρκετοί τή θολερότητα καί τήν κροκύδωση τήν ἐκφράζουν μέ λατινικούς ἀριθμούς, I, II, III καί IV πού ἀντιστοιχοῦν στούς σταυρούς.

4.12.4 Δοκιμασία θολερότητας θειϊκοῦ ψευδαργύρου ἤ δοκιμασία Kunkel.

Ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας αὐτῆς εἶναι ὅτι ὁ ὁρός αἵματος μέ μεγάλη αὔξηση τῶν γ-σφαιρινῶν προκαλεῖ θολερότητα σέ διάλυμα θειϊκοῦ ψευδαργύρου. Χρησιμοποιοῦμε ὁρό πρόσφατο καί διαυγή. Σέ ἕνα δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετοῦμε 0,1 ml ὁρό καί 6 ml ἀντιδραστήριο θειϊκοῦ ψευδαργύρου. Ἀνακατεύομε καί ἀφήνομε τό σωλήνα 30 λεπτά σέ θερμοκρασία δωματίου. Ἄν σχηματισθεῖ θολερότητα τή συγκρίνομε μέ τίς θολερότητες μιᾶς θολομετρικῆς κλίμακας πού ὑπάρχει στό ἐργαστήριο. Φυσιολογικές τιμές 2-8 μονάδες. Ἡ δοκιμασία μπορεῖ νά διαβασθεῖ καί σάν κροκύδωση τήν ἑπομένη καί νά ἐκφρασθεῖ σέ σταυρούς ἀπό 0 ἕως 4, ἀνάλογα μέ τό ἴζημα.

4.12.5 Δοκιμασία βρωμοσουλφονοφθαλεΐνης στόν ὀρό ἤ δοκιμασία B.S.P.

Τό ἧπαρ ἔχει τήν ἱκανότητα νά ἀπομακρύνει κάθε τοξική οὐσία πού θά εἰσέλθει στόν ὀργανισμό ἤ θά παραχθεῖ ἀπό τό μεταβολισμό. Ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας αὐτῆς στηρίζεται στήν παραπάνω ἱκανότητα. Χορηγοῦμε ἐνδοφλεβίως τή χρωστική βρωμοσουλφονοφθαλεΐνη (B.S.P.) καί μετά 45 λεπτά προσδιορίζομε τό ποσό πού ὑπάρχει στόν ὀρό. Ὅταν ὁ ἐξεταζόμενος εἶναι φυσιολογικός, τό ποσό τῆς χρωστικῆς, πού θά βροῦμε στό αἷμα μετά 45 λεπτά εἶναι περίπου 4% αὐτῆς.

Ἡ δοκιμασία γίνεται ὡς ἑξῆς: Ὁ ἐξεταζόμενος πρέπει νά εἶναι νηστικός καί νά ζυγισθεῖ πρίν χορηγήσομε τή χρωστική. Τό ποσό τῆς χρωστικῆς πού θά χορηγήσομε ἐξαρτᾶται ἀπό τό βάρος τοῦ ἐξεταζόμενου καί εἶναι 5 mg κατά kg βάρους. Πρίν χορηγήσομε τή χρωστική παίρνομε τό πρῶτο αἷμα, χωρίς ἀντιπηκτικό σέ ποσότητα 3 ml. Τό αἷμα αὐτό τοποθετεῖται σέ σωληνάριο πού χαρακτηρίζεται ***T.*** Στή συνέχεια χορηγοῦμε τή χρωστική σέ ποσότητα πού ὑπολογίσαμε ἀνάλογα μέ τό βάρος.

Μετά ἀπό 45 λεπτά παίρνομε 5 ml αἷμα καί τό τοποθετοῦμε σέ σωληνάριο πού τό χαρακτηρίσαμε ***E.***

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Μετά τήν πήξη, ἀπομακρύνομε τόν ὀρό καί προσθέτομε στά δύο σωληνάρια Ε καί Τ [πού περιέχουν τό πρῶτο τόν ὀρό (0,5 ml), πού πήραμε μετά 45 λεπτά, καί τό δεύτερο τόν ὀρό (0,5 ml), πού πήραμε πρίν χορηγήσομε τή χρωστική] τά ἐξῆς ἀντιδραστήρια.

Στό Ε σωληνάριο 2,5 ml νερό καί 3 ml N/10 NaOH. Στό Τ σωληνάριο 2,5 ml νερό καί 3 ml N/10 HCl. Μηδενίζομε μέ τό Τ σωληνάριο καί φωτομετροῦμε σέ μῆκος κύματος 530 nm. Ἀπό τήν ἔνδειξη πού παίρνομε, μέ σύγκριση πάνω στήν καμπύλη τῆς B.S.P. πού ἔχει τό ἐργαστήριο, ὑπολογίζομε τό ποσό τῆς χρωστικῆς πού κατακρατήθηκε.

Ἐρωτήσεις.

1. Ποιές λειτουργίες κάνει τό ἧπαρ;
2. Μέ ποιές δοκιμασίες ἐλέγχομε τή λειτουργικότητα τοῦ ἥπατος;
3. Ποιές εἶναι οἱ δοκιμασίες θολερότητας καί κροκυδώσεως;
4. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας κροκυδώσεως κεφαλίνης-χοληστερίνης;
5. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός καί πῶς ἐκφράζεται τό ἀποτέλεσμα τῆς δοκιμασίας κροκυδώσεως κεφαλίνης-χοληστερίνης;
6. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας θολερότητας καί κροκυδώσεως θυμόλης;
7. Πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός καί πῶς ἐκφράζεται τό ἀποτέλεσμα τῆς δοκιμασίας θολερότητας καί κροκυδώσεως θυμόλης;
8. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή καί πῶς γίνεται ὁ προσδιορισμός τῆς δοκιμασίας θολερότητας θειϊκοῦ ψευδαργύρου;

4.13 Αὐτοαναλυτής.

Ἡ μεγάλη αὔξηση τῶν ἐξετάσεων πού πραγματοποιοῦνται καί ἡ ἀνάπτυξη καινούργιων, αὔξησε σημαντικά τόν ὄγκο ἐργασίας στά ἐργαστήρια. Ἔτσι προσπάθησαν νά ἀνεβάσουν τήν ἀπόδοση τῶν ἐργαστηρίων μέ τή χρησιμοποίηση τῶν ***αὐτόματων ἀναλυτῶν.*** Σέ ἐργαστήρια μέ μεγάλο ἀριθμό κοινῶν βιοχημικῶν ἐξετάσεων, οἱ αὐτοαναλυτές προσφέρουν σημαντική βοήθεια, χωρίς ὅμως ἀκόμα νά ἔχουν ἐκτοπίσει τή χειρωνακτική βιοχημεία. Ὑπάρχουν πολλοί τύποι αὐτοαναλυτῶν, πού ἀνάλογα μέ τήν ἀρχή τῆς λειτουργίας τους χωρίζονται σέ τρεῖς κατηγορίες.

1) Ἀναλυτές συνεχοῦς ροῆς (εἶναι οἱ πιό διαδεδομένοι).
2) Ἀναλυτές ἀσυνεχοῦς δειγματοληψίας.
3) Φυγοκεντρικοί ταχεῖς ἀναλυτές (πολύ λίγο διαδεδομένοι).

Μέ τούς αὐτόματους ἀναλυτές γίνεται καί οἰκονομία χρόνου, ἀφοῦ σέ μία ὥρα μποροῦν νά ἐξετασθοῦν 40-60 δείγματα ὑγρῶν (ὀρός, πλάσμα) γιά μιά ἤ περισσότερες βιοχημικές ἐξετάσεις, ταυτόχρονα, ἀνάλογα μέ τά ***κανάλια*** πού ἔχει ὁ ἀναλυτής (μονο-, δι-, τρι-, μέχρι καί δωδεκακάναλος). Ἕνα ἄλλο πλεονέκτημα τοῦ αὐτοαναλυτῆ εἶναι ὅτι δέν χρειάζεται μεγάλες ποσότητες ὑγρῶν γιά τίς ἐξετάσεις. Ἀρκοῦν τίς περισσότερες φορές 0,3 ml ὑγρό (ὀρός-πλάσμα) γιά νά γίνουν οἱ ἐξετάσεις. Κάθε ἀναλυτής βασικά ἀποτελεῖται ἀπό τά ἑξῆς μέρη:

α) Δειγματολήπτης
β) Ἀναλογική ἀντλία
γ) Διαπιδυτήρας
δ) Λουτρό θερμάνσεως
ε) Πλαστικοί σωλῆνες καί συνδέσεις σχήματος Η ἤ Τ.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

στ) Χρωματόμετρο καί καταγραφέας. Αὐτά σέ καινούργιους ἀναλυτές ἔχουν ἀντικατασταθεῖ ἀπό ἠλεκτρονικά φλογοφωτόμετρα καί ταινία, ὅπου ἀναγράφονται οἱ τιμές τῶν ἀποτελεσμάτων, μέ ἀπόλυτους ἀριθμούς καί ὄχι μέ σχηματική καμπύλη.

α) Δειγματολήπτης. Εἶναι τό τμῆμα τοῦ ἀναλυτῆ, ὅπου τοποθετοῦμε τά εἰδικά σωληνάρια μέ τά δείγματα. Στούς παλιότερους ἀναλυτές ὁ δειγματολήπτης ἦταν περιστροφικός δίσκος μέ ὑποδοχές γιά τά δείγματα, χωριστά ἀπό τά ὑπόλοιπα τμήματα τοῦ ὀργάνου. Στούς σύγχρονους εἶναι ἐνσωματωμένος, ὅπως ὅλα τά ὑπόλοιπα ἐξαρτήματα.

β) Ἀναλογική ἀντλία. Κινεῖται μέ ἐσωτερικό ἠλεκτρικό κινητήρα καί χρησιμεύει γιά τήν ἀναρρόφηση τῶν δειγμάτων πού θά ἐξετασθοῦν καί τῶν διαφόρων ἀντιδραστηρίων ἤ τῶν προτύπων δειγμάτων (standards) πού χρησιμεύουν γιά τή ρύθμιση τοῦ ὀργάνου ἤ τή σύγκρισή τους μέ τά δείγματα.

γ) Διαπιδυτήρας. Ἀποτελεῖται ἀπό ἕνα ζεῦγος ὅμοιων διαφανῶν πλαστικῶν δίσκων. Οἱ ἐπιφάνειες τῶν δίσκων, πού εἶναι ἡ μία ἀπέναντι στήν ἄλλη, ἔχουν ἀντίστοιχη σπειροειδή αὐλάκωση καί ὅταν ἐφάπτονται αὐτές οἱ ἐπιφάνειες, σχηματίζεται σπειροειδής σωλήνας. Μεταξύ τῶν δύο δίσκων παρεμβάλλεται μία μεμβράνη ἀπό κυτταρίνη καί ἔτσι δημιουργεῖται ἕνα συνεχές σπειροειδές σύστημα διαπιδύσεως. Γιά νά διατηροῦνται σταθερές οἱ συνθῆκες διαπιδύσεως, ὅλο αὐτό τό σύστημα εἶναι μέσα σέ ὑδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C.

δ) Λουτρό θερμάνσεως. Ἀπό αὐτό περνᾶ τό ρεῦμα τοῦ ἀντιδραστηρίου μέ τό ποσό τοῦ δείγματος, πού πέρασε ἀπό τόν διαπιδυτήρα, ἐφόσον χρειάζεται ἡ σταθερή θερμοκρασία του γιά τίς συγκεκριμένες βιοχημικές ἐξετάσεις.

ε) Πλαστικοί σωλῆνες καί συνδετῆρες σχήματος Τ καί Η. Χρησιμεύουν γιά τή μεταφορά τοῦ ἀέρα, τῶν δειγμάτων πού θά ἐξετασθοῦν, τῶν ἀντιδραστηρίων, πού πιθανόν θά χρειασθοῦν καί τῶν πρότυπων δειγμάτων.

στ) Χρωματόμετρο καί καταγραφέας. Εἶναι τό σύστημα πού θεωρεῖται ὁ ἐγκέφαλος τῆς συσκευῆς, ἀφοῦ σ' αὐτό γίνονται καί καταγράφονται οἱ μετρήσεις. Ἀποτελεῖται ἀπό μία φωτεινή πηγή, σύστημα κατόπτρων, εἰδικά ἀπορροφητικά κύτταρα καί εἰδικά φωτοστοιχεῖα. Στή συνέχεια εἶναι προσαρμοσμένο σ' αὐτό, τό σύστημα τοῦ καταγραφέα.

Ἡ ἀρχή τῆς λειτουργίας τοῦ ἀναλυτῆ βασίζεται στό ὅτι οἱ ἀντιδράσεις γίνονται μέσα σέ ἕνα ρεῦμα ὑγροῦ, πού συνέχεια ρέει. Μιά ἀντλία μέ πολλές διόδους, πού ἐργάζεται συνέχεια, ἀπορροφᾶ χωριστά ὁρισμένο ἀριθμό ἀντιδραστηρίων. Τά δείγματα πού πρόκειται νά ἐξετασθοῦν ἀναρροφοῦνται διαδοχικά μέσα σ' ἕνα ρεῦμα ὑγροῦ, περνοῦν μέσα ἀπό διάφορα τμήματα τῆς συσκευῆς καί καταλήγουν στό χρωματόμετρο, ἀφοῦ ὑποστοῦν τίς ἀπαραίτητες ἐπεξεργασίες. Ἀνάμεσα ἀπό τά δείγματα παρεμβάλλονται κατά διαστήματα καί κατάλληλα πρότυπα διαλύματα γιά νά γίνεται ἡ ἄμεση σύγκριση. Εἶναι ἀπαραίτητο, πρίν ἀρχίσουν οἱ μετρήσεις, νά γίνει συντονισμός ἤ ρύθμιση ἤ ἔλεγχος τῆς λειτουργίας του μέ τά εἰδικά πρότυπα διαλύματα, σύμφωνα μέ τίς ὁδηγίες τοῦ κατασκευαστῆ.

Περισσότερο ἀναλυτικά ἡ πορεία τῶν διαφόρων ὑγρῶν στή συσκευή εἶναι:

Τά δείγματα, πού πρόκειται νά ἐξετασθοῦν, τοποθετοῦνται στίς εἰδικές ὑποδοχές τοῦ δειγματολήπτη. Ἀπό ἐκεῖ γίνεται ἡ ἀναρρόφησή τους ἀπό τό σωλήνα δειγματοληψίας· ὡς ἀναρροφητήρας ἐνεργεῖ ἡ ἀντλία ἀναρροφήσεως πού εἶναι περισταλτικοῦ τύπου. Γιά νά μή γίνεται μόλυνση τοῦ ἑνός δείγματος ἀπό τό ἄλλο, παρεμβάλλεται μεταξύ τους φυσαλίδα ἀέρα. Στή συνέχεια τά δείγματα ὁδηγοῦνται σέ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ένα σύστημα σωλήνων πού χρησιμεύει γιά τήν ἀπολευκωματοποίησή τους διαπιδυτικά. Μερικοί σωλῆνες τῆς ἀντλίας ἀναρροφοῦν τά δείγματα, τά ἀραιώνουν καί τά διαβιβάζουν στή μία πλευρά τῆς μονάδας διαπιδύσεως. Ἄλλοι σωλῆνες διοχετεύουν ἕνα κατάλληλο ἀντιδραστήριο ἀπό τήν ἄλλη πλευρά τοῦ διαπιδυτήρα. Αὐτά τά δύο ρεύματα προχωροῦν παράλληλα καί χωρίζονται μόνο μέ μιά μεμβράνη ἀπό σελλοφάνη. Ἔτσι ἕνα ποσοστό τῶν συστατικῶν πού μποροῦν νά διαπιδύσουν μέσα ἀπό τή μεμβράνη, διέρχεται ἀπό αὐτή. Παραλαμβάνεται ἀπό τό ρεῦμα τοῦ ἀντιδραστηρίου τό ὁποῖο στή συνέχεια ὑφίσταται κατάλληλη κατεργασία, γιά τήν ἀνάπτυξη τοῦ χρώματος πού θα μετρηθεῖ. Δέν εἶναι ἀπαραίτητο ἡ διαπίδυση, ἡ ἀνάπτυξη τοῦ χρώματος ἤ ὅποια ἄλλη κατεργασία νά εἶναι πλήρης, ἀφοῦ τά δείγματα πού θά ἐξετασθοῦν καί τά πρότυπα διαλύματα πού θά χρησιμεύσουν γιά σύγκριση, ὑφίστανται τήν ἴδια σταθερή ἐπεξεργασία. Τό ρεῦμα τῶν ἀντιδραστηρίων πού ἔχει καί τά δείγματα, καθώς διέρχεται ἀπό τό διαπιδυτήρα, παρασύρει τά συστατικά πού διαπιδύουν ἀπό κάθε ἕνα δείγμα διαδοχικά. Γιά νά γίνεται πλήρης διαχωρισμός τῶν συστατικῶν τοῦ ἑνός δείγματος ἀπό τό ἄλλο, παρεμβάλλεται ἀνάμεσά τους καθαρό ἀντιδραστήριο. Ἐπίσης ὡς διαχωριστικό χρησιμεύουν καί οἱ φυσαλίδες ἀέρα πού εἰσέρχονται ἀπό μικρή τρύπα κατά ὁρισμένα διαστήματα μεταξύ τῶν δειγμάτων. Ὁ ἀέρας χρησιμεύει ἐπίσης καί γιά τόν καθαρισμό τῶν τοιχωμάτων τῶν σωλήνων, ἀπό τά ὑπολείμματα τῶν ὑγρῶν.

Γιά νά γίνουν καλύτερα οἱ ἐργασίες αὐτές, σέ κάθε σημεῖο τῆς διαδρομῆς πού γίνεται ἀνάμιξη χωριστῶν ρευμάτων, ἡ γραμμή περνάει ἀπό ὁριζόντια γυάλινη ἔλικα, ἔτσι ὥστε νά ἀναστρέφονται πολλές φορές τά διαχωρισμένα μικρά ποσά τῶν ὑγρῶν, πού μεταξύ τους παρεμβάλλεται ὁ ἀέρας. Στούς φυγοκεντρικούς ταχεῖς ἀναλυτές πού εἶναι λίγο διαδεδομένοι, ὑπάρχει ἕνας δίσκος μέ πολλές θέσεις πού ἔχουν τούς ὑπό ἐξέταση ὁρούς. Ὁ δίσκος αὐτός κινεῖται γρήγορα ἐμπρός ἀπό μιά ἀκίνητη φωτεινή πηγή. Ἡ ἀνάμιξη τῶν ἀντιδραστηρίων μέ τόν ὁρό γίνεται φυγοκεντρικά.

Στούς ἀναλυτές ἀσυνεχοῦς δειγματοληψίας γιά κάθε ἐξέταση ἀναρροφᾶται καί διαφορετική ποσότητα ὁροῦ καί οἱ διάφορες ἐξετάσεις κυκλοφοροῦν ἀπό τήν ἀρχή ὡς τό τέλος σέ διαφορετικά κανάλια τοῦ ὀργάνου. Μετά τήν ἀναρρόφηση τοῦ ὁροῦ γίνεται ἀπολευκωματοποίησή του μέ οὐσία (εἰδική γιά κάθε μέθοδο), πού καθιζάνει τίς πρωτεΐνες καί τό δεῖγμα, χωρίς πρωτεΐνες πιά, ἀκολουθεῖ τά διάφορα στάδια τῆς ἐξετάσεως.

Οἱ αὐτόματοι ἀναλυτές χρησιμοποιοῦνται σήμερα γιά τίς ἐξετάσεις: οὐρίας, οὐρικοῦ ὀξέος, κρεατινίνης ὁροῦ, κρεατίνης οὔρων, ὀλικῶν πρωτεϊνῶν πλάσματος, γλυκόζης, φωσφορικῶν ἀλάτων, διττανθακικῶν, χλωριούχων, καλίου καί νατρίου.

Ἐρωτήσεις.

1. Πόσα εἴδη αὐτοαναλυτῶν γνωρίζετε;
2. Ποιά εἶναι τά βασικά μέρη κάθε ἀναλυτῆ;
3. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή τῆς λειτουργίας τοῦ ἀναλυτῆ συνεχοῦς ροῆς;
4. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή τῆς λειτουργίας τοῦ ἀναλυτῆ ἀσυνεχοῦς δειγματοληψίας καί τῶν φυγοκεντρικῶν ταχέων ἀναλυτῶν;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΞΕΤΑΣΕΩΝ

5.1 Προετοιμασία τοῦ δείγματος.

Ἀνάλογα μέ τήν ἐξέταση, τό αἷμα λαμβάνεται μέ ἀντιπηκτικό ἤ χωρίς ἀντιπηκτικό. Ἄν χρεάζεται ὀρός, τότε λαμβάνεται αἷμα χωρίς ἀντιπηκτικό καί ἀφήνεται στή θερμοκρασία τοῦ ἐργαστηρίου 1-2 ὧρες γιά νά πήξει, ὁπότε στό κάτω μέρος τοῦ σωληναρίου παραμένει τό πῆγμα καί πάνω ἀπό αὐτό ὁ ὀρός.

Ἄν χρειαζόμαστε πλάσμα, τότε τό αἷμα λαμβάνεται μέ ἀντιπηκτικό καί φυγοκεντρεῖται, ὁπότε στό κάτω μέρος τοῦ σωληναρίου μαζεύονται τά ἐρυθρά καί πάνω ἀπό αὐτά τό πλάσμα, πού μποροῦμε νά τό τοποθετήσομε σέ ἄλλο σωληνάριο.

Σέ ὁρισμένες αἱματολογικές ἐξετάσεις λαμβάνεται αὐτούσιο αἷμα καί ἀμέσως μετά τή λήψη γίνεται ἡ ἐξέταση.

5.2 Ἔκπλυση ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων.

Μέ τή μέθοδο αὐτή, παίρνομε ἐρυθρά αἱμοσφαίρια, πού εἶναι ἀπαλλαγμένα ἀπό ὀρό, πλάσμα καί τά ὑπόλοιπα συστατικά τοῦ αἵματος. Τοποθετοῦμε σέ σωληνάριο φυγοκέντρου ἴσες ποσότητες αἵματος καί ἀντιδραστηρίου (ἀποτελεῖται ἀπό ὀξαλικό κάλιο 0,56 g, NaCl 1,60 g καί AD 200 ml). Φυγοκεντροῦμε 5 λεπτά στίς 1500 στροφές. Μετά τή φυγοκέντριση χύνομε τό ὑπερκείμενο ὑγρό καί προσθέτομε ἴση ποσότητα φυσιολογικοῦ ὀροῦ. Φυγοκεντροῦμε καί πάλι, χύνομε τό ὑπερκείμενο ὑγρό καί προσθέτομε φυσιολογικό ὀρό. Αὐτό ἐπαναλαμβάνεται ὥσπου τό ὑπερκείμενο ὑγρό νά γίνει διαυγές. Μόλις πάρομε διαυγές ὑπερκείμενο ὑγρό τό χύνομε καί τό ἴζημα πού παραμένει ἀποτελεῖται ἀπό ἐρυθρά πού τά ὀνομάζομε ***ἐκπλυθέντα ἐρυθρά.***

5.3 Ἐναιώρημα ἐρυθρῶν.

Σέ μερικές ἐξετάσεις τοῦ αἵματος, χρειάζεται νά παρασκευάσομε ἐναιώρημα ἐρυθρῶν. Αὐτό παρασκευάζεται ὡς ἑξῆς. Παίρνομε αἷμα μέ ἀντιπηκτικό καί τό φυγοκεντροῦμε. Χύνομε τό ὑπερκείμενο καί κρατᾶμε τό ἴζημα τῶν ἐρυθρῶν. Ἄν χρειαζόμαστε π.χ. ἐναιώρημα ἐρυθρῶν 20%, παίρνομε 2 ml ἴζημα ἐρυθρῶν καί 8 ml φυσιολογικό ὀρό καί δημιουργοῦμε τήν ἀναλογία.

5.4 Ἀδρανοποίηση τοῦ ὀροῦ.

Σέ μερικές ἐξετάσεις εἶναι ἀπαραίτητο ὁ ὀρός νά εἶναι ἀδρανοποιημένος. Ἡ ἀ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

δρανοποίηση τοῦ ὀροῦ ἐπιτυγχάνεται, ἄν τόν θερμάνομε 30 λεπτά σέ ὑδατόλουτρο θερμοκρασίας 56°C.

5.5 Παρασκευή ἐπιχρίσματος.

Γιά τήν παρασκευή ἐπιχρίσματος χρησιμοποιοῦμε αἷμα πού παίρνομε ἀπό τή ράγα τοῦ δακτύλου (χωρίς ἀντιπηκτικό). Στό ἕνα ἄκρο ἀντικειμενοφόρου πλάκας, τοποθετοῦμε μιά σταγόνα αἵματος. Κοντά στή σταγόνα τοποθετοῦμε ἄλλη ἀντικειμενοφόρο πλάκα, μέ τέτοιο τρόπο, ὥστε οἱ δύο πλάκες νά σχηματίζουν γωνία 45 μοιρῶν. Κινοῦμε σταθερά καί συνεχῶς τή δεύτερη πλάκα πάνω στήν πρώτη μέ ἀποτέλεσμα νά παρασύρεται ἡ σταγόνα αἵματος καί νά δημιουργήσει πάνω στήν πλάκα λεπτό ἐπίχρισμα αἵματος. Τό ἐπίχρισμα πού παρασκευάσαμε εἶναι καλό, ὅταν εἶναι ὁμοιογενές, λεπτό καί δέν παρουσιάζει κενά.

5.6 Ξήρανση τοῦ ἐπιχρίσματος.

Τό ἐπίχρισμα τοῦ αἵματος πρέπει νά ξηρανθεῖ ἄν θέλομε νά τό χρωματίσομε. Ἡ ξήρανση γίνεται στόν ἐλεύθερο ἀέρα καί ποτέ ἐπάνω σέ θερμαντική πηγή ἤ φλόγα, γιατί θά δημιουργηθοῦν ἀλλοιώσεις στή μορφολογία τῶν ἔμμορφων στοιχείων τοῦ αἵματος.

5.7 Μονιμοποίηση τοῦ ἐπιχρίσματος.

Μονιμοποίηση τοῦ ἐπιχρίσματος καλεῖται ἡ μέθοδος μέ τήν ὁποία ἐπιτυγχάνεται ἡ προσκόλλησή του στήν ἀντικειμενοφόρο πλάκα. Γιά τή μονιμοποίηση χρησιμοποιοῦμε μεθανόλη, μέ τήν ὁποία καλύπτομε τό ἐπίχρισμα γιά 10 λεπτά.

Μετά τά 10 λεπτά ἀφήνομε τό ἐπίχρισμα νά στεγνώσει καλά.

5.8 Γενική αἵματος.

Καθημερινά στήν πράξη, ζητεῖται ἀπό τόν κλινικό γιατρό καί πραγματοποιεῖται στό ἐργαστήριο ἡ λεγόμενη ***γενική αἵματος.*** Αὐτή δέν ἀποτελεῖ εἰδική ἐξέταση, ἀλλά περιλαμβάνει διάφορες μετρήσεις καί προσδιορισμούς τῶν στοιχείων τοῦ αἵματος, πού δέν γράφονται ξεχωριστά σέ διάφορα ἔντυπα ἀπαντήσεως, ἀλλά ἀποτελοῦν τή «γενική αἵματος» (σχ. 5.8).

Οἱ ἐξετάσεις πού περιλαμβάνει εἶναι:

α) Μέτρηση τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων.
β) Μέτρηση τοῦ ἀριθμοῦ τῶν λευκῶν αἱμοσφαιρίων.
γ) Λευκοκυτταρικός τύπος καί ἀπόλυτος ἀριθμός λευκῶν.
δ) Τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης σέ γραμμάρια καί ἐπί τοῖς ἑκατό.
ε) Ἡ τιμή τοῦ αἱματοκρίτη.
στ) Ὁ μέσος ὄγκος ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων.
ζ) Ὁ αἱμοσφαιρινικός δείκτης ἤ αἱμοσφαιρινική ἀξία.
η) Τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης κατά ἐρυθρό αἱμοσφαίριο.
θ) Ἡ μέση πυκνότητα αἱμοσφαιρίνης κατά ἐρυθρό αἱμοσφαίριο.
ι) Διάφορες μορφολογικές παρατηρήσεις.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ _____ Ν.Μ. _____ ΘΑΛ. _____

ΟΝΟΜΑ _____

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ _____

Ἐρυθρά	κ.κ.χ.	Λευκά	κ.κ.χ.
Αἱμοσφαιρίνη	γρ. ο/ο	**ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ο/ο**	
Αἱματοκρίτης	ο/ο	Μυελοβλάσται	
Μέσος ὄγκος ἐρυθρῶν	κυβ. μ.	Προμυελοκύτταρα	
Μέση κατ' ἐρυθρὸν ΗΒ	γγ	Μυελοκύτταρα οὐδετερόφιλα	
Μέση πυκνότης ΗΒ	ο/ο	Μεταμυελοκύτταρα »	
Ἐμπύρηνα ἐρυθρά (κατά 100 λευκά)		Ραβδοπύρηνα	
Δικτυοερυθροκύτταρα	ο/οο	Πολυμορφοπύρηνα { ἠωσινόφιλα	
Αἱμοπετάλια	κ.κ.χ.	οὐδετερόφιλα	
ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΕΡΥΘΡΩΝ		βασεόφιλα	
Ἀνισοκύττωσις		Λεμφοκύτταρα	
Ποικιλοκύττωσις		Μονοκύτταρα	
Ὑποχρωμία		Πλασματοκύτταρα	
Στοχοκύτταρα		Τ.Κ.Ε.	1η ὥρα mm.
Σφαιροκύτταρα		Παρατηρήσεις :	
Σχιστοκύτταρα			
Μακροκύτταρα			
Βασεόφιλες Στίξις		Ἡμερομηνία	
Πολυχρωματόφιλα ἐρυθρά		Ὑπογραφή	

Ὑπόδ. Ε - 1/3

4. ΓΕΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΣ

Σχ. 5.8.
Τρόπος ἐγγραφῆς τῆς γενικῆς ἐξετάσεως αἵματος (φυσιολογική).

5.8.1 Μέτρηση ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων.

Ἡ μέτρηση τῶν ἐρυθρῶν γίνεται στό μικροσκόπιο, πάνω σέ εἰδική πλάκα καί ἀφοῦ προηγουμένως τό ἐξεταζόμενο αἷμα ἔχει ἀραιωθεῖ κατάλληλα.

Ἡ ἀραίωση γίνεται μέ ἀντιδραστήριο πού περιέχει 10 ml φορμαλδεΰδη 40%, κιτρικό νάτριο 31,3 g καί 990 ml ἀποσταγμένο νερό. Ἀναρροφοῦμε αἷμα μέ τό σιφώνιο ἀραιώσεως τῶν ἐρυθρῶν ὥς τή χαραγή 0,5. Ὥς τή χαραγή x, ἀναρροφοῦμε ὑγρό ἀραιώσεως. Μέ τό δείκτη καί τόν ἀντίχειρα κλείνομε τά στόμια τοῦ σιφωνίου καί ἀνακινοῦμε καλά γιά νά πετύχομε καλή ἀνάμιξη αἵματος καί ὑγροῦ ἀραιώσεως.

Ἀφοῦ δημιουργήσομε τό ὁμοιογενές αὐτό ἐναιώρημα, ἀφήνομε νά τρέξουν οἱ πρῶτες σταγόνες καί ρίχνομε μιά σταγόνα στήν πλάκα. Ἡ πλάκα πού χρησιμεύει γιά τή μέτρηση ἐρυθρῶν ὀνομάζεται Neubauer καί ἔχει εἰδικές γραμμώσεις πού σχηματίζουν τετράγωνα. Κάθε τετράγωνο ὑποδιαιρεῖται σέ 16 μικρότερα τετραγωνίδια. Στήν πλάκα ὑπάρχουν 25 κεντρικά τετράγωνα καί 4 στίς γωνίες. Ἡ μέτρηση τῶν ἐρυθρῶν γίνεται σέ 5 τετράγωνα. Ἀφοῦ κάθε τετράγωνο περιέχει 16 τετραγωνίδια, ἡ μέτρηση γίνεται σέ $5 \times 16 = 80$ τετραγωνίδια.

Μέ τή σταγόνα ἀπό τήν ἀραίωση τῶν ἐρυθρῶν, γεμίζομε τό βάθυσμα τῆς πλάκας, ἀφοῦ πρῶτα τοποθετήσομε καλυπτρίδα, καί προσέχομε νά μή χυθεῖ πέρα ἀπό τήν αὔλακα καί νά μήν περιέχει φυσαλίδες ἀέρα. Μετροῦμε τά ἐρυθρά πού βρίσκονται μέσα σέ κάθε ἕνα τετραγωνίδιο. Ὁ ἀριθμός πού βρίσκομε μέσα στά 80 τετραγωνίδια, ἄν πολλαπλασιασθεῖ μέ τό 10.000 εἶναι ὁ ἀριθμός τῶν ἐρυθρῶν. Πολλαπλασιάζομε μέ 10.000 γιατί ἡ ἀραίωση πού κάναμε εἶναι 1:200. Ἄν ἡ ἀραίωση ἦταν 1:100, θά πολλαπλασιάζαμε μέ τό 5000.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

5.8.2 Ἐρυθρά ἀπό τόν αἱματοκρίτη.

Ὁ ἀριθμός τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων μπορεῖ νά ὑπολογισθεῖ ἀπό τόν αἱματοκρίτη, ἄν μετατρέψομε τήν ἔνδειξή του σέ ἑκατομμύρια καί προσθέσομε ἀκόμη 200.000.

Παράδειγμα: Ἄς ὑποθέσομε ὅτι ὁ αἱματοκρίτης βρέθηκε 40%. Τά ἐρυθρά θά εἶναι 4.200.000 ἀνά mm^3.

5.8.3 Αἱματοκρίτης (Ht).

Αἱματοκρίτης καλεῖται ἡ ἑκατοστιαία ἀναλογία τοῦ ὄγκου τῶν ἐμμόρφων συστατικῶν (κυρίως ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων) σέ σχέση μέ τό συνολικό ὄγκο τοῦ αἵματος. Ὁ προσδιορισμός του γίνεται ὡς ἑξῆς.

Παίρνομε φλεβικό αἷμα μέ ἀντιπηκτικό Wintrobe. Ἀνακινοῦμε καλά τό φιαλίδιο τῆς αἱμοληψίας καί μέ τή βοήθεια λεπτοῦ τριχοειδοῦς σωληναρίου Pasteur βάζομε αἷμα στό σωληνάριο τοῦ αἱματοκρίτη. Ἡ πλήρωση τοῦ αἱματοκρίτη ἀπό αἷμα γίνεται μέχρι τή χαραγή 100. Στή συνέχεια ὁ αἱματοκρίτης φυγοκεντρεῖται στίς 3000 στροφές γιά 30 λεπτά.

Τόν ὄγκο τῶν συσσωρευθέντων ἐρυθρῶν, πού καθιζάνουν, τόν μετροῦμε κατευθείαν ἀπό τό βαθμολογημένο σωλήνα καί τόν ἐκφράζομε ἐπί %.

5.8.4 Μικροαιματοκρίτης.

Πρόκειται γιά τήν ἴδια μέθοδο, μέ τή διαφορά ὅτι γιά τή μέτρηση χρησιμοποιοῦμε εἰδικά τριχοειδικά σωληνάρια, πού ἔχουν μῆκος 75 mm καί διάμετρο 1 mm. Τό αἷμα, πού λαμβάνεται ἀπευθείας ἀπό τή ράγα τοῦ δακτύλου, δέν πήζει γιατί στά ἐσωτερικά τοιχώματα τοῦ σωληναρίου ὑπάρχει στεγνή ἡπαρίνη.

Φέρνομε τό τριχοειδές σωληνάριο σέ ἐπαφή μέ τό αἷμα πού ρέει ἀπό τή ράγα τοῦ δακτύλου. Μέ κατάλληλες κινήσεις τό γεμίζομε ὥς 15 mm ἀπό τοῦ ἐπάνω ἄκρου του. Ἀνακινοῦμε προσεκτικά γιά νά γίνει ἀνάμιξη αἵματος καί ἀντιπηκτικοῦ. Συνήθως τό ἄνω ἄκρο κλείνεται μέ πλαστελίνη. Φυγοκεντροῦμε σέ εἰδική φυγόκεντρο γιά 3-5 λεπτά στίς 3000 στροφές.

Ἡ ἀνάγνωση γίνεται σέ εἰδική κλίμακα πού ὑπάρχει στή φυγόκεντρο. Ἄν δέν ὑπάρχει εἰδική φυγόκεντρος φυγοκεντροῦμε σέ κοινή φυγόκεντρο γιά 5 λεπτά στίς 4000 στροφές. Στή συνέχεια, ἄν δέν ὑπάρχει εἰδική κλίμακα γιά τήν ἀνάγνωση, μετροῦμε τό ὕψος τῆς στήλης τῶν ἐρυθρῶν καί τῆς στήλης τῶν ἐρυθρῶν καί τοῦ πλάσματος καί διαιροῦμε τό πρῶτο μέ τό δεύτερο. Τό πηλίκο ἐκφράζεται ἐπί %.

Παράδειγμα.

Ἄν π.χ. ἡ στήλη τῶν ἐρυθρῶν εἶναι 22 mm καί ἡ στήλη ἐρυθρῶν καί πλάσματος 55 mm.

Ἄρα $22/55 = 0,4$ καί $0,4 \times 100 = 40\%$.

Στή μέτρηση τοῦ αἱματοκρίτη χρειάζεται προσοχή γιατί εὔκολα μποροῦμε νά κάνομε λάθος.

Λάθη γίνονται ὅταν δέν φυγοκεντροῦμε σωστά, ὅταν δέν γεμίζομε ὅπως πρέπει τούς σωλῆνες μέ αἷμα, ὅταν δημιουργοῦνται μέσα στούς σωλῆνες πήγματα ἤ φυσαλίδες κλπ.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: 40-50% γιά τούς ἄνδρες καί 37-45% γιά τίς γυναῖκες.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

5.8.5 Μέτρηση ποσοῦ αἱμοσφαιρίνης (HB).

Ἡ καλύτερη μέθοδος γιά τή μέτρηση τοῦ ποσοῦ τῆς αἱμοσφαιρίνης τοῦ αἵματος, εἶναι ἐκείνη πού γίνεται μέ ἠλεκτρικά φωτόμετρα. Ἡ μέθοδος αὐτή εἶναι καλύτερη ἀπό τή μέθοδο Shali, γιατί μέ τή χρήση της ἀποφεύγεται ὁ ὑποκειμενικός παράγοντας τῆς συγκρίσεως τῶν χρωμάτων.

Τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης τοῦ αἵματος ἑνός ἀτόμου, παλιότερα τό ὑπολόγιζαν ἐπί %. Θεωροῦσαν δηλαδή ὅτι ἄτομο πού ἔχει ἀριθμό ἐρυθρῶν 5.000.000 mm^3 ἔχει 100% αἱμοσφαιρίνη. Ἡ μέτρηση δηλαδή τοῦ ποσοῦ τῆς αἱμοσφαιρίνης γινόταν σέ σύγκριση μέ τό 100%.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: 16 g% στόν ἄνδρα καί 14-14,5 g% στή γυναίκα.

α) Φωτοηλεκτρική μέθοδος.

Σέ δοκιμαστικό σωλήνα βάζομε 5 ml διαλύματος Drabkin καί 20 mm^3 αἵματος μέ τή βοήθεια σιφωνίου αἱμοσφαιρίνης. Τό αἷμα τό παίρνομε ἢ ἀπό τή ράγα τοῦ δακτύλου ἢ ἀπό τό φιαλίδιο τῆς γενικῆς ἐξετάσεως τοῦ αἵματος. Τό σιφώνιο πλένεται τρεῖς φορές μέ τό διάλυμα. Ἀνακινοῦμε τό δοκιμαστικό σωλήνα καί μετά τόν ἀφήνομε σέ ἠρεμία 20 λεπτά. Μεταφέρομε ἀπό τό δοκιμαστικό σωλήνα τό περιεχόμενό του σέ κυβέττα καί μετροῦμε σέ μῆκος κύματος 540.

Ὁ ὑπολογισμός τῆς αἱμοσφαιρίνης γίνεται μέ τόν τύπο:

$$HB \text{ σέ γραμμάρια } \% = \text{ἔνδειξη} \times \Sigma$$

ὅπου τό Σ εἶναι ἕνας σταθερός συντελεστής γιά κάθε φωτόμετρο.

β) Μέθοδος Sahli.

Στή μέθοδο αὐτή χρησιμοποιοῦμε τό αἱμοσφαιρινόμετρο Sahli πού ἀποτελεῖται ἀπό τρεῖς ὅμοιους σωλῆνες πού στηρίζονται σέ εἰδικό στατό. Πίσω ἀπό τούς σωλῆνες ὑπάρχει γαλακτόχρωμη γυάλινη ὀθόνη. Οἱ δύο ἀκραῖοι σωλῆνες φέρουν ὑδροχλωρική αἰματίνη, μέ γνωστή περιεκτικότητα, ἐνῶ ὁ μεσαῖος εἶναι κενός καί φέρει κλίμακα πού δίνει τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης ἐπί % τοῦ φυσιολογικοῦ ἀνθρώπου καί τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης σέ γραμμάρια ἀνά 100 ml αἵματος.

Ἡ μέθοδος στηρίζεται στήν ἀρχή τῆς μετατροπῆς τῆς αἱμοσφαιρίνης σέ ὑδροχλωρική αἰματίνη καί στή σύγκριση τοῦ χρώματος πρός διάλυμα ὑδροχλωρικῆς αἰματίνης γνωστῆς περιεκτικότητας.

Στό μεσαῖο σωλήνα τοῦ αἱμοσφαιρινόμετρου Sahli βάζομε ὥς τή χαραγή HCl. Προσθέτομε ἀκόμα μέ εἰδικό σιφώνιο 20 mm^3 αἵματος πού πήραμε μέ ἀντιπηκτικό Wintrobe. Ἀφήνομε 15 λεπτά τό διάλυμα νά ἠρεμήσει καί νά μετατραπεῖ ἡ αἱμοσφαιρίνη σέ ὑδροχλωρική αἰματίνη. Κατόπιν προσθέτομε ἀποσταγμένο νερό σέ σταγόνες καί μέχρι τό διάλυμα νά πάρει τόν ἴδιο χρωματισμό μέ τούς δύο ἀκραίους σωλῆνες, πού περιέχουν γνωστό διάλυμα ὑδροχλωρικῆς αἰματίνης. Ἀνάγνωση τοῦ ὕψους τῆς στήλης τοῦ διαλύματος γίνεται στήν κλίμακα τοῦ μεσαίου σωλήνα.

5.9 Σχέσεις ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων-αἱμοσφαιρίνης καί αἱματοκρίτη.

Ὅταν γνωρίζομε τόν ἀριθμό τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων, τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης καί τήν τιμή τοῦ αἱματοκρίτη, μποροῦμε νά ὑπολογίσομε διάφορες τιμές, ὅπως:

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

1) Μέσος ὄγκος ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων (Μ.C.V.).

Ὁ μέσος ὄγκος ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων ὑπολογίζεται, ἄν διαιρέσομε τήν τιμή τοῦ αἱματοκρίτη μέ τόν ἀριθμό τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων. Ἡ τιμή ἐκφράζεται σέ κυβικά μικρά (μ^3).

$$\text{M.C.V.} \frac{\text{αἱματοκρίτης}}{\text{ἀριθμός ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων}} = 82\text{-}90\ \mu^3$$

2) Ποσό αἱμοσφαιρίνης κατά ἐρυθρό αἱμοσφαίριο (Μ.C.H.).

Τό βρίσκομε ἄν διαιρέσομε τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης σέ γραμμάρια, μέ τόν ἀριθμό τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων. Ἡ τιμή ἐκφράζεται σέ γ.γ.

$$\text{M.C.H.} \frac{\text{αἱμοσφαιρίνη σέ g}}{\text{ἀριθμός ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων}} = 27\text{-}32\ \text{γ.γ.}$$

3) Μέση πυκνότητα αἱμοσφαιρίνης κατά ἐρυθρό αἱμοσφαίριο (Μ.C.H.C.).

Αὐτή τή βρίσκομε ἄν διαιρέσομε τό ποσό τῆς αἱμοσφαιρίνης σέ γραμμάρια, μέ τήν τιμή τοῦ αἱματοκρίτη. Ἡ τιμή ἐκφράζεται σέ πυκνότητα ἐπί τοῖς ἑκατό.

$$\text{M.C.H.C.} \frac{\text{αἱμοσφαιρίνη σέ g}}{\text{αἱματοκρίτης}} = 32\text{-}36\%$$

4) Αἱμοσφαιρικός δείκτης (αἱμοσφαιρινική ἀξία).

Τόν βρίσκομε ἄν διαιρέσομε τήν τιμή τῆς αἱμοσφαιρίνης ἐπί τοῖς % μέ τό διπλάσιο τῶν δύο πρώτων ψηφίων τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων. Οἱ φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται μεταξύ 0,9-1,1.

5.10 Ταχύτητα καθιζήσεως ἐρυθρῶν (Τ.Κ.Ε.).

Ταχύτητα καθιζήσεως τῶν ἐρυθρῶν καλεῖται ἡ ταχύτητα μέ τήν ὁποία καθιζάνουν τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια μέσα στό πλάσμα τοῦ αἵματος, ὅταν αὐτό βρεθεῖ μέ ἀντιπηκτικό μέσα σέ σωλήνα ὁρισμένων διαστάσεων καί ὑπό καθορισμένη θερμοκρασία.

Τό ἀποτέλεσμα τῆς Τ.Κ.Ε. ἐκφράζεται σέ χιλιοστά ἀνά ὥρα καί κυρίως τήν πρώτη καί δεύτερη ὥρα. Γιά τόν προσδιορισμό τῆς Τ.Κ.Ε. χρειάζονται τό σιφώνιο Westergren, τό εἰδικό ἔδρανο πάνω στό ὁποῖο τοποθετεῖται τό σιφώνιο τῆς Τ.Κ.Ε. καί τό κιτρικό νάτριο 3,8% ὡς ἀντιπηκτικό.

Παίρνομε 2 ml φλεβικοῦ αἵματος καί τό τοποθετοῦμε σέ αἱμολυτικό σωληνάριο, στό ὁποῖο προηγουμένως ἔχομε τοποθετήσει 0,4 ml ἀντιπηκτικό. Πωματίζομε τό σωληνάριο καί ἀνακινοῦμε 2-3 φορές.

Στή συνέχεια ἀναρροφοῦμε μέ τό σιφώνιο Westergren ἀπό τό σωληνάριο αἷμα ὡς τή χαραγή 0 (μηδέν). Τοποθετοῦμε τό σιφώνιο στό εἰδικό ἔδρανο καί σημειώνομε τό χρόνο.

Στός τέλος τῆς πρώτης καί τῆς δεύτερης ὥρας γίνεται ἡ ἀνάγνωση πού ἐκφράζεται σέ χιλιοστά ἀνά ὥρα. Ἡ ἀνάγνωση γίνεται στό ὅριο ἐπαφῆς τῆς στήλης τοῦ πλάσματος καί τῆς στήλης τῶν ἐρυθρῶν.

Γιά νά ἀποφύγομε τά λάθη κατά τήν ἐκτέλεση τῆς ἐξετάσεως πρέπει νά καθαρί-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ζομε τό σιφώνιο μόνο μέ ἀποσταγμένο νερό, νά εἶναι στεγνό καί ὅταν τό γεμίζομε μέ αἷμα νά μήν ὑπάρχουν φυσαλίδες, κενά ἤ πήγματα. Ἐπίσης ἡ ἐξέταση πρέπει νά γίνεται μέσα σέ δύο ὧρες ἀπό τήν αἱμοληψία καί σέ θερμοκρασία 18-21°C.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι:

1η ὥρα 4- 8 mm γιά τούς ἄνδρες καί 6-12 mm γιά τίς γυναῖκες
2η ὥρα 8-16 mm γιά τούς ἄνδρες καί 16-20 mm γιά τίς γυναῖκες

Ἐρωτήσεις.

1. Πῶς γίνεται ἡ ἔκπλυση τῶν ἐρυθρῶν;
2. Πῶς γίνεται ἡ ἀδρανοποίηση τοῦ ὁροῦ;
3. Πῶς παρασκευάζομε ἕνα ἐπίχρισμα;
4. Πῶς ξηραίνεται καί πῶς μονιμοποιεῖται ἕνα ἐπίχρισμα;
5. Τί περιλαμβάνει ἡ γενική αἵματος;
6. Πῶς γίνεται ἡ μέτρηση ἐρυθρῶν;
7. Νά ἀναφέρετε τόν τρόπο προσδιορισμοῦ τοῦ αἱματοκρίτη.
8. Πῶς προσδιορίζεται ὁ μικροαιματοκρίτης;
9. Μέ ποιές μεθόδους μετροῦμε τήν αἱμοσφαιρίνη;
10. Νά ἀναφέρετε τή φωτοηλεκτρική μέθοδο μετρήσεως HB.
11. Νά ἀναφέρετε τή μέθοδο Sahli.
12. Τί εἶναι αἱμοσφαιρινική ἀξία;
13. Πῶς προσδιορίζεται ἡ Τ.Κ.Ε;
14. Ποιές μορφολογικές ἀνωμαλίες παρουσιάζουν τά ἐρυθρά στό σχῆμα τους;
15. Ποιές μορφολογικές ἀνωμαλίες παρουσιάζουν τά ἐρυθρά στή χρώση καί τό μέγεθος;

5.11 Μορφολογικές παρατηρήσεις.

Γιά νά διαπιστώσομε ἄν ἡ μορφή τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων εἶναι φυσιολογική ἤ ὄχι, τά ἐξετάζομε σέ νωπά καί χρωματισμένα μέ εἰδικές χρωστικές παρασκευάσματα.

Τό σχῆμα τῶν φυσιολογικῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων ὅταν τά βλέπομε ἀπό πάνω εἶναι στρογγυλό, ἐνῶ ὅταν τά βλέπομε ἀπό τά πλάγια εἶναι ἀμφίκοιλο. Ἡ διάμετρός τους σέ μονιμοποιημένα παρασκευάσματα κυμαίνεται μεταξύ 7-7,5 μ καί τό πάχος μεταξύ 2-2,5 μ. Ἐπίσης τά φυσιολογικά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια ἐμφανίζονται στό περιφερικό αἷμα ἀπύρηνα καί ὀξεόφιλα.

Σέ παθολογικές ὅμως καταστάσεις, τά ἐρυθρά παρουσιάζουν μορφολογικές ἀνωμαλίες, πού ἀφοροῦν ***τό μέγεθός τους, τό σχῆμα τους, τή χρώση τους*** καί ***διάφορα ὑπολείμματα πυρηνικά.***

Μεταβολές πού ἀφοροῦν τό μέγεθός τους, εἶναι ἡ μικροκύττωση, ἡ μακροκύττωση, ἡ ἀνισοκύττωση καί ἡ σχιστοκύττωση.

Μικροκύττωση εἶναι ἡ κατάσταση ἐκείνη κατά τήν ὁποία τά ἐρυθρά ἔχουν μέγεθος μικρότερο ἀπό τό φυσιολογικό, ἐνῶ ***μακροκύττωση*** ἡ κατάσταση κατά τήν ὁποία τό μέγεθος τῶν ἐρυθρῶν εἶναι μεγαλύτερο ἀπό τό φυσιολογικό. Στήν πρώτη περίπτωση τά ἐρυθρά καλοῦνται μικροκύτταρα καί στή δεύτερη μακροκύτταρα. Ὅταν τό μέγεθος τῶν ἐρυθρῶν παρουσιάζει ποικιλία, ἔχομε ***ἀνισοκύττωση.***

Σχιστοκύττωση καλεῖται ἡ κατάσταση κατά τήν ὁποία τά ἐρυθρά εἶναι πολύ μικρά, ἔχουν ἀκανόνιστο σχῆμα καί εἶναι ὑπόχρωμα. Τά ἐρυθρά ὀνομάζονται τότε σχιστοκύτταρα καί ἀποτελοῦν προφανῶς τεμάχια φυσιολογικῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Μεταβολές πού ἀφοροῦν τό σχῆμα τῶν ἐρυθρῶν, εἶναι ἡ σφαιροκύττωση, ἡ ποικιλοκύττωση, τά στοχοκύτταρα, τά ἐλλειπτοκύτταρα καί τά δρεπανοκύτταρα.

Σφαιροκύττωση εἶναι ἡ κατάσταση κατά τήν ὁποία τά ἐρυθρά δέν ἔχουν τό φυσιολογικό ἀμφίκοιλο σχῆμα, ἀλλά ἐμφανίζονται σφαιρικά καί δέν χρωματίζονται φυσιολογικά. Στήν ***ποικιλοκύττωση*** τά ἐρυθρά ἐμφανίζονται μέ διάφορα σχήματα καί αὐτό ἀποτελεῖ ἔνδειξη γρήγορης ἀναπαραγωγῆς στό μυελό. Τά ***στοχοκύτταρα*** εἶναι ὑπόχρωμα ἐρυθρά καί παρουσιάζουν τό κέντρο τους ἐντονότερα χρωματισμένο. Τά ἐρυθρά πού ἐμφανίζουν ὀξέα ἄκρα σάν δρεπάνι καί παρατηροῦνται στή δρεπανοκυτταρική ἀναιμία, καλοῦνται ***δρεπανοκύτταρα.***

Μεταβολές πού ἀφοροῦν τή χρώση εἶναι ἡ ὑποχρωμία, ἡ ὑπερχρωμία, ἡ ἀνισοχρωμία, ἡ πολυχρωματοφιλία καί ἡ βασεοφιλία.

Στήν ***ὑποχρωμία*** τά ἐρυθρά εἶναι ὑπόχρωμα, δηλαδή ἔχουν χρῶμα πιό ὠχρό ἀπό τό φυσιολογικό καί ἄν τό μέγεθός τους εἶναι φυσιολογικό, τότε πρόκειται γιά ἀληθινή ὑποχρωμία. Ἄν εἶναι μακροκύτταρα μέ πιό ὠχρό τό κέντρο τους, τότε πρόκειται γιά ψευδή ὑποχρωμία.

Ὑπερχρωμία εἶναι ἡ κατάσταση ἐκείνη κατά τήν ὁποία τά ἐρυθρά ἐμφανίζονται ὑπέρχρωμα, δηλαδή εἶναι πιό ἔντονα χρωματισμένα ἀπό τό φυσιολογικό. Αὐτό ὀφείλεται στό πάχος τῶν ἐρυθρῶν αὐτῶν καί ὄχι στήν παρουσία μεγαλύτερης ποσότητας αἱμοσφαιρίνης.

Ἄν στό μικροσκόπιο τά ἐρυθρά ἐμφανίζονται χρωματισμένα ποικιλοτρόπως, δηλαδή ἄλλα ὑπέρχρωμα καί ἄλλα ὑπόχρωμα, ἔχομε ***ἀνισοχρωμία.*** Στήν ***πολυχρωματοφιλία*** τά ἐρυθρά ὅταν χρωματίζονται μέ τή χρώση Giemsa παρουσιάζονται ὁλόκληρα ἤ κατά ζῶνες πρασινωπά. Τά ἐρυθρά αὐτά μπορεῖ νά εἶναι μακροκύτταρα. Κατά τή ***βασεοφιλία*** τά βασεόφιλα ἐρυθρά, πού εἶναι ἄωρες μορφές ἐρυθρῶν, μέ τή χρώση Giemsa παίρνουν χρῶμα μπλέ.

Παθολογικά πυρηνικά ὑπολείμματα πού ἀνευρίσκονται εἶναι:

α) Σωμάτια Heinz.

β) Δακτύλιοι Cabot.

γ) Σιδηροκύτταρα.

δ) Ἀζουροφιλής κόκκωση.

ε) Ἀζουροφιλής πολυχρωματοφιλία.

Κάθε μεταβολή τῆς μορφολογίας τῶν ἐρυθρῶν, σημειώνεται στό κάτω μέρος τοῦ ἐντύπου τῆς «Γενικῆς αἵματος» καί βοηθᾶ σημαντικά τόν κλινικό γιατρό.

5.12 Χρώσεις αἵματος.

Γιά νά μελετήσομε καλύτερα στά παρασκευάσματα τά ἔμμορφα συστατικά τοῦ αἵματος χρειάζεται νά τά χρωματίσομε μέ διάφορες χρωστικές. Χρησιμοποιοῦμε κυρίως τίς χρώσεις Giemsa, May-Grünwald, May-Grünwald-Giemsa καί Wright.

α) Χρώση κατά Giemsa.

Διακρίνομε τή βραδεία καί τήν ταχεία. Μέ τήν πρώτη ἐπιτυγχάνομε καλύτερο ἀποτέλεσμα. Ἡ βραδεία χρώση γίνεται ὡς ἑξῆς:

Παρασκευάζομε τό ἐπίχρισμα, τό ξηραίνομε καί τό μονιμοποιοῦμε καλύπτοντας τήν πλάκα γιά 10 λεπτά μέ μεθανόλη. Τό διάλυμα τῆς χρωστικῆς τό παρασκευάζο-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

με ἐκείνη τή στιγμή, βάζοντας μέσα σέ δοκιμαστικό σωλήνα 10 ml ἀποσταγμένο νερό καί 10 σταγόνες χρωστικῆς. Δηλαδή δημιουργοῦμε μιά ἀναλογία 1 σταγόνα χρωστικῆς σέ 1 ml ἀποσταγμένο νερό. Καλύπτομε τό παρασκεύασμα γιά 15 λεπτά μέ τό διάλυμα τῆς χρωστικῆς. Πετᾶμε τό διάλυμα τῆς χρωστικῆς καί προσθέτομε γιά 15 λεπτά νέο διάλυμα. Αὐτό τό ἐπαναλαμβάνομε καί τρίτη φορά. Μετά πλένομε τό παρασκεύασμα μέ ἀποσταγμένο νερό, τό ξηραίνομε καί μποροῦμε νά μικροσκοπήσομε.

Στήν ταχεία χρώση καλύπτομε τό παρασκεύασμα μετά τή μονιμοποίηση γιά 20 λεπτά μέ τή χρωστική καί μετά πλένομε, ξηραίνομε καί μικροσκοποῦμε. Γιά τήν παρασκευή τοῦ διαλύματος τῆς χρωστικῆς στήν ταχεία χρώση βάζομε μέσα στό δοκιμαστικό σωλήνα 10 ml ἀποσταγμένο νερό καί 15 σταγόνες χρωστικῆς.

β) Χρώση May-Grünwald.

Παρασκευάζομε τό ἐπίχρισμα, τό ξηραίνομε καί καλύπτομε τήν πλάκα μέ τή χρωστική May-Grünwald γιά 3-5 λεπτά. Ξεπλένομε, ξηραίνομε καί μικροσκοποῦμε. Μέ τή χρώση αὐτή δέν ἀπαιτεῖται μονιμοποίηση, γιατί ἡ μεθανόλη ὑπάρχει μέσα στό χρωστικό διάλυμα καί ἡ μονιμοποίηση γίνεται κατά τή διάρκεια τῆς χρώσεως.

γ) Χρώση May-Grünwald-Giemsa.

Μέ τή χρώση αὐτή συνδυάζονται ὅλα τά πλεονεκτήματα τῶν προηγουμένων χρώσεων καί ἔχομε πολύ καλά ἀποτελέσματα. Παρασκευάζομε τό ἐπίχρισμα, ξηραίνομε καί καλύπτομε τήν πλάκα μέ χρωστική May-Grünwald γιά ἕνα λεπτό. Προσθέτομε ἴση ποσότητα ἀποσταγμένο νερό, ἀνακινοῦμε γιά νά γίνει ἀνάμιξη καί ἀφήνομε γιά ἕνα λεπτό. Καλύπτομε τήν πλάκα μέ διάλυμα Giemsa γιά 15 λεπτά. Πλένομε καί μικροσκοποῦμε.

5.13 Μέτρηση λευκῶν αἱμοσφαιρίων.

Γιά τή μέτρηση τῶν λευκῶν αἱμοσφαιρίων χρησιμοποιοῦμε τήν πλάκα τοῦ Neubauer, τό σιφώνιο ἀραιώσεως τῶν λευκῶν καί ὑγρό ἀραιώσεως. Τό ὑγρό ἀραιώσεως ἀποτελεῖται ἀπό ὀξικό ὀξύ, ἰῶδες τῆς γεντιανῆς καί ἀποσταγμένο νερό καί προκαλεῖ λύση τῶν ἐρυθρῶν, ἐνῶ τά λευκά παραμένουν ἀνέπαφα καί ταυτόχρονα παίρνουν ἕνα χρῶμα ἐλαφρῶς μπλέ. Ἡ ἀραίωση γίνεται μέ τό σιφώνιο τῶν λευκῶν καί ἡ ἀναλογία εἶναι 1 : 20. Ἡ προετοιμασία τοῦ αἵματος πάνω στήν πλάκα Neubauer γίνεται ὅπως καί στά ἐρυθρά. Ἡ ἀρίθμηση γίνεται στά τέσσερα γωνιακά τετράγωνα, πού κάθε ἕνα ἀποτελεῖται ἀπό 16 τετραγωνίδια, ἄρα γίνεται σέ 64 τετραγωνίδια.

Ἐφόσον ἔχομε ἀραίωση 1 : 20 ὁ ἀριθμός τῶν λευκῶν πού βρίσκεται πολλαπλασιάζεται μέ τό 50.

Πρέπει νά τονισθεῖ ὅτι τόσο στήν ἀρίθμηση τῶν ἐρυθρῶν ὅσο καί στήν ἀρίθμηση τῶν λευκῶν αἱμοσφαιρίων χρησιμοποιοῦμε ξηρό φακό. Ὁ ἀριθμός τῶν λευκῶν, πού βρίσκεται κατά τήν ἀρίθμηση, ἐκφράζεται κατά mm^3. Φυσιολογικές τιμές 6000-9000 κατά mm^3.

Ὑπολογισμός τῶν λευκῶν μπορεῖ νά γίνει καί ἀπό τόν αἱματοκρίτη καί συγκεκριμένα ἀπό τό ὕψος τῆς στιβάδας τῶν λευκῶν. Ἔτσι κάθε mm τῶν λευκῶν ἰσοῦται μέ 10.000 λευκά αἱμοσφαίρια ἀνά mm^3 αἵματος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

5.14 Λευκοκυτταρικός τύπος.

Λευκοκυτταρικός τύπος καλεῖται ἡ ἑκατοστιαία ἀναλογία τῶν λευκῶν αἱμοσφαιρίων τοῦ περιφερικοῦ αἵματος. Ὁ προσδιορισμός τοῦ λευκοκυτταρικοῦ τύπου γίνεται σέ χρωματισμένα ἐπιχρίσματα αἵματος. Τό ἐπίχρισμα γίνεται σέ ἀντικειμενοφόρο πλάκα μέ τή βοήθεια ἄλλης, ὅπως ἔχομε ἀναφέρει προηγουμένως. Στή συνέχεια τό ἐπίχρισμα χρωματίζεται κατά May-Grünwald-Giemsa ἤ Giemsa.

Χρειάζεται προσοχή στήν παρασκευή τοῦ ἐπιχρίσματος γιά νά μή δημιουργηθοῦν κενά. Γιά τόν προσδιορισμό τοῦ λευκοκυτταρικοῦ τύπου χρησιμοποιοῦμε καταδυτικό φακό. Ἡ μέτρηση τῶν λευκῶν αἱμοσφαιρίων γίνεται ἄν μετρήσομε 100 ἤ γιά μεγαλύτερη ἀκρίβεια 400 κύτταρα κατά μῆκος παραλλήλων γραμμῶν καί τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζεται ἐπί %. Ἡ μέτρηση διευκολύνεται μέ τή χρησιμοποίηση τῆς συσκευῆς λευκοκυτταρικοῦ τύπου μέ πλῆκτρα (Glay-Adams), πού δίνει αὐτόματα τό σύνολο καί τά ἐπί μέρους ποσοστά τῶν λευκῶν αἱμοσφαιρίων. Κατά τήν ἐξέταση τοῦ παρασκευάσματος ἐλέγχεται ταυτόχρονα καί ἡ μορφολογία τῶν λευκῶν.

Ὁ φυσιολογικός λευκοκυτταρικός τύπος εἶναι (πίνακας 5.14.1):

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.14.1
Λευκοκυτταρικός τύπος

Εἶδος κυττάρων	Ἑκατοστιαία ἀναλογία
Ραβδοπύρηνα	2 - 4
Πολυμορφοπύρηνα οὐδετερόφιλα	55 - 65
Πολυμορφοπύρηνα ἠωσινόφιλα	1 - 4
Πολυμορφοπύρηνα βασεόφιλα	0 - 0,5
Λεμφοκύτταρα	24 - 35
Μεγάλα μονοπύρηνα	2 - 6

5.15 Ἔκφραση σέ ἀπόλυτους ἀριθμούς.

Μεγάλη σημασία πρέπει νά ἀποδίδομε στόν ἀπόλυτο ἀριθμό τῶν λευκῶν καί ὄχι στό λευκοκυτταρικό τύπο, γιατί μόνο ἀπό τή μελέτη τοῦ λευκοκυτταρικοῦ τύπου θά προκύψουν σοβαρά λάθη. Ὁ ἀπόλυτος ἀριθμός τῶν διαφόρων λευκῶν βρίσκεται πολύ εὔκολα ἐφαρμόζοντας τήν ἁπλή μέθοδο τῶν τριῶν.

Παράδειγμα.

Ἄς ὑποθέσομε ὅτι βρέθηκαν 7000 λευκά καί 50% οὐδετερόφιλα. Ὁ ἀπόλυτος ἀριθμός τῶν οὐδετεροφίλων βρίσκεται ὡς ἑξῆς:

Στά 100 λευκά τά 50 εἶναι οὐδετερόφιλα
Στά 7000 λευκά $\times$ εἶναι τά οὐδετερόφιλα;

Σύμφωνα μέ τήν ἁπλή μέθοδο τῶν τριῶν θά ἔχομε:

$$x = \frac{50 \times 7000}{100} = 3500$$

Φυσιολογικά οἱ ἀπόλυτοι ἀριθμοί τῶν λευκῶν εἶναι (πίνακας 5.15.1):

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.15.1
Ἀπόλυτοι ἀριθμοί λευκῶν αἱμοσφαιρίων

Εἶδος κυττάρων	Ἀπόλυτος ἀριθμός
Ραβδοπύρηνα	100 - 400
Πολυμορφοπύρηνα οὐδετερόφιλα	3000 - 6000
Πολυμορφοπύρηνα ἠωσινόφιλα	50 - 250
Πολυμορφοπύρηνα βασεόφιλα	15 - 50
Λεμφοκύτταρα	1570 - 3000
Μεγάλα μονοπύρηνα	200 - 500

Ἐρωτήσεις.
1. Νά ἀναφέρετε τή χρώση May-Grünwald-Giemsa.
2. Πῶς μετροῦμε λευκά αἱμοσφαίρια;
3. Πῶς προσδιορίζεται ὁ λευκοκυτταρικός τύπος;
4. Πῶς προσδιορίζεται ὁ ἀπόλυτος ἀριθμός τῶν λευκῶν;

5.16 Μέτρηση αἱμοπεταλίων.

Ἡ μέτρηση τῶν αἱμοπεταλίων ἀποτελεῖ τήν πιό λεπτή ἐργασία ἀπό ὅλες τίς ἄλλες μετρήσεις τῶν ἐμμόρφων συστατικῶν τοῦ αἵματος καί αὐτό γιά δυό λόγους. Πρῶτα ἐπειδή τό μέγεθος τῶν αἱμοπεταλίων εἶναι μικρό καί δεύτερο ἐπειδή τά αἱμοπετάλια ἔχουν τήν ἰδιότητα νά συγκολλοῦνται καί νά δημιουργοῦν ἀθροίσματα. Ἡ μέτρηση μπορεῖ νά γίνει μέ ἄμεσες ἤ ἔμμεσες μεθόδους.

Ἔμμεση μέθοδος.

Ἡ πιό διαδεδομένη ἔμμεση μέθοδος, εἶναι ἡ μέθοδος τοῦ Fonio πού γίνεται σέ χρωματισμένο παρασκεύασμα μέ ταυτόχρονη μέτρηση καί τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων. Παίρνομε αἷμα ἀπό τή ράγα δακτύλου. Στό σημεῖο τῆς νύξεως τοποθετοῦμε μέ τή βοήθεια γυάλινου ραβδίου μιά σταγόνα διαλύματος θειϊκῆς μαγνησίας 14%. Πιέζομε ἐλαφρά στή ράγα καί ἀφήνομε νά τρέξει μικρή ποσότητα αἵματος μέσα στή σταγόνα τοῦ διαλύματος θειϊκῆς μαγνησίας 14%. Ἀναμιγνύομε καί ἀπό τό μίγμα αὐτό παρασκευάζομε ἐπίχρισμα. Ξηραίνομε τό ἐπίχρισμα, τό μονιμοποιοῦμε μέ μεθανόλη γιά 10 λεπτά καί τό χρωματίζομε μέ τή χρώση Giemsa. Τοποθετοῦμε τό παρασκεύασμα στό μικροσκόπιο καί κλίνομε τό διάφραγμα ἔτσι, ὥστε σέ κάθε ὀπτικό πεδίο νά ὑπάρχουν 30 - 40 ἐρυθρά. Μετροῦμε ἐρυθρά καί αἱμοπετάλια κατά ὀπτικό πεδίο καί ἡ μέτρηση σταματᾶ ὅταν ἔχομε μετρήσει 4000 ἐρυθρά μέ τά ἀντίστοιχα αἱμοπετάλια. Ἄς ὑποθέσομε ὅτι ἡ μέτρηση τῶν ἐρυθρῶν στήν πλάκα Neubauer ἔδωσε 5.000.000 ἀνά mm^3 ἐρυθρῶν. Καί ὅτι σέ 4000 ἐρυθρά τοῦ χρωματισμένου παρασκευάσματος μετρήθηκαν 240 αἱμοπετάλια. Ὁ ὑπολογισμός τῶν αἱμοπεταλίων ἀνά mm^3 αἵματος θά γίνει ὡς ἑξῆς:

Στά 4000 ἐρυθρά βρέθηκαν 240 αἱμοπετάλια
Στά 5.000.000 ἐρυθρά × αἱμοπετάλια ἀντιστοιχοῦν;

$$\frac{5\,000\,000 \times 240}{4000} = 300\,000\ mm^3$$

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἄμεση μέθοδος.

Ἀναρροφοῦμε αἷμα μέ τό σιφώνιο ἀραιώσεως τῶν ἐρυθρῶν ὥς τή χαραγή 0,5. Τό αἷμα τό παίρνομε καλύτερα ἀπό τή ράγα τοῦ δακτύλου. Στή συνέχεια καί ὥς τή χαραγή 101 ἀναρροφοῦμε ὑγρό ἀραιώσεως πού ἀποτελεῖται ἀπό κιτρικό νάτριο, διχλωριοῦχο ὑδράργυρο, κυανό τοῦ κρεζυλίου, οὐρία καί ἀποσταγμένο νερό. Μέ ἀνακίνηση ἀναμιγνύομε αἷμα καί ὑγρό ἀραιώσεως καί ἀπό τό διάλυμα αὐτό τοποθετοῦμε μιά σταγόνα μεταξύ καλυπτρίδας καί πλάκας Neubauer. Περιμένομε 20 λεπτά καί μετά μετροῦμε τά αἱμοπετάλια, ὅπως κάνομε καί τή μέτρηση τῶν ἐρυθρῶν, στά ἴδια τετράγωνα. Τόν ἀριθμό αἱμοπεταλίων πού βρίσκομε τόν πολλαπλασιάζομε μέ τό 10.000 καί ὁ ἀριθμός πού προκύπτει εἶναι ὁ ἀριθμός τῶν αἱμοπεταλίων ἀνά κυβικό χιλιοστό αἵματος.

Μέ τή μέθοδο αὐτή τά αἱμοπετάλια ἐμφανίζονται ὡς κυανοί διαθλαστικοί δίσκοι.

Ἐκτίμηση τοῦ ἐπιχρίσματος.

Τά αἱμοπετάλια στά χρωματισμένα παρασκευάσματα ἐμφανίζουν μορφή στρογγυλή, ὠοειδή, ἀστεροειδή κλπ. Εἶναι κύτταρα ἀπύρηνα πού περιβάλλονται ἀπό διπλή μεμβράνη. Τό κυτταρόπλασμά τους διακρίνεται σέ δύο ζῶνες, τό ὑαλόπλασμα καί τό κοκκιόπλασμα. Μέσα στό κυτταρόπλασμα ὑπάρχουν τέσσερα εἴδη κοκκίων. Κατά τή μελέτη τοῦ παρασκευάσματος μπορεῖ νά διαπιστωθεῖ μεταβολή στόν ἀριθμό καί στή μορφολογία τους. Ἐπί αὐξήσεως τοῦ ἀριθμοῦ ἔχομε ***θρομβοκυττάρωση,*** ἐνῶ ἐπί ἐλαττώσεως ***θρομβοπενία.***

Οἱ μορφολογικές διαταραχές πού μπορεῖ νά παρατηρηθοῦν εἶναι ἡ ἀνισοκύττωση, ἡ ἐμφάνιση δηλαδή γιγαντοκυττάρων αἱμοπεταλίων, ἡ ἐξαφάνιση τῶν κοκκίων ἀπό τό κυτταρόπλασμα καί ἡ ἀδυναμία τους νά ἀθροίζονται κατά σωρούς.

Οἱ διαταραχές αὐτές τοῦ ἀριθμοῦ καί τῆς μορφολογίας τῶν αἱμοπεταλίων, δημιουργοῦν πολλά αἱμορραγικά νοσήματα.

Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι: 200.000-300.000 ἀνά mm^3 στήν ἔμμεση
400.000-600.000 ἀνά mm^3 στήν ἄμεση ἀρίθμηση.

5.17 Μυελόγραμμα.

Στόν τέλειο ὀργανισμό, ἡ αἱμοποίηση γίνεται στόν ἐρυθρό μυελό τῶν ὀστῶν, ὅπου παράγονται τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια, τά λευκά αἱμοσφαίρια καί τά αἱμοπετάλια.

Τό μυελόγραμμα παριστάνει τήν ἑκατοστιαία ἀναλογία τῶν διαφόρων σταδίων ἐξελίξεως τῶν κυττάρων κάθε σειρᾶς, στό μυελό τῶν ὀστῶν. Ὁ προσδιορισμός τῆς ἐξελίξεως τῶν κυττάρων μιᾶς σειρᾶς ἀποτελεῖ τήν καλούμενη καμπύλη ὡριμάνσεως.

Τό μυελόγραμμα γίνεται μέ λήψη μυελικοῦ πολφοῦ μέ παρακέντηση κυρίως τοῦ στέρνου, ἀλλά καί ἄλλων ὀστῶν ὅπως τό λαγόνιο κλπ.

Μετά τήν παρακέντηση τοποθετεῖται ὁ μυελός πάνω στήν ἀντικειμενοφόρο πλάκα, πού πρέπει νά εἶναι καλά καθαρισμένη μέ μίγμα οἰνοπνεύματος καί αἰθέρα. Ὅταν τοποθετηθεῖ ὁ μυελός στήν πλάκα, τήν γέρνομε ἐλαφρά ὥστε τό αἷμα πού τυχόν ὑπάρχει νά ρεύσει καί νά ἀπομακρυνθεῖ. Ἔτσι πάνω στήν πλάκα θά παρα-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

μείνουν στοιχεῖα τοῦ μυελοῦ, τά ὁποῖα στή συνέχεια παίρνομε σέ μικρές ποσότητες καί τά κάνομε ἐπιχρίσματα σέ ἄλλες ἀντικειμενοφόρες πλάκες. Ἀφήνομε τίς πλάκες νά ξεραθοῦν, μονιμοποιοῦμε μέ μεθανόλη ἐπί 15 λεπτά, καί χρωματίζομε μέ τή χρώση May-Grunwald-Giemsa γιά 10 λεπτά. Οἱ πλάκες μετά τή χρώση εἶναι ἕτοιμες γιά νά μικροσκοπηθοῦν. Κατά τή μικροσκόπηση ἐκτός ἀπό τήν ἑκατοστιαία ἀναλογία τῶν κυττάρων, ἀναζητοῦνται ἡ κυτταροπλήθεια, ἡ παρουσία νεοπλασματικῶν κυττάρων, λίπους, ἡ παρουσία μεγάλων πυρηνίων στούς πυρῆνες τῶν ἀώρων κυττάρων, ἡ μεγάλη βασεοφιλία τοῦ πρωτοπλάσματος, ἡ ἀνεύρεση διαφόρων μή φυσιολογικῶν κυττάρων κλπ. (πίνακας 5.17.1).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.17.1

Ἑκατοστιαία ἀναλογία τῶν κυττάρων τοῦ φυσιολογικοῦ μυελογράμματος

Εἶδος κυττάρων	Ἀναλογία %
Μυελοβλάστες	0,5-50
Προμυελοκύτταρα	1-10
Μυελοκύτταρα οὐδετερόφιλα	4-20
Μυελοκύτταρα ἠωσινόφιλα	0,5-3
Μυελοκύτταρα βασεόφιλα	00-0,5
Μεταμυελοκύτταρα οὐδετερόφιλα	4-18
Μεταμυελοκύτταρα ἠωσινόφιλα	0,5-20
Μεταμυελοκύτταρα βασεόφιλα	00-05
Ραβδοπύρηνα οὐδετερόφιλα	5-25
Ραβδοπύρηνα ἠωσινόφιλα	05-20
Ραβδοπύρηνα βασεόφιλα	00-0,5
Πολυμορφοπύρηνα οὐδετερόφιλα	8-30
Πολυμορφοπύρηνα ἠωσινόφιλα	0,5-2
Πολυμορφοπύρηνα βασεόφιλα	00-05
Προερυθροβλάστες	0,5-2
Ἄωροι νορμοβλάστες	0,5-3
Ἡμιώριμοι νορμοβλάστες	5-13
Ὥριμοι νορμοβλάστες	2-10
Λεμφοκύτταρα	3-20
Μεγάλα μονοπύρηνα	00-5
Πλασματοκύτταρα	00-3
Δικτυοκύτταρα	00-2
Μεγακαρυοκύτταρα	00-2
Κύτταρα σέ μίτωση	01-0,5

Μεγάλη διαγνωστική σημασία ἔχει καί ἡ σχέση τοῦ συνόλου τῶν κυττάρων τῆς λευκῆς μυελικῆς σειρᾶς (G), πρός τό σύνολο τῶν ἐμπύρηνων κυττάρων τῆς ἐρυθρῆς σειρᾶς (E). Φυσιολογικά ἡ σχέση αὐτή ἰσοῦται μέ 2-4:1.

Ἐπίσης τό ἄθροισμα τῶν κυττάρων τῆς λευκῆς μυελικῆς σειρᾶς καί τῆς ἐρυ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

θρῆς σειρᾶς, φυσιολογικά εἶναι μεγαλύτερο ἀπό τό 80% τῶν κυττάρων.

$$\frac{G}{E} = \frac{2\text{-}4}{1} \qquad \text{καί} \qquad G + E > 80\%$$

Ἀπό τό ἀποτέλεσμα τῆς μικροσκοπήσεως ὁ μυελός μπορεῖ νά πάρει διάφορους χαρακτηρισμούς, πού ἀναφέρονται παρακάτω καί πού ἔχουν μεγάλη διαγνωστική ἀξία. Οἱ χαρακτηρισμοί τοῦ μυελοῦ, ὅπως καί τυχόν ἀνεύρεση ἄλλων παθολογικῶν στοιχείων, ἀναφέρονται μετά ἀπό τήν ἑκατοστιαία ἀναλογία τῶν κυττάρων στό ἔντυπο ἀπαντήσεως ἀπό τόν ἐργαστηριακό πού μελέτησε τό μυελόγραμμα, ὡς παρατηρήσεις.

Χαρακτηρισμοί μυελοῦ.

1. Μυελός φυσιολογικός.
2. Μυελός ὑπερπλαστικός.
3. Μυελός ὑποπλαστικός.
4. Μυελός μυελοβλαστικός, διηθημένος δηλαδή ἀπό μυελοβλάστες.
5. Μυελός μυελοκυτταρικός, ἐπικρατοῦν δηλαδή τά μυελοκύτταρα.
6. Μυελός ἀπλαστικός (ὑπάρχει ἔλλειψη ὅλων τῶν στοιχείων αὐτοῦ).
7. Μυελός νορμοβλαστικός. Ἐπικρατοῦν ὡς πρός τήν ἐρυθρή σειρά οἱ νορμοβλάστες.
8. Μυελός ἐρυθραιμικός. Ἐπικρατοῦν σ' ὅλο τό μυελό ἄωρες μορφές ἐρυθρῆς σειρᾶς.
9. Μυελός λεμφοβλαστικός, διηθημένος δηλαδή ἀπό λεμφοβλάστες.
10. Μυελός μεγαλοβλαστικός, ἐπικρατοῦν δηλαδή οἱ μεγαλοβλάστες κλπ.

Ἐρωτήσεις.

1. Πῶς μετροῦμε τά αἱμοπετάλια;
2. Ποιές μορφολογικές διαταραχές παρουσιάζουν τά αἱμοπετάλια;
3. Πῶς γίνεται τό μυελόγραμμα;
4. Ποιούς χαρακτηρισμούς μποροῦμε νά δώσομε στό μυελόγραμμα;

5.18 Βιοχημεία αἱμοσφαιρίνης (Hb).

Γενικά περί αἱμοσφαιρίνης — Ἠλεκτροφόρηση.

Ἡ αἱμοσφαιρίνη εἶναι μιά χρωμοπρωτεΐδη καί ἀποτελεῖται ἀπό σφαιρίνη καί αἷμη. Πιό συγκεκριμένα τό μόριο τῆς αἱμοσφαιρίνης ἀποτελεῖται ἀπό μία σφαιρίνη καί τέσσερις αἷμες. Ἡ αἷμη σέ ὅλα τά εἴδη τῆς αἱμοσφαιρίνης ἔχει τήν ἴδια σύνθεση καί ἀποτελεῖται ἀπό ἕνα δακτύλιο πορφυρίνης, στό κέντρο τοῦ ὁποίου ὑπάρχει ἕνα ἄτομο σιδήρου.

Ἀντίθετα ἡ σφαιρίνη διαφέρει σέ κάθε εἶδος αἱμοσφαιρίνης καί ἀποτελεῖται ἀπό τέσσερις πολυπεπτιδικές ἁλύσους καί κάθε μία ἄλυσος ἀποτελεῖται ἀπό ἀμινοξέα. Οἱ πολυπεπτιδικές ἁλύσεις εἶναι ὅμοιες ἀνά δύο καί διακρίνομε ἔτσι δύο ζεύγη

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ἀλύσεων, πού χαρακτηρίζονται μέ γράμματα α, β, γ κλπ. Ἡ φυσιολογική αἱμοσφαιρίνη τῶν ἐνηλίκων χαρακτηρίζεται ὡς $\alpha_2 \beta_2$. Τό ζεῦγος α τῶν ἀλύσεων ἀποτελεῖται ἀπό 141 ἀμινοξέα, ἐνῶ τά ἄλλα ζεύγη ἀπό 146 ἀμινοξέα. Αἱμοσφαιρίνης ὑπάρχουν διάφορα εἴδη.

Αἱμοσφαιρίνη A (φυσιολογική τοῦ ἐνήλικα)
Αἱμοσφαιρίνη F (ἐμβρυϊκή)
Αἱμοσφαιρίνη S (δρεπανοκυτταρικῆς ἀναιμίας)
Αἱμοσφαιρίνη A_2
Αἱμοσφαιρίνη H
καί διάφορα ἄλλα εἴδη αἱμοσφαιρίνης, ὅπως τά C, E, D, K, G, I, J, L, πού εἶναι σπάνια στήν Ἑλλάδα.

Ὁ διαχωρισμός καί ὁ χαρακτηρισμός τῶν αἱμοσφαιρινῶν γίνεται μέ τήν ἠλεκτροφόρηση (σχ. 5.18). Ἰσχύουν σέ γενικές γραμμές τά ἴδια μέ τήν ἠλεκτροφόρηση τῶν λευκωμάτων, γιατί ἡ αἱμοσφαιρίνη περιέχει, ὅπως ἀναφέραμε, στό μόριό της τή σφαιρίνη, πού εἶναι λεύκωμα. Οἱ παράγοντες πού ἐπιδροῦν στή μετακίνηση καί τό διαχωρισμό τῶν αἱμοσφαιρινῶν, ἐκτός ἀπό ἠλεκτρικό φορτίο εἶναι:

α) τό pH τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος.
β) Ἡ ἰσχύς διαστάσεως σέ ἰόντα τοῦ ρυθμιστικοῦ διαλύματος καί
γ) τό ὑλικό βάσεως.

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ"
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΟΝΟΜΑ .....
ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. .....

Φυσιολογικαὶ Αἱμοσφαιρῖναι A .....
A2 ..... % (Φ. Τ. 1,9 - 3,5%)
F ..... % (Φ. Τ. 0 - 1,5%)

Παθολογικαὶ Αἱμοσφαιρῖναι S .....
H .....

Δοκιμασία Δρεπανώσεως
Δοκιμασία Ἀσταθοῦς Αἱμοσφαιρίνης
Ἐνδοερυθροκυτταρικά Ἔγκλειστα

Ἡμερομηνία : .....
Ὑπογραφή

Ὑωλδ. Ε - 1/6

5. ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΤΟΓΡΑΦΗΜΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

Σχ. 5.18.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως ἠλεκτροφορήσεως αἱμοσφαιρίνης.

Στήν ἠλεκτροφόρηση αἱμοσφαιρίνης χρησιμοποιοῦμε:

α) Ρυθμιστικό διάλυμα μέ pH 8,9.
β) Διάλυμα αἱμοσφαιρίνης πού παρασκευάζομε (παίρνομε αἷμα μέ ἀντιπηκτικό καί τό φυγοκεντροῦμε. Τά λευκά αἱμοσφαίρια καί τό πλάσμα τά πετᾶμε, ἐνῶ τά ἐρυθρά πλένονται δύο φορές μέ ἰσότονο διάλυμα NaCl. Μετά ἀνακατεύο-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.18.1

Φυσιολογικές τιμές ἐμμόρφων συστατικῶν τοῦ αἵματος

ΕΞΕΤΑΣΗ		ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
Ἐρυθρά αἱμοσφαίρια	ἄνδρες γυναῖκες	4.600.000 - 6.000.000 ἀνά mm^3 4.200.000 - 5.000.000 ἀνά mm^3
Αἱμοσφαιρίνη	ἄνδρες γυναῖκες	14,5 - 18 g % 12,5 - 16 g %
Αἱματοκρίτης	ἄνδρες γυναῖκες	40 - 52% 37 - 47 %
Μέσος ὄγκος ἐρυθρῶν (M.C.V.)		82 - 92 κ.μ.
Ποσό αἱμοσφαιρίνης κατά ἐρυθρό (M.C.H.)		27 - 32 γγ
Μέση πυκνότητα αἱμοσφαιρίνης κατά ἐρυθρό (M.C.H.C.)		22 - 36 %
Αἱμοσφαιρινική ἀξία ἤ αἱμοσφαιρινικός δείκτης		0,9 - 1,1
Δικτυοερυθροκύτταρα		0,5 - 2%
Ταχύτητα καθιζήσεως ἐρυθρῶν	ἄνδρες γυναῖκες	2 - 10 mm τήν πρώτη ὥρα 6 - 14 mm τήν πρώτη ὥρα
Ἀντίσταση ἐρυθρῶν		Ἀρχή αἱμολύσεως 0,42 - 0,46% NaCl Τέλος αἱμολύσεως 0,28 - 0,32% NaCl
Ὄγκος αἵματος	ἄνδρες γυναῖκες	75 cm^3/kg σωματικοῦ βάρους 67 cm^3/kg σωματικοῦ βάρους
Ὄγκος πλάσματος	ἄνδρες γυναῖκες	44 cm^3/kg σωματικοῦ βάρους 43 cm^3/kg σωματικοῦ βάρους
Χρόνος ἐπιβιώσεως ἐρυθρῶν (G_2^{51})		Χρόνος ὑποδιπλασιασμοῦ 25-35 ἡμέρες
Αἱμοπετάλια		200.000 - 300.000 κατά mm^3
Λευκά αἱμοσφαίρια		5000 - 9000 κατά mm^3
Λευκοκυτταρικός τύπος:		Ἐκατοστιαία ἀναλογία / Ἀπόλυτος ἀριθμός
Ραβδοπύρηνα		2 - 4 / 100 - 400
Οὐδετερόφιλα		55 - 65 / 3000 - 6000
Ἠωσινόφιλα		1 - 4 / 50 - 250
Βασεόφιλα		0 - 0,5 / 15 - 50
Λεμφοκύτταρα		24 - 35 / 1500 - 3000
Μεγάλα μονοπύρηνα		2 - 6 / 250 - 500

με ἕναν ὄγκο πλυμένων ἐρυθρῶν, ἕναν ὄγκο ἀποσταγμένου νεροῦ καί μισό ὄγκο χλωροφόρμιο ἤ τολουόλιο καί τό διάλυμα, ἀφοῦ τό ἀναταράξομε καλά, τό φυγοκεντροῦμε γιά 20 λεπτά στίς 2000 στροφές) καί

γ) διηθητικό χαρτί τύπου Whatman No 3.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Τοποθετοῦμε τό ρυθμιστικό διάλυμα στή λεκάνη τῆς συσκευῆς καί βαπτίζομε τό διηθητικό χαρτί μέσα σ' αὐτό. Μετά στραγγίζομε τό βρεγμένο διηθητικό χαρτί ἀνάμεσα σέ δύο ἄλλα φύλλα διηθητικοῦ χαρτιοῦ καί τό τοποθετοῦμε στήν ἠλεκτροφορητική λεκάνη. Γιά μιά ὥρα ἀφήνομε ρεῦμα νά περάσει ἀπό τό διηθητικό χαρτί. Τοποθετοῦμε μέ μικροσιφώνιο 0,015 ml ἀπό τό διάλυμα τῆς αἰμοσφαιρίνης στό σημεῖο πού ἔχομε καθορίσει καί διοχετεύομε ρεῦμα γιά 16-20 ὧρες. Στή συνέχεια ἀφαιροῦμε τήν ταινία, τήν ξηραίνομε καί τήν τοποθετοῦμε σέ κλίβανο μέ θερμοκρασία 110°C ἐπί 10 λεπτά. Ἡ ταινία εἶναι ἕτοιμη γιά ἀνάγνωση.

Μεταβολισμός τῆς αἱμοσφαιρίνης.

Τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια αἱμολύονται στά κύτταρα τοῦ δικτυοενδοθηλιακοῦ συστήματος καί ἡ αἱμοσφαιρίνη διασπᾶται σέ χολοπρασίνη πού γρήγορα ἀνάγεται σέ χολερυθρίνη, σέ σφαιρίνη καί σίδηρο. Ἡ σφαιρίνη τῆς αἱμοσφαιρίνης μεταφέρεται στήν κοινή δεξαμενή τῶν σφαιρινῶν προκειμένου τά ἀμινοξέα της νά χρησιμοποιηθοῦν γιά τή σύνθεση νέων πρωτεϊνῶν. Ὁ σίδηρος δέν ἀποβάλλεται ἀλλά μέ τήν κυκλοφορία τοῦ αἵματος μεταφέρεται στό μυελό τῶν ὀστῶν, ὅπου χρησιμοποιεῖται καί πάλι γιά τή σύνθεση νέας αἱμοσφαιρίνης. Ἡ χολερυθρίνη, ἀδιάλυτη στό νερό, μεταφέρεται μέ τήν κυκλοφορία στό ἧπαρ, συνδεμένη χαλαρά μέ λευκώματα. Στό ἧπαρ ἀποχωρίζεται ἀπό τά λευκώματα καί μέ τή δράση εἰδικῶν τρανσφερασῶν συνδέεται μέ τό γλυκουρονικό ἤ τό θειϊκό ὀξύ καί μετατρέπεται σέ ἄμεση χολερυθρίνη, ἡ ὁποία μέ τή χολή ἀπεκκρίνεται στό ἔντερο.

Ἐρωτήσεις.

1. Πόσα εἴδη αἱμοσφαιρίνης γνωρίζετε;
2. Ἀπό τί ἀποτελεῖται ἡ αἱμοσφαιρίνη;
3. Πῶς γίνεται ὁ μεταβολισμός τῆς HB;
4. Πῶς γίνεται ἡ ἠλεκτροφόρηση HB;

5.19 Δοκιμασίες πήξεως αἵματος.

Γιά νά ἐλέγξομε τήν πηκτικότητα τοῦ αἵματος χρησιμοποιοῦμε διάφορες δοκιμασίες (πίνακας 5.19.1).

5.19.1 Χρόνος ροῆς.

Χρόνος ροῆς αἵματος εἶναι ὁ χρόνος πού μεσολαβεῖ, ἀπό τή στιγμή πού θά ἀρχίσει ἡ αἱμορραγία, ὅταν κόψομε ἐλαφρά τό λοβό τοῦ αὐτιοῦ μέ μαχαιρίδιο ἤ βελόνα Frank, ὥσπου νά σταματήσει. Δηλαδή τό χρονικό διάστημα ἀπό τήν ἐμφάνιση τῆς πρώτης σταγόνας αἵματος ὡς τή λήψη τῆς τελευταίας σταγόνας σέ τεμάχιο διηθητικοῦ χαρτιοῦ.

Ὁ προσδιορισμός τοῦ χρόνου ροῆς μέ τή μέθοδο Duke ἔχει ὡς ἑξῆς:

Ἀπολυμαίνομε τό λοβό τοῦ αὐτιοῦ μέ ἀλκοόλη καί μέ μιά βελόνα Frank κάνομε μικρή τομή. Ἀρχίζει τότε ἡ ροή τοῦ αἵματος κατά σταγόνες. Σημειώνομε τό χρόνο πού ἐμφανίσθηκε ἡ πρώτη σταγόνα. Οἱ σταγόνες πού ἐξέρχονται στή συνέχεια ἀπορροφοῦνται ἀπό τό κομμάτι τοῦ διηθητικοῦ χαρτιοῦ μέ προσοχή γιά νά μήν ἔρθει σέ ἐπαφή τό χαρτί μέ τό τραῦμα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.19.1
Φυσιολογικές τιμές τῶν δοκιμασιῶν ἐλέγχου τῶν αἱμορραγικῶν διαθέσεων

ΕΞΕΤΑΣΗ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
Αἱμοπετάλια	200.000 - 300.000 ἀνά mm^3 κατά τήν ἔμμεση ἀρίθμηση 400.000 - 600.000 ἀνά mm^3 κατά τήν ἄμεση ἀρίθμηση
Χρόνος ροῆς	2 - 4 λεπτά κατά Duke
Χρόνος πήξεως	6 - 12 λεπτά σέ θερμοκρασία 37° C 6 - 18 λεπτά σέ θερμοκρασία δωματίου
Συστολή θρόμβου	Ἔναρξη μετά μία ὥρα Συμπλήρωση μετά 18 ὧρες
Χρόνος πήξεως τοῦ πλάσματος μετά τήν προσθήκη ἀσβεστίου	2 - 4 λεπτά
Χρόνος προθρομβίνης τοῦ πλάσματος	11 - 13 δευτερόλεπτα
Χρόνος προθρομβίνης τοῦ ὁροῦ	Πάνω ἀπό 20 λεπτά
Δοκιμασία ἀνοχῆς τῆς ἡπαρίνης	1ο σωληνάριο 1 - 3 λεπτά 2ο σωληνάριο 3 - 5,5 λεπτά 3ο σωληνάριο 6 - 9 λεπτά 4ο σωληνάριο 9 - 14 λεπτά
Δοκιμασία περιδέσεως τοῦ βραχίονα	Ἀρνητική (λιγότερες ἀπό 5 πετέχειες σέ ἔκταση διαμέτρου 5 cm)

Ἡ λήψη καί τῆς τελευταίας σταγόνας, ἀποτελεῖ τό τέλος τῆς δοκιμασίας καί σημειώνομε πάλι τό χρόνο. Ἡ φυσιολογική τιμή κυμαίνεται ἀπό 2-4 λεπτά.

5.19.2 Χρόνος πήξεως.

Χρόνος πήξεως τοῦ αἵματος εἶναι ὁ χρόνος, πού περνᾶ ἀπό τή στιγμή τῆς ἐξαγγειώσεως τοῦ αἵματος, ὥς τή στιγμή τοῦ σχηματισμοῦ τοῦ ἰνώδους, τή στιγμή δηλαδή πού συμπληρώνεται ἡ πήξη τοῦ αἵματος. Οἱ φυσιολογικές τιμές τοῦ χρόνου πήξεως ποικίλλουν ἀνάλογα μέ τή μέθοδο πού χρησιμοποιοῦμε.

α) Χρόνος πήξεως σέ πλάκα.

Σέ καθαρή πλάκα τοποθετοῦμε μερικές σταγόνες αἵματος ἀπό τή ράγα τοῦ δακτύλου. Γιά νά γίνει σωστά ἡ δοκιμασία, πρέπει τό μέγεθος τῆς διαμέτρου τῶν σταγόνων νά εἶναι περίπου 5 mm καί ἡ δοκιμασία νά γίνει σέ θερμοκρασία δωματίου. Κατά μικρά χρονικά διαστήματα, βαπτίζομε τό ἄκρο μιᾶς βελόνας μέσα σέ κάθε σταγόνα. Θεωροῦμε ὅτι ἡ πήξη ἔγινε, ἄν ἀπό τό ἄκρο τῆς βελόνας παρασύρονται ἶνες ἰνικῆς. Ὁ χρόνος πού θά περάσει ἀπό τή στιγμή πού θά τοποθετήσομε τίς σταγόνες στήν πλάκα, ὥς τή στιγμή πού στήν πρώτη σταγόνα θά ἐμφανισθοῦν ἶνες ἰνικῆς, καλεῖται χρόνος πήξεως.

Ἡ φυσιολογική τιμή τοῦ χρόνου πήξεως μέ τή δοκιμασία αὐτή εἶναι 2-4 λεπτά.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

β) Χρόνος πήξεως κατά Lee-White ἤ τῶν τριῶν σωληναρίων.

Παίρνομε 5 ml φλεβικοῦ αἵματος καί προσέχομε νά μήν δημιουργηθοῦν φυσαλίδες μέσα στή σύριγγα. Ἡ μέτρηση τοῦ χρόνου ἀρχίζει μέ τήν εἴσοδο τοῦ αἵματος στή σύριγγα. Τοποθετοῦμε ἀπό 1 ml αἵματος μέσα στά τρία μικρά δοκιμαστικά σωληνάρια καί προσέχομε κατά τήν τοποθέτηση τοῦ αἵματος, αὐτό νά μήν τρέξει ἐπάνω στά τοιχώματα τῶν σωληναρίων.

Μετά ἀπό 3-4 λεπτά ἐλέγχομε τό πρῶτο σωληνάριο γέρνοντάς το μέ κλίση 45 μοιρῶν. Αὐτό τό ἐπαναλαμβάνομε ὥσπου νά πήξει τό αἷμα στό πρῶτο σωληνάριο, δηλαδή ὥσπου νά μήν τρέξει αἷμα κατά τήν κλίση τοῦ σωληναρίου. Στή συνέχεια ἐλέγχομε τό δεύτερο σωληνάριο μέ κλίση γωνίας 90 μοιρῶν καί ἄν διαπιστώσομε πήξη, ἐξακολουθοῦμε μέ τόν ἴδιο τρόπο καί στό τρίτο σωληνάριο. Ὁ χρόνος πήξεως στό τρίτο σωληνάριο εἶναι ὁ χρόνος πήξεως πού ζητᾶμε.

Ἡ φυσιολογική τιμή κυμαίνεται ἀπό 6-12 λεπτά σέ θερμοκρασία 37°C καί ἀπό 6-18 λεπτά σέ θερμοκρασία δωματίου.

5.19.3 Συστολή τοῦ θρόμβου.

Ἡ δοκιμασία τῆς συστολῆς τοῦ θρόμβου, ἀκολουθεῖ τή δοκιμασία πήξεως. Οἱ σωλῆνες μέ τό αἷμα διατηροῦνται 4 ὧρες στό ὑδατόλουτρο μέ 37°C ἤ στή θερμοκρασία δωματίου. Τό αἷμα μετά τήν πήξη του μέσα στό σωλήνα μεταπίπτει σέ ἕνα σύνολο πού ἀποτελεῖ τό θρόμβο. Ὁ θρόμβος στή συνέχεια ἀρχίζει νά συστέλλεται, μέ ἀποτέλεσμα νά ἀποκολλᾶται σιγά-σιγά ἀπό τά τοιχώματα τοῦ σωλήνα, ἐνῶ ταυτόχρονα ἐλευθερώνεται ὁ ὀρός. Στή δοκιμασία αὐτή μετροῦμε τό χρόνο πού θά περάσει ἀπό τή στιγμή πού θά γίνει ἡ πήξη τοῦ αἵματος, ὡς τή στιγμή πού γίνεται ἡ συστολή τοῦ θρόμβου καί ἐλευθερώνεται ὁ ὀρός.

Φυσιολογικά ἡ συστολή τοῦ θρόμβου ἀρχίζει μία ὥρα μετά τήν πήξη τοῦ αἵματος καί συμπληρώνεται μέσα σέ 18 ὧρες.

Μέ τή δοκιμασία λοιπόν αὐτή, ἐλέγχομε τήν ὕπαρξη συστολῆς τοῦ θρόμβου, τό χρόνο συστολῆς καθώς καί τήν ποσότητα καί τή χροιά τοῦ ὀροῦ πού ἐλευθερώνεται (κόκκινος, ρόδινος, κίτρινος, ἰκτερικός).

Ὁ χρόνος ἀποδόσεως τοῦ ὀροῦ καί ἡ ποσότητά του ἐλέγχεται μέ τόν ποσοτικό προσδιορισμό κατά Izarn-Pazeirac.

Ἐπιμηκύνομε τό κλειστό ἄκρο αἱμολυτικοῦ σωληναρίου, μέ τή βοήθεια φλόγας. Τοποθετοῦμε μέσα στό σωληνάριο γυάλινο σφαιρίδιο μέ μικρότερη διάμετρο ἀπό τή διάμετρο τοῦ σωληναρίου, τοποθετοῦμε 2 ml αἷμα καί τό ἀφήνομε σέ κάθετη θέση γιά νά πήξει. Ὅταν περάσει μισή ὥρα ἀπό τήν πήξη τοῦ αἵματος, κόβομε τό ἄκρο τοῦ σωληναρίου πού ἐπιμηκύναμε. Ἔτσι δημιουργεῖται λεπτό στόμιο. Φέρνομε τό σωληνάριο πάνω ἀπό σωλήνα Wintrobe. Ὁ ὀρός πού ἐλευθερώνεται ἀπό τό θρόμβο πέφτει μέσα στό σωλήνα Wintrobe, ἐνῶ τό πῆγμα παραμένει μέσα στό σωληνάριο γιατί συγκρατεῖται ἀπό τό γυάλινο σφαιρίδιο.

Κάθε δεκαπέντε λεπτά καί ἐπί 3 ὧρες σημειώνομε τήν ποσότητα τοῦ ὀροῦ πού πέφτει μέσα στό σωλήνα Wintrobe καί βγάζομε τό δείκτη:

$$\text{Δείκτης} = \frac{\text{Ποσότητα ὀροῦ τήν 1η ὥρα}}{\text{Ποσότητα ὀροῦ τήν 3η ὥρα}}$$

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ὁ φυσιολογικός δείκτης εἶναι 70-100 καί ἀντιστοιχεῖ σέ 140.000 αἱμοπετάλια καί ἄνω.

5.19.4 Χρόνος θρομβίνης.

Γιά τή δοκιμασία αὐτή χρησιμοποιοῦμε:

α) πλάσμα αἵματος πού τό παίρνομε μέ κιτρικό νάτριο 3,8% καί

β) θρομβίνη πού ὑπάρχει στό ἐμπόριο.

Ἡ θρομβίνη τοῦ ἐμπορίου εἶναι βόεια καί κάθε φιαλίδιο περιέχει 5000 μονάδες κατά ml βόειας θρομβίνης. Ἡ θρομβίνη αὐτή ἀραιώνεται μέ χλωριοῦχο νάτριο 9‰ σέ τελική ἀραίωση 50 μονάδες κατά ml.

Σέ σωληνάριο αἱμολύσεως πού βρίσκεται σέ ὑδατόλουτρο θερμοκρασίας 37°C, τοποθετοῦμε 0,2 ml ἀπό τό πλάσμα πού πρόκειται νά ἐξετάσομε καί 0,1 ml ἀπό τό τελικό διάλυμα τῆς θρομβίνης. Προσδιορίζομε στή συνέχεια τό χρόνο πήξεως. Ἡ δοκιμασία ἐκτελεῖται παράλληλα καί μέ μάρτυρα πλάσματος.

5.19.5 Χρόνος προθρομβίνης τοῦ πλάσματος ἤ χρόνος Quik.

Χρόνος προθρομβίνης τοῦ πλάσματος εἶναι ὁ χρόνος πού περνᾶ ἀπό τή στιγμή πού στό δοκιμαστικό σωλήνα, πού περιέχει τό ὑπό ἐξέταση πλάσμα, προσθέσομε ἕτοιμη θρομβοπλαστίνη τοῦ ἐμπορίου καί ἀσβέστιο ὥς τήν ἐμφάνιση τοῦ δικτύου τοῦ ἰνώδους. Ὁ χρόνος αὐτός σέ φυσιολογικά ἄτομα κυμαίνεται ἀπό 11-14 sec.

Γιά τή δοκιμασία χρησιμοποιοῦμε θρομβοπλαστίνη καί διάλυμα χλωριούχου ἀσβεστίου πού ὑπάρχουν ἕτοιμα στό ἐμπόριο. Ἡ χρησιμοποίησή τους γίνεται σύμφωνα μέ τίς ὁδηγίες τοῦ οἴκου παρασκευῆς.

Παίρνομε αἷμα μέ ἀντιπηκτικό Wintrobe καί τό φυγοκεντροῦμε 5 λεπτά στίς 1500 στροφές. Στή συνέχεια παίρνομε τό πλάσμα καί τοποθετοῦμε σέ αἱμολυτικό σωληνάριο 0,1 ml ἀπό αὐτό. Σέ ἄλλο σωληνάριο βάζομε πλάσμα φυσιολογικοῦ ἀνθρώπου. Καί στά δύο σωληνάρια προσθέτομε 0,1 ml θρομβοπλαστίνη. Τοποθετοῦμε τά δύο σωληνάρια μέσα στό ὑδατόλουτρο μέ θερμοκρασία 37°C καί τά ἀφήνομε τόσο χρονικό διάστημα, ὅσο χρειάζεται γιά νά πάρουν τά διαλύματα τή θερμοκρασία τῶν 37°C. Προσθέτομε στόν πρῶτο σωλήνα 0,1 ml διάλυμα χλωριούχου ἀσβεστίου ἐνῶ ταυτόχρονα βάζομε σέ λειτουργία τό χρονόμετρο. Ὁ σωλήνας ἀνακινεῖται καί παρατηρεῖται συνεχῶς, ὥσπου νά πήξει τό περιεχόμενό του. Τή στιγμή αὐτή διακόπτεται ἡ χρονομέτρηση καί σημειώνεται ὁ χρόνος. Τό ἴδιο ἐπαναλαμβάνομε καί στό δεύτερο σωλήνα. Τά ἀποτελέσματα ἐκφράζονται ὡς ἑξῆς:

Χρόνος μάρτυρα 12″

Χρόνος ἀσθενῆ 17″

Ἐρωτήσεις.

1. Πῶς προσδιορίζεται ὁ χρόνος ροῆς;
2. Πῶς προσδιορίζεται ὁ χρόνος πήξεως;
3. Νά ἀναφέρετε τόν προσδιορισμό τῆς συστολῆς θρόμβου.
4. Πῶς προσδιορίζεται ὁ χρόνος Quik;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

6.1 Γενικά περί ἀντιγόνων, ἀντισωμάτων καί ὀρολογικῶν ἐξετάσεων.

Ἀντιγόνο, ὅπως εἶναι γνωστό, ὀνομάζεται κάθε οὐσία πού εἰσέρχεται παρεντερικά στόν ὀργανισμό καί προκαλεῖ τό σχηματισμό ***ἀντισώματος*** μέ τό ὁποῖο μπορεῖ νά ἀντιδρᾶ εἰδικῶς. Τά συνηθέστερα ἀντιγόνα εἶναι πρωτεΐνες, ἐνῶ τά ἀντισώματα εἶναι τροποποιημένες σφαιρίνες τοῦ ὀροῦ. Τά ἀντισώματα μπορεῖ νά εἶναι εἰδικά, νά συνδέονται δηλαδή μόνο μέ εἰδικά ἀντιγόνα ἤ μή εἰδικά, ὁπότε μπορεῖ νά συνδεθοῦν μέ διάφορα ἀντιγόνα.

Ἀπτίνες ἤ ***μερικά ἀντιγόνα*** ὀνομάζονται οἱ οὐσίες πού δέν προκαλοῦν τή δημιουργία ἀντισωμάτων στόν ὀργανισμό, ἀλλά μποροῦν νά ἀντιδράσουν in vitro μέ τά ἀντισώματα. Οἱ διάφοροι μικροοργανισμοί δροῦν σάν ἀντιγόνα, εἴτε στό σύνολό τους εἴτε καί τμηματικά, μέ ἀντιγονικά στοιχεῖα πού ὑπάρχουν πάνω ἤ μέσα στό σῶμα τους (σωματικά ἀντιγόνα), στίς βλεφαρίδες τους (βλεφαριδικά ἀντιγόνα), στό περίβλημά τους (ἀντιγόνα Κ).

Ὅπως εἶναι γνωστό ἀπό τήν ἀνοσολογία, τά ἀντισώματα χαρακτηρίζονται ἀνάλογα μέ τήν ἀντίδρασή τους μέ τό ἀντιγόνο ὡς ἀντιτοξίνες, ἰζηματίνες, συγκολλητίνες, λυσίνες, ἀντισώματα πού συνδέουν τό συμπλήρωμα, ἐξουδετερωτικά ἀντισώματα, ἀνασταλτικά ἀντισώματα, ὀψωνίνες.

Οἱ διάφορες ἀντιδράσεις ἀντιγόνου καί ἀντισώματος ἐφαρμόζονται πρακτικά στίς ὀρολογικές ἀντιδράσεις, δηλαδή στίς δοκιμασίες in vitro, μέ τή χρησιμοποίηση ὀροῦ ἀσθενῆ ἤ ζώου πού ἔχει ἀνοσοποιηθεῖ καί κατάλληλου ἀντιγόνου.

Οἱ ὀρολογικές ἀντιδράσεις διακρίνονται σέ:

1) Ἰζηματινοαντιδράσεις.
2) Συγκολλητινοαντιδράσεις.
3) Ἀντιδράσεις συνδέσεως τοῦ συμπληρώματος.
4) Ἀντιδράσεις τοξίνης-ἀντιτοξίνης.
5) Ἀντιδράσεις γιά τήν ἀναζήτηση λυσινῶν.

Στίς ἰζηματινοαντιδράσεις ὅταν τό ἐναιώρημα τοῦ ἀντιγόνου προστεθεῖ στό ὁμόλογο ἀντίσωμα, ἐμφανίζεται λευκό ἴζημα πού καθιζάνει στόν πυθμένα τοῦ σωληναρίου.

Στίς συγκολλητινοαντιδράσεις τό ἀντιγόνο δέν φέρεται μέ μορφή διαλύτη, ἀλλά μέ μορφή ἐναιωρήματος στερεῶν σωματιδίων (μικροβίων, ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων).

Ἡ ἐπίδραση τοῦ ἀντισώματος δημιουργεῖ συμπλησίαση καί συγκόλληση τῶν στοιχείων τοῦ ἀντιγόνου σέ ὁμάδες. Μερικά μικρόβια ἔχουν κοινά ἀντιγόνα καί ἔ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

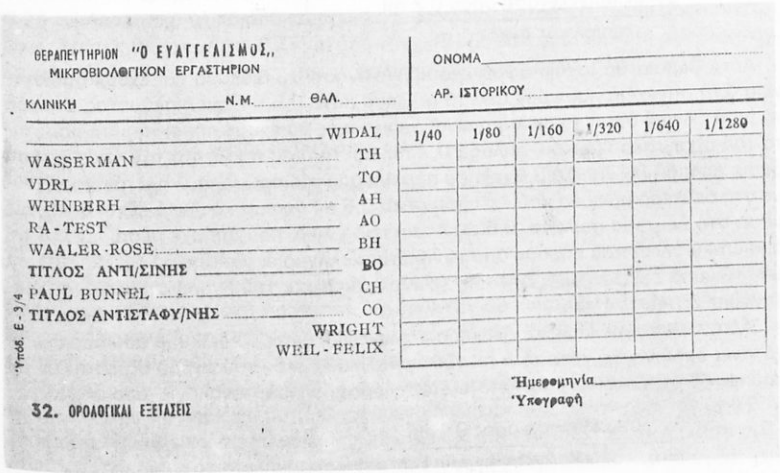
τσι κατά τίς ἀντιδράσεις συγκολλήσεως παρουσιάζουν ***διασταυρούμενες ἀντιδράσεις,*** δηλαδή δύο διαφορετικά μικρόβια συγκολλοῦνται ἀπό τό ἴδιο ἀντίσωμα. Μερικές φορές κατά τήν ἐκτέλεση συγκολλητινοαντιδράσεων γιά τή διάγνωση τῆς βρουκελώσεως παρατηρεῖται τό φαινόμενο τῆς ***προζώνης.*** Δηλαδή δέν παρατηροῦνται συγκολλήσεις στά πρῶτα σωληνάρια τῶν ἀραιώσεων τοῦ ὁροῦ, ὅπου τό ἀντίσωμα σέ ποσό εἶναι περισσότερο, ἀλλά σέ σωληνάριο μέ ποσό ἀντισώματος μικρότερο.

Στίς ἀντιδράσεις τοξίνης-ἀντιτοξίνης, ἡ προσθήκη ἀντιτοξίνης σέ ὁμόλογη τοξίνη in vitro, προκαλεῖ τήν ἐμφάνιση θολερότητας καί ἰζήματος.

Στίς ἀντιδράσεις συνδέσεως τοῦ συμπληρώματος, τό συμπλήρωμα συνδέεται μέ τό σύμπλεγμα ἀντιγόνου καί ἀντισώματος. Κατά τή σύνδεση αὐτή συμπληρώματος ἀντιγόνου-ἀντισώματος μπορεῖ νά μήν γίνει ὁρατή ἀλλαγή στό σύστημα, ὥστε νά διαπιστωθεῖ ἡ σύνδεση. Σέ περιπτώσεις ὅμως πού ἔχομε αἱμολυτική δράση τοῦ συμπληρώματος, ἡ σύνδεση γίνεται ἀντιληπτή ἀπό τήν ἐπερχόμενη αἱμόλυση. Τό περιεχόμενο τοῦ σωληναρίου, στό ὁποῖο συμβαίνει σύνδεση συμπληρώματος καί αἱμόλυση γίνεται διαυγές, ἐνῶ στό σωληνάριο πού δέν ἔγινε αἱμόλυση παραμένει θολερό.

Στίς ἀντιδράσεις συνδέσεως τοῦ συμπληρώματος ὁ ὁρός τοῦ πρός ἐξέταση ἀτόμου πρέπει πρίν ἀπό τή ἐξέταση νά ἀδρανοποιεῖται μέ θέρμανση στούς 56°C γιά 30 λεπτά προκειμένου νά καταστραφεῖ τό συμπλήρωμα πού περιέχει.

Πρέπει νά τονισθεῖ ὅτι οἱ περισσότερες ὁρολογικές ἀντιδράσεις στηρίζονται στήν ἰζηματογόνο ἰδιότητα τῶν ἀντισωμάτων (σχ. 6.1).


ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. .....

ΟΝΟΜΑ .....

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

		1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280
	WIDAL						
WASSERMAN	ΤΗ						
VDRL	ΤΟ						
WEINBERH	ΑΗ						
RA-TEST	ΑΟ						
WAALER-ROSE	ΒΗ						
ΤΙΤΛΟΣ ΑΝΤΙ/ΣΙΝΗΣ	ΒΟ						
PAUL BUNNEL	CH						
ΤΙΤΛΟΣ ΑΝΤΙΣΤΑΦΥ/ΝΗΣ	CO						
	WRIGHT						
	WEIL-FELIX						

Ἡμερομηνία .....

Ὑπογραφή

32. ΟΡΟΛΟΓΙΚΑΙ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Ὑπόδ. Ε-3/4

Σχ. 6.1.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως ὁρολογικῶν ἐξετάσεων.

6.2 Διαδοχικές ἀραιώσεις ὁροῦ.

Γενικά στή μικροβιολογία καί εἰδικά στήν ἐκτέλεση τῶν ὁρολογικῶν ἀντιδρά-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

σεων, π.χ. Wasserman, Kahn, Wright κλπ., χρειάζεται πολλές φορές νά παρασκευάσομε διάφορες ἀραιώσεις τοῦ ὀροῦ, πού πρόκειται νά ἐξετάσομε. Χρησιμοποιοῦνται περισσότερο οἱ ***ὑποδιπλάσιες*** ἀραιώσεις, π.χ. 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1:40 ἤ 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16 κλπ. καί οἱ ***ὑποδεκαπλάσιες,*** π.χ. 1:10, 1 : 100, 1 : 1000 κλπ.

Γιά τήν παρασκευή τῶν ἀραιώσεων χρησιμοποιοῦμε εἰδική τεχνική πού περιγράφεται παρακάτω.

6.2.1 Ἀραιώσεις ὑποδιπλάσιες.

1) Ἀραιώσεις 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 κλπ.

Μέ τόν ὅρο ἀραίωση 1 : 5, ἐννοοῦμε ὅτι τό σύνολο τῶν πέντε (5) μερῶν τοῦ ὁλικοῦ ὄγκου τοῦ ὑγροῦ, πού εἶναι στό δοκιμαστικό σωλήνα ἤ τό σωλήνα αἱμολύσεως, ἀποτελεῖται ἀπό 1 μέρος (ὄγκο) τοῦ ὑλικοῦ πού θέλομε νά ἀραιώσομε (ὀρό) καί ἀπό 4 μέρη (ὄγκους) ἀραιωτικοῦ ὑγροῦ. Τοποθετοῦμε τούς σωλῆνες αἱμολύσεως σέ κατάλληλο ἔδρανο. Οἱ σωλῆνες πού τοποθετοῦμε εἶναι τόσοι σέ ἀριθμό, ὅσες εἶναι οἱ ἀραιώσεις πού θέλομε νά ἐπιτύχομε. Βάζομε στόν πρῶτο σωλήνα 0,8 ml ἀραιωτικό ὑγρό καί σ' ὅλους τούς ὑπόλοιπους ἀπό 0,5 ml ἀραιωτικό ὑγρό. Μετά προσθέτομε στό πρῶτο σωληνάριο 0,2 ml ἀπό τόν ὀρό, πού θά ἐξετάσομε. Ἔτσι στό πρῶτο σωληνάριο θά ἔχομε: 0,8 ml ἀραιωτικό ὑγρό καί 0,2 ml ὀροῦ, δηλαδή 1 ml συνολικό ὄγκο ὑγροῦ. Ἀφοῦ τό 1 ml συνολικοῦ ὄγκου ὑγροῦ περιέχει 0,2 ml ὀρό, τότε ἡ ἀναλογία θά εἶναι:

$$\frac{\text{ὄγκος ὑπό ἐξέταση ὀροῦ 0,2 ml}}{\text{συνολικός ὄγκος 1 ml}} = \frac{1}{5} \quad \text{ἤ} \quad 1:5$$

Αὐτό βέβαια θά ἰσχύει ἀφοῦ ἔχομε ἀνακινήσει τό διάλυμα καί ἔχομε ὁμοιογένεια. Στή συνέχεια παίρνομε ἀπό τό σωλήνα αὐτό 0,5 ml τοῦ διαλύματος, δηλαδή τό μισό. Ἀφοῦ ὅμως τό διάλυμα εἶναι ὁμοιογενές θά ἔχομε πάρει τή μισή ποσότητα τοῦ ἀραιωτικοῦ ὑλικοῦ, δηλαδή 0,4 ml, καί τή μισή ποσότητα τοῦ ὑπό ἐξέταση ὀροῦ, δηλαδή 0,1 ml. Τά 0,5 ml πού πήραμε ἀπό τόν πρῶτο σωλήνα τά προσθέτομε στό δεύτερο σωλήνα πού ἔχει ἤδη μέσα 0,5 ml ἀραιωτικό ὑλικό. Ἔτσι θά ἔχομε μέσα στό δεύτερο σωλήνα, 0,5 ml ἀραιωτικό ὑλικό, πού ὑπῆρχε μέσα, καί 0,4 ml ἀραιωτικό ὑλικό πού πήραμε ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο. Ἐπίσης θά ἔχει καί 0,1 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό. Δηλαδή ὁ συνολικός ὄγκος τοῦ ὑγροῦ στό δεύτερο σωληνάριο θά εἶναι 1 ml.

Ἄν ἀνακινήσομε καλά τό δεύτερο σωληνάριο, ὥστε τό διάλυμα πού περιέχεται νά γίνει ὁμοιογενές, τότε τό 1 ml τοῦ συνολικοῦ ὄγκου τοῦ ὑγροῦ θά εἶναι 0,9 ml ἀραιωτικό ὑγρό καί 0,1 ml ὑπό ἐξέταση ὀρός, δηλαδή ἀναλογία ἀραιώσεως:

$$\frac{\text{ὑπό ἐξέταση ὀρός 0,1 ml}}{\text{συνολικός ὄγκος ὑγροῦ 1 ml}} = \frac{1}{10} \quad \text{ἤ} \quad 1:10$$

Ἄν ἀπό τό δεύτερο σωλήνα πάρομε 0,5 ml, δηλαδή τό μισό, ἀφοῦ τό διάλυμα τοῦ σωλήνα εἶναι ὁμοιογενές, θά ἔχομε πάρει 0,45 ml ἀραιωτικό ὑγρό καί 0,05 ml τοῦ ὑπό ἐξέταση ὀροῦ. Τά 0,5 ml πού πήραμε ἀπό τό δεύτερο σωλήνα τά προσθέτομε στόν τρίτο σωλήνα καί ἔτσι θά ἔχομε σ' αὐτόν 0,5 ml ἀραιωτικό ὑγρό πού εἶχε μέσα ἀπό τήν ἀρχή καί 0,45 ml ἀραιωτικό ὑγρό ἀπό αὐτό πού πήραμε ἀπό τό

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

δεύτερο σωλήνα, δηλαδή 0,95 ml ἀραιωτικό ὑγρό. Ἐπίσης θά ἔχομε καί 0,05 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό. Δηλαδή ὁ συνολικός ὄγκος ὑγροῦ στό τρίτο σωληνάριο θά εἶναι 1 ml καί ἡ ἀναλογία ἀραιώσεως:

$$\frac{\text{ὑπό ἐξέταση ὀρός 0,05 ml}}{\text{συνολικός ὄγκος ὑγροῦ 1 ml}} = \frac{1}{20} \quad \text{ἤ} \quad 1:20$$

Κατά τόν ἴδιο τρόπο συνεχίζομε καί στά ὑπόλοιπα σωληνάρια ὡς τήν ἀραίωση πού ἐπιθυμοῦμε. Ἀπό τό τελευταῖο σωληνάριο ἀπορρίπτομε τά 0,5 ml.

2) Ἀραιώσεις 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, 1 : 16 κλπ.

Τοποθετοῦμε τούς σωλῆνες σέ εἰδικό ἔδρανο, σέ ἀριθμό ἀνάλογο μέ τόν ἀριθμό τῶν ἀραιώσεων πού θέλομε. Βάζομε σέ ὅλους ἀπό 0,5 ml ἀραιωτικό ὑγρό. Στό πρῶτο σωληνάριο, ἐκτός ἀπό 0,5 ml ἀραιωτικό ὑλικό, προσθέτομε καί 0,5 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό καί ἀνακινοῦμε γιά νά γίνει τό διάλυμα ὁμοιογενές. Ἔτσι θά ἔχομε στό πρῶτο σωληνάριο ἀναλογία ἀραιώσεως:

$$\frac{\text{ὑπό ἐξέταση ὀρός 0,5 ml}}{\text{συνολικός ὄγκος ὑγροῦ 1 ml}} = \frac{1}{2} \quad \text{ἤ} \quad 1:2$$

Ἄν πάρομε ἀπό τό διάλυμα τοῦ πρώτου σωληναρίου 0,5 ml, δηλαδή τό μισό, θά ἔχουμε πάρει 0,25 ml ἀραιωτικό ὑγρό καί 0,25 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό. Τά 0,5 ml τοῦ πρώτου σωληναρίου τά προσθέτομε στό δεύτερο σωληνάριο μέσα στό ὁποῖο θά ἔχομε 0,5 ml ἀραιωτικό ὑλικό πού τοποθετήσαμε ἀπό τήν ἀρχή καί 0,25 ml ἀραιωτικό ὑλικό ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο, δηλαδή 0,75 ml ἀραιωτικό ὑλικό. Ἐπίσης θά ἔχομε καί 0,25 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό, δηλαδή συνολικό ὄγκο ὑγροῦ 1 ml καί κατά συνέπεια ἀναλογία ἀραιώσεως:

$$\frac{\text{ὑπό ἐξέταση ὀρός 0,25 ml (25)}}{\text{συνολικός ὄγκος ὑγροῦ 1 ml (100)}} = \frac{1}{4} \quad \text{ἤ} \quad 1:4$$

Μέ αὐτόν τόν τρόπο τεχνικῆς συνεχίζομε καί δημιουργοῦμε ἀραιώσεις 1 : 8, 1 : 16, 1 : 32 κ.ο.κ.

3) Ἀραιώσεις 1 : 25, 1 : 50, 1 : 100 κλπ.

Τοποθετοῦμε τούς σωλῆνες ὅπως ἀναφέραμε καί στίς προηγούμενες ἀραιώσεις. Παρασκεύαζομε στό πρῶτο σωληνάριο τήν ἀραίωση 1 : 25, τοποθετώντας 24 ml ἀραιωτικό ὑλικό καί 1 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό. Σέ ὅλους τούς ἄλλους σωλῆνες τοποθετοῦμε 0,5 ml ἀραιωτικό ὑγρό.

Ἄν πάρομε 0,5 ml ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο, πού ἔχει γίνει ὁμοιογενές μετά ἀπό ἀνακίνηση, θά περιέχει 0,48 ml ἀραιωτικό ὑλικό καί 0,02 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό (ἀφοῦ εἶναι ἀραιωμένο 1 : 25). Τά 0,5 ml τοῦ πρώτου σωλήνα τά προσθέτομε στό δεύτερο σωλήνα, πού ἔτσι θά περιέχει 0,5 ml ἀραιωτικό ὑγρό, πού βάλαμε ἀπό τήν ἀρχή καί 0,48 ml ἀραιωτικό ὑγρό ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο, δηλαδή 0,98 ml ἀραιωτικό ὑγρό. Ἐπίσης θά περιέχει καί 0,02 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό, δηλαδή ὁ συνολικός ὄγκος τοῦ ὑγροῦ θά εἶναι 1 ml, καί κατά συνέπεια ἡ ἀναλογία ἀραιώσεως:

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

$$\frac{\text{ὑπό ἐξέταση ὀρός 0,02 ml (2)}}{\text{συνολικός ὄγκος ὑγροῦ 1 ml (100)}} = \frac{1}{50} \quad \text{ἤ} \quad 1:50$$

Μέ τόν ἴδιο τρόπο τεχνικῆς συνεχίζομε καί δημιουργοῦμε ἀραιώσεις 1 : 100, 1 : 200 κ.ο.κ.

6.2.2 Ἀραιώσεις ὑποδεκαπλάσιες.

Ἀραίωση 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 κλπ.

Τοποθετοῦμε τά δοκιμαστικά σωληνάρια στό εἰδικό ἔδρανο. Βάζομε σέ ὅλα ἀπό 9 ml ἀραιωτικό ὑγρό. Στό πρῶτο σωληνάριο προσθέτομε 1 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό καί ἔχομε ἀφοῦ ἀνακινήσομε καλά γιά νά γίνει τό διάλυμα ὁμοιογενές, τήν ἀραίωση 1 : 10.

Παίρνομε 1 ml ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο, πού θά περιέχει 0,9 ml ἀραιωτικό ὑγρό καί 0,1 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό καί τό προσθέτομε στό δεύτερο σωληνάριο. Τό δεύτερο σωληνάριο θά περιέχει μετά τήν προσθήκη 9 ml ἀραιωτικό ὑγρό, πού βάλαμε ἀπό τήν ἀρχή, καί 0,9 ml ἀραιωτικό ὑγρό ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο, σύνολο 9,9 ml ἀραιωτικό ὑγρό. Ἐπίσης θά περιέχει 0,1 ml ἀπό τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό καί ὁ συνολικός ὄγκος ὑγροῦ θά εἶναι 10 ml καί κατά συνέπεια ἡ ἀναλογία ἀραιώσεως θά εἶναι:

$$\frac{\text{ὑπό ἐξέταση ὀρός 0,1 ml}}{\text{συνολικός ὄγκος ὑγροῦ 10 ml}} = \frac{1}{100} \quad \text{ἤ} \quad 1:100$$

Ἄν συνεχίσομε μέ αὐτό τόν τρόπο τεχνικῆς στό τρίτο σωληνάριο θά ἔχομε ἀραίωση 1 : 1000 κ.ο.κ.

Ἀπό τίς ἀραιώσεις, πού περιγράψαμε, μποροῦμε νά πάρομε τίς ἐπιθυμητές ποσότητες σέ σωλῆνες αἱμολύσεως, γιά νά κάνομε τίς ἀντιδράσεις πού θέλομε. Τίς διαδοχικές ἀραιώσεις, ὅπως ἀναφέραμε καί στήν ἀρχή τοῦ κεφαλαίου, τίς πραγματοποιοῦμε γιά τίς ὀρολογικές ἀντιδράσεις, δηλαδή ἀνιχνεύομε ἀντισώματα, πού παράγονται στόν ὀργανισμό καί κυκλοφοροῦν στόν ὀρό τοῦ αἵματος τοῦ ἀσθενῆ μετά ἀπό λοίμωξη. Σήμερα οἱ ὀρολογικές ἀντιδράσεις γίνονται σχεδόν πάντοτε ποσοτικές καί δείχνουν τόν τίτλο ἤ δείκτη θετικότητάς τους. Ὁ τίτλος αὐτός ἤ οἱ μονάδες φανερώνουν τή μεγαλύτερη ἀραίωση τοῦ ὀροῦ, στήν ὁποία αὐτός παραμένει θετικός.

Παράδειγμα.

Στήν ἀντίδραση Kahn, ὅταν λέμε ὅτι ἔχει θετικότητα 264 μονάδες Kahn, σημαίνει ὅτι βρίσκεται θετική σέ ἀραίωση 1 : 64, γιατί 256 : 4 = 64. Ὁ Ὁ ἀριθμός 4 εἶναι μιά σταθερή μονάδα πού χρησιμοποίησε ὁ Kahn γιά νά ἐκφράσει σέ μονάδες τήν ἀραίωση τῆς ποσοτικῆς ἀντιδράσεώς του (1 : 64 σέ μονάδες = 64 × 4 = 256 μονάδες Kahn). Εἶναι φανερό ἐπομένως ὅτι σέ ὅσο πιό μεγάλη ἀραίωση ὀροῦ βρίσκεται θετικός τίτλος, τόσο σέ πιό ὀξεία φάση βρίσκεται ἡ νόσος.

6.3 Προετοιμασμένες δοκιμασίες.

Σ' αὐτή τήν κατηγορία περιλαμβάνονται ὀροαντιδράσεις πού ἡ ἀρχή τους στηρί-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ζεται στή σύνδεση ἀντιγόνου-ἀντισώματος.

Οἱ πιό γνωστές ἀπό αὐτές, πού χρησιμοποιοῦνται στά ἐργαστήρια εἶναι:

— Ἡ δοκιμασία Ra-test (ἀνίχνευση ρευματοειδοῦς παράγοντα).
— Ἡ δοκιμασία CRP (ἀνίχνευση C-ἀντιδρώσας πρωτεΐνης).
— Ἡ δοκιμασία Mono-test (ἀνίχνευση ἀντισωμάτων λοιμώδους μονοπυρηνώσεως).
— Ἡ δοκιμασία Arthri-test (ἀνίχνευση ρευματοειδοῦς παράγοντα).
— Ἡ δοκιμασία Le-test (ἀνίχνευση ἀντισωμάτων ἐρυθηματώδους λύκου) κλπ.

Γιά νά γίνουν αὐτές οἱ δοκιμασίες χρειάζονται:

1) Ὁρός τοῦ ἀσθενῆ.
2) Ἀντιδραστήρια, πού ὑπάρχουν ἕτοιμα στό ἐμπόριο.

Τόν ὁρό τόν παίρνομε κατά τά γνωστά.

Τό κάθε ἕνα ἀπό τά ἀντιδραστήρια περιέχει εἰδικό γιά κάθε ἐξέταση ἀντιγόνο καί ἀπό ἕνα θετικό καί ἀρνητικό μάρτυρα.

Ἐπειδή ὅμως ἡ ἀντίδραση ἀντιγόνου-ἀντισώματος δέν εἶναι ὁρατή, λόγω τοῦ μικροῦ μεγέθους τῶν μορίων, χρησιμοποιοῦμε ἐρυθρά αἱμοσφαίρια ἤ σωμάτια Latex, στά ὁποῖα ἔχομε προσροφήσει τό ἀντιγόνο, ὁπότε, ὅταν θά γίνει ἡ σύνδεση τοῦ ἀντιγόνου μέ τό ἀντίσωμα, ἐπειδή αὐτά ἔχουν μεγαλύτερο μέγεθος, θά ἔχομε ὁρατό ἀποτέλεσμα, δηλαδή συγκόλληση, ἴζημα κλπ.

Στό κάθε ἀντιδραστήριο ὑπάρχουν διάφορες ὁδηγίες γιά τή χρήση του. Ἐκεῖνο πού πρέπει ἐμεῖς νά προσέχομε εἶναι νά τό διατηροῦμε στό κατάλληλο μέρος. Νά βλέπομε πάντα, πρίν τά χρησιμοποιήσομε τήν ἡμερομηνία λήξεως πού ὑπάρχει γραμμένη πάνω σέ κάθε κουτί. Ὅταν θά κάνομε τήν ἐξέταση, θά πρέπει οἱ ἀντικειμενοφόρες πλάκες πού θά χρησιμοποιήσομε νά εἶναι ἀπόλυτα καθαρές. Ἐπίσης καθαρά πρέπει νά εἶναι καί τά σιφώνια ἤ τριχοειδή, μέ τά ὁποῖα παίρνομε τόν ὁρό. Ἀκάθαρτες πλάκες καί ἀκάθαρτα σιφώνια ἤ τριχοειδή μπορεῖ νά δώσουν ψευδή ἀποτελέσματα.

Πρίν ἀρχίσομε κάθε ἐξέταση πρέπει νά ἐλέγξομε ἄν δουλεύουν σωστά οἱ μάρτυρες, γιατί μερικές φορές μπορεῖ γιά διάφορους λόγους νά μή λειτουργοῦν ὁπότε τά ἀποτελέσματα δέν εἶναι ἀξιολογίσιμα.

Ὁ τρόπος ἐκτελέσεως τῆς ἐξετάσεως γίνεται ὡς ἑξῆς:

Παίρνομε τρεῖς ἀντικειμενοφόρες πλάκες ἤ τή μία πλάκα πού περιέχει μέσα ἡ συσκευασία τοῦ ἀντιδραστηρίου. Στούς τρεῖς κύκλους τῆς πλάκας τοποθετοῦμε στόν πρῶτο κύκλο μιά σταγόνα ἀπό τό θετικό μάρτυρα, στόν τρίτο κύκλο μιά σταγόνα ἀπό τόν ἀρνητικό μάρτυρα καί στό μεσαῖο κύκλο μιά σταγόνα ὁρό τοῦ ἀτόμου πού θέλομε νά ἐξετάσομε. Κατόπιν καί στούς τρεῖς κύκλους προσθέτομε ἀπό μιά σταγόνα ἀντιγόνο πού ὑπάρχει μέσα στή συσκευασία. Μέ ἕνα γυάλινο ραβδάκι ἀνακινοῦμε κυκλικά, γιά νά ἀναμιχθεῖ καλά τό ὑλικό καί βλέπομε συγκριτικά τό ἀποτέλεσμα τοῦ ἐξεταστέου μέ τούς μάρτυρες. Ὁ θετικός μάρτυρας πρέπει νά κάνει συγκόλληση. Ὁ ἀρνητικός μάρτυρας ὄχι. Ἄν ὁ ὁρός ἔχει ἀντισώματα θά κάνει συγκόλληση, θά μοιάζει δηλαδή μέ τό θετικό μάρτυρα, διαφορετικά θά μοιάζει μέ τόν ἀρνητικό μάρτυρα.

6.4 Ὀροαντίδραση Wassermann.

Ἡ ὀροαντίδραση Wassermann ἀποτελεῖ τήν κλασική δοκιμασία γιά τή διάγνω-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ση τῆς σύφιλης. Μέ τήν ἀντίδραση αὐτή ἀνιχνεύονται καί προσδιορίζονται τά ἀντισώματα τῆς σύφιλης, πού βρίσκονται στόν ὀρό τοῦ ἀσθενῆ. Τό ἀντίσωμα πού ἀνακαλύπτεται μέ τήν ὀροαντίδραση Wassermann δέν εἶναι ***εἰδικό,*** δηλαδή δέν ἀναπτύσσεται μόνο στόν ὀργανισμό ὅσων πάσχουν ἀπό σύφιλη, ἀλλά ἀναπτύσσεται καί ἀπό ἄλλα νοσήματα, γι' αὐτό ἡ Wassermann μπορεῖ νά βρεθεῖ θετική καί ἐπί ἄλλων παθήσεων.

Γιά τήν ὀροαντίδραση αὐτή χρειάζονται τά ἑξῆς ἀντιδραστήρια:

α) Ὀρός τοῦ ἀσθενῆ,
β) ἀντιγόνο,
γ) συμπλήρωμα,
δ) αἱμολυτικός ὀρός,
ε) ἐρυθρά προβάτου,
στ) θετικός μάρτυρας καί
ζ) χλωριοῦχο νάτριο 9‰.

Τό ἀντιγόνο εἶναι ἐκχύλισμα ἀπό σπλάχνα διαφόρων ζώων καί ὑπάρχει ἕτοιμο στό ἐμπόριο. Πρίν ἀπό τήν ἐκτέλεση τῆς ἀντιδράσεως Wassermann τό ἀντιγόνο ἀραιώνεται μέ τόν τίτλο πού ἀναγράφεται στή συσκευασία του.

Παράδειγμα.

Ἄν ἀναγράφεται τίτλος 1 : 6000 τότε μέσα σέ ἰσότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου 60 ml προσθέτομε μέ πιπέττα 0,1 ml ἀντιγόνο, ἀνακινοῦμε τό διάλυμα καί τό διατηροῦμε στή θερμοκρασία τοῦ δωματίου ὥσπου νά ἐκτελεσθεῖ ἡ ὀροαντίδραση.

Ὁ αἱμολυτικός ὀρός εἶναι ὀρός αἵματος κουνελιοῦ πού ἔχει ἀνοσοποιηθεῖ πρός τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια προβάτου. Ὑπάρχει ἕτοιμος στό ἐμπόριο. Τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια προβάτου εἶναι πρόσφατα ἐρυθρά πού αἱμολύονται μέ διάλυμα χλωριούχου νατρίου 9‰.

Ὁ θετικός μάρτυρας εἶναι ὀρός ἀτόμου, πού πάσχει ἀπό σύφιλη γνωστοῦ τίτλου. Ὑπάρχει ἕτοιμος στό ἐμπόριο.

Τό συμπλήρωμα εἶναι ὀρός αἵματος πού λαμβάνεται μέ παρακέντηση ἀπό τήν καρδιά ἰνδοχοίρου. Ὑπάρχει σέ ξηρή κατάσταση στό ἐμπόριο καί διαλύεται σέ ἀποσταγμένο νερό σύμφωνα μέ τίς ὁδηγίες τοῦ οἴκου παρασκευῆς του. Τίτλος συμπληρώματος, εἶναι ἡ ἐλάχιστη ποσότητα τοῦ συμπληρώματος πού μπορεῖ νά προκαλεῖ αἱμόλυση τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων τοῦ προβάτου. Ἡ ποσότητα αὐτή τοῦ συμπληρώματος καλεῖται αἱμολυτική μονάδα. Ἔτσι συμπλήρωμα πού ἔχει τίτλο 1/40, ἔχει αἱμολυτική δόση 1/40. Ἄρα 4 αἱμολυτικές μονάδες θά εἶναι ἡ κατά 4 φορές ἰσχυρότερη ἀραίωση τῆς μιᾶς αἱμολυτικῆς μονάδας, δηλαδή τοῦ τίτλου, π.χ. 1/10.

Ἡ ὀροαντίδραση Wassermann στηρίζεται στήν παρακάτω ἀρχή:

Ἀναμιγνύομε τόν ὀρό πού πρόκειται νά ἐξετάσομε μέ ἀντιγόνο καί συμπλήρωμα. Ἐφόσον μέσα στόν ὀρό ὑπάρχουν εἰδικά ἀντισώματα σύφιλης, αὐτά θά ἑνωθοῦν μέ τό ἀντιγόνο καί τό σύμπλεγμα αὐτό θά προσροφήσει τό συμπλήρωμα. Ἄν μέσα στό μίγμα αὐτό προσθέσομε ἕνα νέο σύμπλεγμα ἀντιγόνου-ἀντισώματος, ὅπως εἶναι τά ἐρυθρά αἱμοσφαίρια προβάτου, μέ τόν εἰδικό πρός αὐτά ὀρό, τότε δέν θά γίνει ἀπό τή δράση τοῦ συμπληρώματος αἱμόλυση, γιατί τό συμπλήρωμα ἔχει προσροφηθεῖ ἀπό τό πρῶτο σύμπλεγμα ἀντιγόνου-ἀντισώματος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Σέ ἀντίθετη περίπτωση, ἄν μέσα στόν ὀρό πού ἐξετάζομε δέν ὑπάρχουν ἀντισώματα πρός τή σύφιλη, τό συμπλήρωμα θά παραμείνει ἀδέσμευτο καί τό νέο σύμπλεγμα πού θά προσθέσομε στή συνέχεια, δηλαδή ἐρυθρά καί αἱμολυτικός ὀρός, θά τό προσροφήσει καί θά γίνει αἱμόλυση.

Ἡ ὀροαντίδραση Wassermann μπορεῖ νά γίνει εἴτε μέσα σέ σωληνάρια αἱμολύσεως, εἴτε σέ εἰδική πλάκα. Ἡ δοκιμασία γίνεται σέ δύο φάσεις. Στήν πρώτη φάση προσδιορίζονται οἱ ποσότητες τοῦ συμπληρώματος καί τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ πού πρόκειται νά χρησιμοποιηθοῦν στήν κυρίως φάση πού εἶναι ἡ δεύτερη.

Ἡ τιτλοποίηση τοῦ συμπληρώματος καί τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ γίνονται ταυτόχρονα.

α) Ἀραιώσεις τοῦ συμπληρώματος.

Μέσα σέ μιά σειρά 9 σωληναρίων τοποθετοῦμε ἀπό 1 ml ρυθμιστικό διάλυμα ἐκτός ἀπό τό πρῶτο. Στό πρῶτο καί δεύτερο σωληνάριο βάζομε 4 ml συμπλήρωμα ἀραιώσεως 1 : 30. Τήν ἀραίωση αὐτή τοῦ συμπληρώματος τή φτιάχνομε ἀπό τό ξηρό συμπλήρωμα τοῦ ἐμπορίου μέ ἀποσταγμένο νερό. Μέ ἕνα σιφώνιο τῶν 5 ml μεταφέρομε 4 ml ἀπό τό 2ο σωληνάριο στό 3ο καί ἀπό αὐτό 4 ml στό 4ο κ.ο.κ. Μέ τόν τρόπο αὐτό ἐπιτυγχάνομε σειρά ἐνδιαμέσων ἀραιώσεων 1 : 30, 1 : 38, 1 : 47, 1 : 59, 1 : 73, 1 : 92, 1 : 114, 1 : 143 καί 1 : 179 σέ ποσότητα 1 ml.

β) Ἀραιώσεις τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ.

Ἀπό τόν αἱμολυτικό ὀρό τοῦ ἐμπορίου παρασκευάζομε ἀραίωση 1 : 25. Τοποθετοῦμε μιά σειρά ἀπό 6 σωληνάρια καί βάζομε μέσα σ' αὐτά 2 ml ρυθμιστικό διάλυμα ἐκτός ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο. Στό πρῶτο καί δεύτερο σωληνάριο βάζομε 2 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1 : 25 τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ. Μέ μιά πιπέττα τῶν 2 ml μεταφέρομε 2 ml ἀπό τό δεύτερο σωληνάριο στό τρίτο καί ἀπό αὐτό 2 ml στό τέταρτο κ.ο.κ. Ἔτσι δημιουργοῦμε μιά σειρά ἀραιώσεων 1 : 25, 1 : 50, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 400 καί 1 : 800.

γ) Εὐαισθητοποίηση τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων.

Παρασκευάζομε ἐναιώρημα ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων 4%. Μέσα στά σωληνάρια τῶν ἀραιώσεων τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ προσθέτομε 2 ml ἀπό τό ἐναιώρημα τῶν ἐρυθρῶν, ἀναμιγνύομε καί τοποθετοῦμε τά σωληνάρια γιά 10 λεπτά μέσα σέ ὑδατόλουτρο μέ 37°C. Ταυτόχρονα τοποθετοῦμε καί ἕνα σωληνάριο, ὡς μάρτυρα ἐρυθρῶν πού δέν ἔχουν εὐαισθητοποιηθεῖ, μέ 2 ml ἐρυθρῶν καί 2 ml ρυθμιστικό διάλυμα. Τοποθετοῦμε στή συνέχεια 7 σειρές αἱμολυτικῶν σωληναρίων μέ 10 σωληνάρια τήν κάθε μία. Στίς 9 κάθετες σειρές βάζομε μέ σιφώνιο 0,1 ml ἀπό τίς 9 ἀραιώσεις τοῦ συμπληρώματος. Δηλαδή στήν πρώτη κάθετη σειρά βάζομε 0,1 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1 : 30, στή δεύτερη κάθετη 0,1 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1 : 38 καί στή 10η κάθετη σειρά τοποθετοῦμε 1 ml ρυθμιστικό διάλυμα. Στίς 6 ὁριζόντιες σειρές μεταφέρομε μέ σιφώνιο 1 ml ἀπό τίς 6 ἀραιώσεις τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ μέ τά ἐρυθρά τά εὐαισθητοποιημένα πού περιέχουν. Στήν 7η ὁριζόντια σειρά τοποθετοῦμε ἐναιώρημα ἐρυθρῶν πού δέν ἔχουν εὐαισθητοποιηθεῖ. Ἀνακινοῦμε τά σωληνάρια καί τά τοποθετοῦμε γιά 15 λεπτά σέ κλίβανο μέ 37°C. Ἀνακινοῦμε ξανά, τά ἀφήνομε ἀκόμα 15 λεπτά καί ἀνακινοῦμε πάλι. Τά τοποθετοῦμε μετά στό ψυγεῖο, τά ἀφήνομε 1-2 ὧρες καί διαβάζομε τό ἀποτέλεσμα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἡ ἀναστολή τῆς αἱμολύσεως βαθμολογεῖται μέ ἀριθμούς 4 = 100% ἀναστολή αἱμολύσεως, 3 = 75% ἀναστολή αἱμολύσεως, 2 = 50%, 1 = 25% καί (–) = πλήρης αἱμόλυση. Ἡ μεγαλύτερη αἱμόλυση θά παρουσιασθεῖ στά σωληνάρια ἐκεῖνα πού ἔχουν τόν αἱμολυτικό ὀρό καί τό συμπλήρωμα σέ ἄριστη ἀναλογία. Ἡ κυρίως δοκιμή γίνεται προκαταρκτικά, ὡς ἡμιποσοτική, σέ δύο μόνο ἀραιώσεις τοῦ ὀροῦ, μπορεῖ ὅμως νά γίνει, ἄν ὑπάρχει λόγος, καί ὡς ποσοτική σέ περισσότερες ἀραιώσεις του.

Στήν κύρια φάση τοποθετοῦμε μιά σειρά ἀπό τρία σωληνάρια καί βάζομε σ' αὐτά 0,2 ml τοῦ ὀροῦ πού πρόκειται νά ἐξετασθεῖ ὡς ἑξῆς: Στό πρῶτο σωληνάριο 0,2 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1 : 5, στό δεύτερο 0,2 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1 : 10 καί στό τρίτο 0,2 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1 : 5, πού θά χρησιμεύσει ὡς μάρτυρας τοῦ ἐξεταζόμενου ὀροῦ. Στό πρῶτο καί δεύτερο σωληνάριο προσθέτομε 0,2 ml ἀντιγόνα καί στό τρίτο 0,2 ml ρυθμιστικό διάλυμα. Ταυτόχρονα χρησιμοποιοῦμε καί 4 σωληνάρια πού χρησιμεύουν ὡς μάρτυρες τοῦ συμπληρώματος. Προσθέτομε σέ ὅλα τά σωληνάρια, ἐκτός ἀπό αὐτά πού εἶναι μάρτυρες συμπληρώματος, 0,2 ml συμπλήρωμα πού περιέχει 3 αἱμολυτικές δόσεις. Στά 4 σωληνάρια τοῦ συμπληρώματος τοποθετοῦμε 3, 1, 1/2 καί 0 αἱμολυτικές δόσεις τοῦ συμπληρώματος σέ ποσότητα 0,2 ml.

Τό ἔδρανο μέ τά σωληνάρια τοποθετεῖται στόν κλίβανο γιά 1 ὥρα σέ 37°C καί στή συνέχεια προσθέτομε μέσα σέ ὅλα τά σωληνάρια ἀπό 0,4 ml ἐρυθρά πού ἔχουν εὐαισθητοποιηθεῖ. Τά σωληνάρια ἀνακινοῦνται καί τοποθετοῦνται πάλι στόν κλίβανο γιά μία ὥρα στούς 37°C. Μετά φέρονται στό ψυγεῖο στούς 4°C καί εἶναι ἕτοιμα νά διαβασθοῦν. Πρῶτα διαβάζεται ὁ μάρτυρας τοῦ συμπληρώματος. Θά πρέπει νά ἔχομε στό πρῶτο σωληνάριο πλήρη αἱμόλυση, στό δεύτερο ἀναστολή τῆς αἱμολύσεως καί στό 3 καί 4 σωληνάριο πλήρη ἀναστολή τῆς αἱμολύσεως. Μετά διαβάζεται τό ἀποτέλεσμα τοῦ θετικοῦ ὀροῦ πού πρέπει νά δώσει πλήρη ἀναστολή τῆς αἱμολύσεως στό πρῶτο καί δεύτερο σωληνάριο.

Ἡ βαθμολόγηση τῆς ἀντιδράσεως θά γίνει σέ τρεῖς διαβαθμίσεις.

– ***Θετική*** ὅταν δέν ὑπάρχει καμιά αἱμόλυση στά δύο πρῶτα σωληνάρια καί πλήρης αἱμόλυση στό τρίτο σωληνάριο, δηλαδή στό μάρτυρα τοῦ ὀροῦ.
– ***Ἀρνητική*** ὅταν ὑπάρχει πλήρης αἱμόλυση καί στά τρία σωληνάρια.
– ***Ἀμφίβολη*** ὅταν ὑπάρχει μερική αἱμόλυση στό πρῶτο σωληνάριο.

Ἄν στό πρῶτο σωληνάριο ὑπάρχει πλήρης ἀναστολή τῆς αἱμολύσεως καί μερική ἤ πλήρης αἱμόλυση στό δεύτερο σωληνάριο, τότε ἡ ἀπάντηση θά δοθεῖ ὡς θετική.

6.5 Ἀντίδραση Kahn.

Ἡ ἀντίδραση αὐτή στηρίζεται στό ὅτι κατά τή σύφιλη στόν ὀρό τοῦ ἀσθενῆ ὑπάρχουν ἀντισώματα, πού ὅταν ἀναμιχθοῦν μέ διάφορες λιποειδεῖς οὐσίες προκαλοῦν κροκύδωση.

Τό ἀντιγόνο Kahn ὑπάρχει στό ἐμπόριο καί εἶναι τιτλοποιημένο. Πρίν τό χρησιμοποιήσομε παρασκευάζομε ἐναιώρημα τοῦ ἀντιγόνου ἀπό τόν τίτλο του. Ἄν στό φιαλίδιο ἀναγράφεται τίτλος 1 : 1,2 παίρνομε μέ σιφώνιο τοῦ 1 ml ἀντιγόνο καί τό τοποθετοῦμε σέ σωληνάριο Kahn. Σέ ἄλλο σωληνάριο Kahn τοποθετοῦμε ἰσότονο διάλυμα τοῦ NaCl 9‰ καί σέ ποσότητα 1,2 ml. Μεταφέρομε τό ἰσότονο διάλυ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

μα τοῦ NaCl ἀμέσως στό σωληνάριο τοῦ ἀντιγόνου καί ὅλο τό διάλυμα στή συνέχεια τό μεταφέρομε ἀπό τό ἕνα σωληνάριο στό ἄλλο γρήγορα 10 φορές. Τό ἀφήνομε 10 λεπτά στή θερμοκρασία δωματίου, γιατί ποτέ τό ἀντιγόνο Kahn δέν διατηρεῖται στό ψυγεῖο. Ὁ ὁρός πού πρόκειται νά ἐξετασθεῖ πρέπει νά ἔχει ἀδρανοποιηθεῖ στούς 56°C γιά 30 λεπτά καί νά εἶναι διαυγής. Ἐπίσης χρησιμοποιοῦμε μάρτυρα θετικό καί ἀρνητικό. Γιά κάθε ὁρό χρησιμοποιοῦμε 3 σωληνάρια Kahn. Στό ἕδρανο τοποθετοῦμε 3 σωληνάρια Kahn καί ἕνα γιά τό μάρτυρα ἀντιγόνου. Στό πρῶτο σωληνάριο βάζομε 0,05 ἀντιγόνο, στό δεύτερο 0,025 ἀντιγόνο καί στό τρίτο 0,0125 ἀντιγόνο. Καί στά τρία σωληνάρια προσθέτομε ἀπό 0,15 ml ὀρό καί ἀνακινοῦμε γιά νά ἀναμιχθοῦν τά ἀντιδραστήρια. Μετά προσθέτομε σέ ὅλα τά σωληνάρια ἀπό 0,5 ml χλωριοῦχο νάτριο 9‰ καί ἀνακινοῦμε γιά νά γίνει ἀνάμιξη. Περιμένομε νά περάσουν 15 λεπτά καί διαβάζομε τό ἀποτέλεσμα. Ἡ ἀντίδραση θεωρεῖται θετική ὅταν ἀναπτυχθοῦν κροκύδες, ἐνῶ ἡ ἔλλειψή τους χαρακτηρίζει τήν ἀντίδραση ἀρνητική.

Στόν πίνακα 6.5.1 ἀναφέρεται ὅλη ἡ τεχνική τῆς ἀντιδράσεως Kahn.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.5.1
Τεχνική ἀντιδράσεως Kahn

Μάρτυρας ἀντιγόνου

Σωληνάρια	1	2	3	4	5
Ἀντιγόνο σέ ml	0,05	0,025	0,0125	0,05	0,25
Ὁρός	0,15	0,15	0,15	0,15 NaCl 9‰	0,15 9‰
NaCl 9‰	0,5	0,5	0,5	1	0,5

Ἀποτέλεσμα:	Κροκύδες μεγάλες	= + + + +
	Κροκύδες μέσου μεγέθους	= + + +
	Κροκύδες μικρές	= + +
	Κροκύδες πάρα πολύ μικρές	= +
	Ἔλλειψη κροκύδων	= 0

6.6 Ἀντίδραση VDRL.

Θεωρεῖται ἡ καλύτερη προκαταρτική μέθοδος γιά τή διάγνωση τῆς σύφιλης προκειμένου νά κάνομε ἐξέταση μεγάλου ἀριθμοῦ δειγμάτων.

Χρησιμοποιοῦνται: ὁρός τοῦ ἀσθενῆ, πού ἀδρανοποιεῖται στούς 56°C γιά 30 λεπτά, διάλυμα NaCl 1%, κανονιστικό διάλυμα (πού ἀποτελεῖται ἀπό 0,5 ml οὐδέτερη φορμόλη, 0,093 g μονόξινο φωσφορικό νάτριο, 0,17 g δισόξινο φωσφορικό κάλιο, 1000 ml ἀποσταγμένο νερό καί 10 g NaCl) καί ἀντιγόνο.

Τό ἀντιγόνο πρίν χρησιμοποιηθεῖ ἀραιώνεται ὡς ἑξῆς: Σέ φιαλίδιο τοποθετοῦμε 0,5 ml ἀντιγόνο καί 0,4 ml κανονιστικό διάλυμα. Προσθέτομε ὕστερα 4,1 ml κανονιστικό διάλυμα καί τό ἀφήνομε σέ ἠρεμία 5 λεπτά.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἡ ἀντίδραση γίνεται ὡς ἑξῆς: Σέ εἰδική ἀντικειμενόφόρο πλάκα, τοποθετοῦμε μέσα σέ κύκλο, μία σταγόνα ὀρό πού ἔχει ἀδρανοποιηθεῖ καί μία σταγόνα ἐναιώρημα ἀντιγόνου. Ἀνακινοῦμε τό μίγμα γιά 4 λεπτά. Ἄν ἡ ἀντίδραση εἶναι θετική, σχηματίζονται κροκύδες. Ταυτόχρονα χρησιμοποιοῦμε καί δύο μάρτυρες, ἕνα θετικό καί ἕνα ἀρνητικό.

6.7 Ἀντίδραση Wright.

Ἡ ὀροαντίδραση Wright εἶναι μιά συγκολλητινοαντίδραση πού χρησιμοποιεῖται γιά τή διάγνωση τοῦ μελιταίου πυρετοῦ. Μέ αὐτήν ἀναζητοῦνται τά ἀντισώματα τῶν βρουκελλῶν, πού ἀναπτύσσονται στόν ὀρό τοῦ ἀσθενῆ μετά τό τέλος τῆς δεύτερης ἑβδομάδας ἀπό τήν πυρετική εἰσβολή. Ἡ ἀναζήτηση τῶν ἀντισωμάτων γίνεται μέ τή βοήθεια εἰδικοῦ τιτλοποιημένου ἀντιγόνου, πού τό παίρνομε ἀπό τό Διεθνές Κέντρο Βρουκελλώσεως. Γιά τόν προσδιορισμό χρησιμοποιοῦμε δύο μεθόδους, τή μέθοδο σωληναρίων καί τή μέθοδο σέ πλάκα.

1) Μέθοδος σωληναρίων.

Στή μέθοδο σωληναρίων χρησιμοποιοῦνται ὡς ἀντιδραστήρια:

α) ***Ὀρός τοῦ ἀσθενῆ,*** πού πρέπει νά εἶναι διαυγής χωρίς αἱμόλυση καί νά ἔχει ἀδρανοποιηθεῖ, δηλαδή νά εἶναι ἐλεύθερος συμπληρώματος (ἀδρανοποιεῖται μέ θέρμανση μέσα σέ ὑδατόλουτρο στούς 56°C ἐπί 30 λεπτά).

β) ***Φυσιολογικός φαινικοῦχος ὀρός*** πού ἀποτελεῖται ἀπό 8,5 g NaCl, 5 g φαινικό ὀξύ καί μέχρι 1000 ml ἀποσταγμένο νερό.

γ) ***Διάλυμα NaCl 5%.***

δ) ***Ἀντιγόνο,*** πού εἶναι πυκνό καί ἀραιώνεται σέ ἀναλογία ἕνα μέρος ἀντιγόνου καί 9 μέρη φυσιολογικοῦ φαινικούχου ὀροῦ.

Τοποθετοῦμε σέ ἕδρανο 8 αἱμολυτικά σωληνάρια. Βάζομε στό πρῶτο σωληνάριο 0,8 ml NaCl 5% καί στά ὑπόλοιπα σωληνάρια 0,5 ml NaCl. Προσθέτομε στό πρῶτο σωληνάριο 0,2 ml ὀρό καί ἀνακατεύομε καλά. Παίρνομε ἀπό τό πρῶτο σωληνάριο 0,5 ml καί τά τοποθετοῦμε στό δεύτερο σωληνάριο. Ἀνακινοῦμε καλά τό δεύτερο σωληνάριο καί μετά παίρνομε 0,5 ml καί τά τοποθετοῦμε στό τρίτο σωληνάριο κ.ο.κ. Ἀπό τό τελευταῖο σωληνάριο παίρνομε 0,5 ml καί τά πετᾶμε.

Προσθέτομε σέ ὅλα τά σωληνάρια 0,5 ml ἀντιγόνο ἀραιωμένο, ὅπως ἀναφέραμε. Μέ αὐτό τόν τρόπο τεχνικῆς ἔχομε ἐπιτύχει ἀραιώσεις ὀροῦ πού εἶναι 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160, 1 : 320, 1 : 640 καί 1 : 1280.

Ἡ ἀνάγνωση γίνεται ὡς ἑξῆς: Ἄν ἔχομε θετική ἀντίδραση, θά ἀναπτυχθεῖ συγκόλληση πού ἐκφράζεται μέ σταυρούς (ἀπό 1 μέχρι 4).

Πλήρης καθίζηση μέ διαύγαση τοῦ ὑπερκείμενου	= + + + +
Μερική καθίζηση μέ διαύγαση τοῦ ὑπερκείμενου κατά 75%	= + + +
Μερική καθίζηση μέ διαύγαση τοῦ ὑπερκείμενου κατά 50%	= + +
Μερική καθίζηση μέ διαύγαση τοῦ ὑπερκείμενου κατά 25%	= +

Ἀξιολογεῖται ὡς θετική ἡ ἀντίδραση, ὅταν ἡ θετικότητα τῆς ἀντιδράσεως ἐμφανίζεται σέ ἀραίωση 1 : 160 καί πάνω.

2) Μέθοδος σέ πλάκα.

Κατά τή μέθοδο αὐτή, τό ἀντιγόνο πού χρησιμοποιεῖται καί πού τό παίρνομε ἕ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

τοιμο ἀπό τό ἐμπόριο, εἶναι πυκνό χρωματισμένο ἐναιώρημα πού περιέχει καί τά τρία εἴδη βρουκελλῶν.

Χρησιμοποιοῦμε γιά τή μέθοδο αὐτή εἰδική, χαραγμένη πλάκα, πάνω στήν ὁποία ἡ χάραξη δημιουργεῖ ἀνεξάρτητες περιοχές. Σέ κάθε περιοχή τοποθετοῦνται, μέ σιφώνιο τῶν 0,2 ml, ποσότητες τοῦ ὑπό ἐξέταση ὁροῦ 0,08, 0,04, 0,02, 01 καί 0,005 ml καί ἀμέσως μιά σταγόνα ἀντιγόνου. Μέ ἕνα γυάλινο ραβδάκι ἀνακατεύομε ἀρχίζοντας ἀπό τή μεγαλύτερη ἀραίωση. Οἱ ἀραιώσεις πού θά πετύχομε μέ τήν τεχνική αὐτή εἶναι ἀντιστοίχως 1 : 20, 1: 40, 1 : 80, 1 : 160, 1 : 320. Μετά τήν ἀνάμιξη πραγματοποιοῦμε τήν ἀνάγνωση.

Συγκόλληση 100% = ++++
Συγκόλληση 75% = +++
Συγκόλληση 50% = ++
Συγκόλληση 25% = +

Ἀξιολογεῖται ὡς θετική ἡ ἀντίδραση, ὅταν ἡ θετικότητα τῆς ἀντιδράσεως ἐμφανίζεται σέ ἀραίωση 1 : 160 καί πάνω.

Χρησιμοποιοῦμε ἐπίσης μάρτυρα ἀντιγόνου, ἀναμιγνύοντας 0,04 ml φυσιολογικό ὀρό καί μιά σταγόνα ἀντιγόνου καί μάρτυρα θετικό ἀναμιγνύοντας 0,04 ml θετικό ὀρό καί μιά σταγόνα ἀντιγόνου.

6.8 Ὀροαντίδραση Widal.

Ἡ ὀροαντίδραση Widal (πίνακας 6.8.1) χρησιμοποιεῖται γιά τή διάγνωση τῶν τυφοπαρατυφικῶν λοιμώξεων. Ἡ ἀντίδραση γίνεται θετική μετά τήν πρώτη ἑβδομάδα τῆς νόσου καί ἀναζητοῦνται μέ αὐτή στόν ὀρό τοῦ ἀσθενῆ συγκολλητίνες (ἀντισώματα) ἀντί-Η καί ἀντι-Ο, πού προκαλοῦν συγκόλληση ἀντίστοιχα τοῦ ἀντιγόνου Η (βλεφαριδικοῦ) καί Ο (σωματικοῦ). Γιά τήν ἀντίδραση χρησιμοποιεῖται ὀρός ἀσθενῆ 0,5-1 ml χωρίς ἀδρανοποίηση καί ἀντιγόνα «Ο» «Η» τῆς S. Typhi καί τῆς S. Paratyphi πού ὑπάρχουν ἕτοιμα στό ἐμπόριο. Σέ σειρά 4 σωληναρίων κάνομε ἀραιώσεις τοῦ ὀροῦ 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 μέ τόν τρόπο πού ἀναφέραμε στίς διαδοχικές ἀραιώσεις.

Τοποθετοῦμε 4 σειρές σωληναρίων καί σέ κάθε κάθετη σειρά μεταφέρονται 0,2 ml ἀπό τίς ἀραιώσεις τοῦ ὀροῦ πού πραγματοποιήσαμε, δηλαδή στήν πρώτη

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.8.1
Τεχνική ἀντιδράσεως τῆς Widal

Σωληνάρια σέ σειρά		1	2	3	4	5
Ἀραιώσεις ὀροῦ σέ σειρά σωληναρίων		1:20	1:40	1:80	1:160	Φ.Ο
Μεταφορά 0,2 ml ὀροῦ ἀπό τίς ὀριζόντιες σειρές στίς κάθετες τῶν σωληναρίων	1	0,2	0,2	0,2	0,2	Φ.Ο
	2	0,2	0,2	0,2	0,2	Φ.Ο
	3	0,2	0,2	0,2	0,2	Φ.Ο
	4	0,2	0,2	0,2	0,2	Φ.Ο
Προσθήκη τῶν ἀντιγόνων στίς ὀριζόντιες σειρές τῶν σωληναρίων	1	ΤΗ	ΤΗ	ΤΗ	ΤΗ	ΤΗ
	2	ΤΟ	ΤΟ	ΤΟ	ΤΟ	ΤΟ
	3	ΒΗ	ΒΗ	ΒΗ	ΒΗ	ΒΗ
	4	ΒΟ	ΒΟ	ΒΟ	ΒΟ	ΒΟ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

κάθετη σειρά μεταφέρομε 0,2 ml ὀρό ἀπό τήν ἀραίωση 1:20. Στή δεύτερη κάθετη σειρά μεταφέρομε 0,2 ml ὀρό ἀπό τήν ἀραίωση 1:40 κ.ο.κ. Στή συνέχεια στίς ὁριζόντιες σειρές προσθέτομε 0,2 ml ἀπό τά ἀντίστοιχα ἀντιγόνα. Ἀνακινοῦμε τά σωληνάρια καί τά βάζομε στό ὑδατόλουτρο σέ 37°C ἤ σέ κλίβανο σέ 37°C γιά δυό ὧρες. Τά βγάζομε καί τά ἀφήνομε σέ θερμοκρασία δωματίου γιά 30 λεπτά. Μετά διαβάζομε τήν ἀντίδραση.

Πρέπει νά ἀναφέρομε ὅτι τοποθετεῖται καί πέμπτη κάθετη σειρά σωληναρίων μέσα στήν ὁποία δέν βάζομε ὀρό ἀσθενῆ ἀλλά φυσιολογικό καί ὅλα τά ἀντιγόνα καί χρησιμεύει ὡς μάρτυρας.

Ἡ «Η» συγκόλληση εἶναι χαρακτηριστική. Τό ἀντιγόνο πέφτει στόν πυθμένα τοῦ σωληναρίου μέ μορφή μεγάλων κροκύδων.

Ἡ «Ο» συγκόλληση εἶναι ἀντίθετα λεπτοκοκκώδης. Ἡ ἀντίδραση βαθμολογεῖται συνήθως μέ σταυρούς. Τέσσερις σταυροί (++++) σημαίνει ὅτι ὅλο τό ἀντιγόνο ἔχει συγκολληθεῖ μέ τά ἀντισώματα, τρεῖς σταυροί (+++) ὅτι τό περισσότερο ἀντιγόνο ἔχει συγκολληθεῖ, δύο σταυροί (++), ὅτι τό μισό ἀντιγόνο ἔχει συγκολληθεῖ καί ἕνας σταυρός (+), ὅτι ἐλάχιστο ποσό ἀντιγόνου ἔχει συγκολληθεῖ.

Συγκολλήσεις μεταξύ 1 : 20-1:80 γιά τό «Η» καί 1:80-1:160 γιά τό «Ο» εἶναι ἀμφίβολης διαγνωστικῆς ἀξίας. Συγκολλήσεις τοῦ «Ο» πάνω ἀπό 1:160 καί τοῦ «Η» πάνω ἀπό 1:80, εἶναι παθογνωμονικές γιά τόν τυφοειδή πυρετό.

6.9 Προσδιορισμός τίτλου ἀντιστρεπτολυσίνης «Ο».

Ἡ στρεπτολυσίνη Ο εἶναι αἱμολυσίνη καί παράγεται ἀπό τά στελέχη τῆς ὁμάδας Α τοῦ αἱμολυτικοῦ στρεπτόκοκκου. Ἑπομένως ἄτομα μέ λοίμωξη, πού ὀφείλεται στό εἶδος αὐτό τοῦ αἱμολυτικοῦ στρεπτόκοκκου, ἀναπτύσσουν ἀντισώματα, ***ἀντιστρεπτολυσίνες,*** πού μποροῦν νά ὑπολογισθοῦν ποσοτικά στόν ὀρό τοῦ ἀσθενοῦς μέ προσδιορισμό τῆς μεγαλύτερης ἀραιώσεως, στήν ὁποία δέν παρατηρεῖται αἱμόλυση τῶν ἐρυθρῶν.

Ἡ ἀντιστρεπτολυσίνη Ο ἐκφράζεται ποσοτικά σέ μονάδες Todd. Ἔτσι τίτλος, δηλαδή ποσότητα, μικρότερος ἀπό 50 μονάδες Todd, θεωρεῖται φυσιολογικός. Τίτλος πάνω ἀπό 200 μονάδες Todd ἀποτελεῖ ἐπιβεβαίωση στρεπτοκοκκικῆς λοιμώξεως ἀπό αἱμολυτικό στρεπτόκοκκο.

Γιά τόν προσδιορισμό τοῦ τίτλου ἀντιστρεπτολυσίνης Ο χρησιμοποιοῦμε τά παρακάτω ἀντιδραστήρια πού ὑπάρχουν ἕτοιμα στό ἐμπόριο.

1) Στρεπτολυσίνη «Ο». Ὑπάρχει ἕτοιμη σέ φιαλίδιο, πάνω στό ὁποῖο ἀναγράφεται ἡ ἀναλογία ἀραιώσεως.

2) Ἰσότονο ρυθμιστικό διάλυμα. Ὑπάρχει συμπυκνωμένο σέ φιαλίδιο, πάνω στό ὁποῖο ἀναγράφεται ἡ ἀναλογία ἀραιώσεως.

3) Ἀντιστρεπτολυσίνη «Ο». Ὑπάρχει ἕτοιμη καί χρησιμεύει ὡς μάρτυρας.

4) Αἷμα ὁμάδας «Ο». Τά ἐρυθρά ἀπό τό αἷμα αὐτό ἐκπλένονται μέ φυσιολογικό ὀρό τρεῖς φορές καί ὕστερα ἀπό φυγοκέντρηση λαμβάνεται τό ἴζημά τους καί παρασκευάζεται ἐναιώρημα 5% πού χρησιμεύει ὡς μάρτυρας. Ὁ ὀρός πού πρόκειται νά ἐξετασθεῖ, ἀραιώνεται μέσα σέ ἰσότονο ρυθμιστικό διάλυμα σέ ἀραιώσεις 1:10, 1:100 καί 1:500.

Οἱ ἀραιώσεις γίνονται ὡς ἑξῆς:

1:10 = 0,5 ml ὀρός καί 4,5 ml ρυθμιστικό διάλυμα.

1:100 = 1 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1:10 καί 9 ml ρυθμιστικό διάλυμα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

1:500 = 2 ml ἀπό τήν ἀραίωση 1:100 καί 8 ml ρυθμιστικό διάλυμα.

Στή συνέχεια τοποθετοῦμε πάνω σέ στατώ 14 σωληνάρια καί τά ἀριθμοῦμε ἀπό 1-14.

Ὁ σωλήνας 13 ἀποτελεῖ τό μάρτυρα τοῦ ἐναιωρήματος τῶν ἐρυθρῶν (ἀπουσία αἱμολύσεως). Ὁ σωλήνας 14 ἀποτελεῖ τό μάρτυρα τῆς στρεπτολυσίνης «Ο» (πλήρης αἱμόλυση).

Στούς 14 σωλῆνες τοποθετοῦμε τά διάφορα ἀντιδραστήρια καί ἐνεργοῦμε σύμφωνα μέ τίς ὁδηγίες τοῦ πίνακα 6.9.1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.9.1
Τεχνική τίτλου ἀντιστρεπτολυσίνης

Ἀραιώσεις ὁροῦ	1:10		1:100					1:500					Μάρτυρες	
Ἀριθμός σωλήνα	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Ἀραιωμένος ὁρός σέ ml	08	02	1	08	06	04	03	1	08	06	04	02	—	—
Ρυθμιστικό διάλυμα σέ ml	02	08	0	02	04	06	07	0	02	04	06	08	15	1
Ἀνακινοῦμε γιά νά γίνει ἀνάμιξη														
Στρεπτολυσίνη «Ο» σέ ml	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	—	05
Ἀνακινοῦμε γιά νά γίνει ἀνάμιξη καί ἀφήνομε γιά 15 λεπτά στούς 37°C νά γίνει ἐπώαση														
Ἐναιώρημα ἐρυθρῶν σέ ml	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05	05

Ἀνακινοῦμε γιά νά γίνει ἀνάμιξη καί ἀφήνομε γιά 45 λεπτά στούς 37°C γιά νά γίνει ἐπώαση. Μετά τά 45 λεπτά φυγοκεντροῦμε τούς σωλῆνες γιά ἕνα λεπτό στίς 1500 στροφές.

Ἀφοῦ ἐφαρμόσομε ὅ,τι ἀναφέρει ὁ πίνακας κάνομε τήν ἀνάγνωση.

Τό ἀποτέλεσμα βγαίνει ἀπό τούς σωλῆνες πού δέν παρουσιάζουν αἱμόλυση. Ἡ ἀπουσία αἱμολύσεως φανερώνει ὅτι ὅλη ἡ ποσότητα τῆς στρεπτολυσίνης «Ο» πού προσθέσαμε, ἐξουδετερώθηκε ἀπό ἀντιστρεπτολυσίνη «Ο» πού ὑπάρχει στόν ὁρό τοῦ ἐξεταζόμενου. Ὁ ἀριθμός τῶν μονάδων Todd, πού ἀντιστοιχεῖ στόν τελευταῖο σωλήνα πού δέν παρουσιάζει αἱμόλυση, ἀποτελεῖ τόν τίτλο τῆς ἀντιστρεπτολυσίνης.

Οἱ μονάδες πού ἀντιστοιχοῦν σέ κάθε σωλήνα εἶναι:

Ἀριθμός σωλήνα	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Μονάδες Todd	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	2500	2500

Γιά νά γίνει κατανοητή ἡ ἀνάγνωση τοῦ ἀποτελέσματος ἀναφέρομε τό ἑξῆς παράδειγμα.

Ἄς ὑποθέσομε ὅτι δέν ὑπάρχει αἱμόλυση στούς σωλῆνες ἀπό 1 ἕως 6 καί ἴχνη αἱμολύσεως στό σωλήνα 7. Οἱ ἄλλοι σωλῆνες ἀπό 8-12 ἐμφανίζουν αἱμόλυση. Τότε ὁ τελευταῖος σωλήνας, πού δέν ἐμφανίζει αἱμόλυση, εἶναι ὁ σωλήνας 6 καί ἐπομένως ὁ τίτλος ἀντιστρεπτολυσίνης εἶναι 250 μονάδες Todd.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

6.10 Ρευματοειδής παράγοντας.

Στή ρευματοειδή ἀρθρίτιδα, κυκλοφοροῦν στό αἷμα τῶν περισσοτέρων ἀπό τούς πάσχοντες ἀνοσοσφαιρίνες τῆς ὁμάδας IgM σφαιρίνων, πού καλοῦνται ***ρευματοειδής παράγοντας*** καί οἱ ὁποῖες ἔχουν τήν ἱκανότητα νά συνδέονται in vitro μέ φυσιολογική γ-σφαιρίνη. Κατά τή σύνδεση αὐτή δεσμεύεται καί συμπλήρωμα. Ἔτσι δημιουργήθηκαν καί χρησιμοποιοῦνται διάφορες ὀροαντιδράσεις πού διαφέρουν μεταξύ τους μόνο ὡς πρός τό ἀντιγονικό σύστημα πού χρησιμοποιεῖται. Θά ἀναφέρομε τή δοκιμασία Waaller-Rose καί τήν ταχεία δοκιμασία γιά ρευματοειδή παράγοντα Ra-Test.

6.10.1 Δοκιμασία Waaller-Rose.

Ἡ ἀρχή τῆς δοκιμασίας αὐτῆς εἶναι ὅτι, ἄν στήν ἐπιφάνεια ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων προσροφηθοῦν οἱ γ-σφαιρίνες, δηλαδή τά εἰδικά τους ἀντισώματα, καί πάνω σ' αὐτά προστεθεῖ ὀρός ἀτόμου πού ἔχει ρευματοειδή παράγοντα, τότε αὐτός θά ἑνωθεῖ μέ τή γ-σφαιρίνη καί θά προκληθεῖ συγκόλληση τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων. Ἡ τεχνική τῆς δοκιμασίας γίνεται ὡς ἑξῆς:

Προσδιορίζομε τήν αἱμολυτική δόση τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ. Τοποθετοῦμε 2 σειρές σωληνάρια. Κάθε σειρά περιλαμβάνει 6 σωληνάρια καί κάνομε ὑποδιπλάσιες ἀραιώσεις τοῦ αἱμολυτικοῦ ὀροῦ πού χρησιμοποιεῖται στή Wassermann.

Στή μία σειρά σωληναρίων κάνομε ἀραιώσεις ἀπό 1 : 50 καί στήν ἄλλη ἀπό 1 : 70 γιά νά πετύχομε ἐνδιάμεσες ἀραιώσεις καί νά προσδιορισθεῖ ἐπακριβῶς ὁ τίτλος. Μέσα σέ ὅλα τά σωληνάρια προσθέτομε ἴση ποσότητα ἀπό ἐναιώρημα ἐρυθρῶν προβάτου 2%.

Ἐπωάζομε τά σωληνάρια γιά μία ὥρα σέ 37°C καί διαβάζομε τό ἀποτέλεσμα. Τό τελευταῖο σωληνάριο, στό ὁποῖο δέν ὑπάρχει αἱμοσυγκόλληση, περιέχει τήν πυκνότητα τοῦ ὀροῦ πού χρειαζόμαστε γιά τή δοκιμασία. Στή συνέχεια γίνεται ἡ εὐαισθητοποίηση τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων. Ἀραιώνεται ὁ αἱμολυτικός ὀρός στήν πυκνότητα πού δέν προκαλεῖ συγκόλληση. Ἀκατατεύομε ἴσες ποσότητες ἀπό αὐτό καί ἀπό ἐναιώρημα ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων προβάτου 2%. Τό μίγμα χρησιμοποιεῖται ἀμέσως. Τόν ὑπό ἐξέταση ὀρό τόν ἀδρανοποιοῦμε σέ θερμοκρασία 56°C γιά 30 λεπτά καί ἀνακατεύομε ἴσες ποσότητες ἀπό ὀρό καί ἐναιώρημα ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων 10%. Τό μίγμα τό ἀφήνομε γιά μιά ὥρα στούς 37°C. Τό φυγοκεντροῦμε καί τό ὑπερκείμενο ἀποτελεῖ τόν ὀρό σέ ἀραίωση 1 : 2.

Ὕστερα ἀπό τά παραπάνω τοποθετοῦμε μιά σειρά ἀπό 10 σωληνάρια μέσα στά ὁποῖα γίνονται ὑποδιπλάσιες ἀραιώσεις τοῦ ὀροῦ ἀπό 1 : 2, 1 : 4 ὡς 1 : 1024. Μέσα στά σωληνάρια προσθέτομε ἴσες ποσότητες ἀπό ἐναιώρημα ἐρυθρῶν προβάτου, πού ἔχουν εὐαισθητοποιηθεῖ, καί ἀφήνομε τά σωληνάρια γιά μιά ὥρα στούς 37°C καί μετά γιά 1-2 ὧρες στό ψυγεῖο.

Ταυτόχρονα ἔχομε τοποθετήσει καί μάρτυρες τῶν ἐρυθρῶν πού ἔχουν εὐαισθητοποιηθεῖ καί πού δέν ἔχουν εὐαισθητοποιηθεῖ. Ὅταν ἔχομε θετική ἀντίδραση ἐμφανίζεται συγκόλληση τῶν ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων ὡς τήν ἀραίωση 1 : 16 καί πάνω. Ἡ συγκόλληση διαβάζεται μέ κοῖλο κάτοπτρο. Ὅταν ἡ δοκιμασία εἶναι ἀρνητική δέν ὑπάρχει συγκόλληση σέ κανένα σωληνάριο.

6.11 Ra-Test.

Εἶναι μία ἰζηματινοαντίδραση πού πραγματοποιεῖται πάνω σέ ἀντικειμενοφόρο

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

πλάκα. Χρησιμοποιοῦνται:

α) Ἀντιδραστήριο Latex-Globulin.

β) Μάρτυρας ὀρός θετικός σέ ἀραίωση 1 : 20.

γ) Μάρτυρας ὀρός ἀρνητικός σέ ἀραίωση 1 : 20 καί

δ) ἀποστειρωμένο ρυθμιστικό διάλυμα.

Ἀραιώνεται ὁ ὀρός, πού πρόκειται νά ἐξετασθεῖ, μέσα σέ ρυθμιστικό διάλυμα καί παίρνομε ἀραίωση 1 : 20 (ἡ ἀραίωση γίνεται ἄν προσθέσομε μιά σταγόνα ὀρό σέ 1 ml ἀπό ρυθμιστικό διάλυμα). Τοποθετοῦμε μιά σταγόνα ἀπό τήν παραπάνω ἀραίωση, πάνω σέ εἰδική πλάκα. Ἐπάνω στήν πλάκα τοποθετοῦμε ἐπίσης καί δύο σταγόνες ἀκόμα, μιά σταγόνα ἀπό τό θετικό μάρτυρα καθώς καί μιά σταγόνα ἀπό τόν ἀρνητικό μάρτυρα. Καί στίς τρεῖς σταγόνες προσθέτομε ἀπό μία σταγόνα ἀντιδραστήριο. Μέ τή βοήθεια γυάλινου ραβδίου ἀναμιγνύομε τίς σταγόνες τοῦ ὀροῦ, τοῦ θετικοῦ μάρτυρα καί τοῦ ἀρνητικοῦ. Γέρνομε τήν πλάκα πρός τή μία καί τήν ἄλλη πλευρά γιά ἕνα λεπτό καί ἐξετάζομε μακροσκοπικῶς γιά τήν ἐμφάνιση κροκύδων πού φανερώνουν ὅτι ἡ ἀντίδραση εἶναι θετική. Ἡ παρουσία τῶν κροκύδων διαρκεῖ λίγα δευτερόλεπτα. Γιά νά μήν ἔχομε ἀμφιβολίες, συγκρίνομε πρός τό θετικό καί τόν ἀρνητικό μάρτυρα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

ΒΑΣΙΚΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

7.1 Ἀποστείρωση γυάλινων σκευῶν — Ὑλικῶν καλλιεργειῶν — Διαλυμάτων καί ἀποκομιδή ἀχρήστων ὑλικῶν.

Ὁ καθαρισμός τῶν διαφόρων σκευῶν τοῦ ἐργαστηρίου πού χρησιμεύουν στίς καλλιέργειες, πρέπει νά εἶναι πλήρης καί σωστός γιατί καί στή σωστή λειτουργία τοῦ ἐργαστηρίου συμβάλλει οὐσιαστικά ἀλλά καί στήν καλή συντήρησή τους. Τά σκεύη, πού χρησιμοποιήθηκαν στίς μικροβιακές καλλιέργειες, θεωροῦνται μολυσμένα καί πρίν καθαριστοῦν ἀποστειρώνονται ἀπαραίτητα σέ ὑγρό κλίβανο γιά 30 λεπτά καί σέ θερμοκρασία 121°C. Μέ τόν τρόπο αὐτό καταστρέφονται τά μικρόβια πού εἶναι πάνω σ' αὐτά ἤ πού ἔχουν ἀναπτυχθεῖ.

Τά διάφορα σκεύη πλένονται ἀρχικά καλά μέ θερμό νερό καί ἀπορρυπαντική σκόνη, μέ τή βοήθεια ἀνάλογης ψήκτρας. Στή συνέχεια ξεπλένονται μέ ἄφθονο νερό γιά νά ἀπομακρυνθοῦν τά ἴχνη τῆς ἀπορρυπαντικῆς οὐσίας καί τέλος ξεπλένονται μέ ἀποσταγμένο νερό. Ἐκτός ἀπό τόν παραπάνω τρόπο καθαρισμοῦ πολλές φορές χρησιμοποιοῦμε καί ἄλλους τρόπους, ὅπως βρασμό μέ ἀπορρυπαντικό, καθαρισμό μέ ἀνθρακικό νάτριο καί ὑδροχλωρικό ὀξύ καί καθαρισμό μέ διχρωμικό κάλιο καί θειϊκό ὀξύ.

Δέν πρέπει νά ξεχνᾶμε ὅτι ὁ καθαρισμός πρέπει νά γίνεται ὅσο τό δυνατόν πιό γρήγορα μετά τή χρήση τῶν σκευῶν, γιατί ἄν ξεραθοῦν τότε αὐτός εἶναι δύσκολος ἤ καί ἀδύνατος καμιά φορά.

Μετά τόν καθαρισμό τῶν διαφόρων σκευῶν, πού χρησιμεύουν στίς μικροβιακές καλλιέργειες, γίνεται ἡ προετοιμασία γιά ἀποστείρωση.

Οἱ δοκιμαστικοί σωλῆνες πωματίζονται μέ ὑδρόφοβο βαμβάκι, γίνονται δέματα ἀνά 10-15 μέ λεπτό χαρτί, δένονται καί ἀναγράφεται πάνω στό χαρτί ὁ ἀριθμός καί τό μέγεθός τους.

Οἱ διάφορες φιάλες πωματίζονται μέ ὑδρόφοβο βαμβάκι πού βρίσκεται μέσα σέ γάζα. Τό πῶμα καλύπτεται μέ χαρτί καί δένεται μέ νῆμα κάτω ἀπό τό χεῖλος τῆς φιάλης. Οἱ φιάλες πού ἀναφέραμε ἀποστειρώνονται σέ ξηροκλίβανο. Ἄλλες φιάλες πού ἔχουν ἐλαστικό πῶμα, ἀποστειρώνονται σέ ὑγρό κλίβανο.

Τά σιφώνια πωματίζονται στό εὐρύ τους ἄκρο μέ ὑδρόφοβο βαμβάκι καί συσκευάζονται ἀνά ἕνα μέσα σέ χαρτί. Στήν ἐπιφάνεια τοῦ χαρτιοῦ ἀναγράφεται ἡ περιεκτικότητα τοῦ σιφωνίου καί σημειώνεται τό ἄκρο πού ἔχει τό εὐρύ ἄνοιγμα, ὥστε νά ἀνοιχθεῖ ἀπό ἐκεῖ ἡ συκευασία ὅταν τό σιφώνι πρόκειται νά χρησιμοποιηθεῖ. Καλύτερα εἶναι, ἐφόσον ὑπάρχουν τά μεταλλικά δοχεῖα ἀποστειρώσεως σι-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

φωνίων (ἔξω ἀπό τά ὁποῖα ἀναγράφεται ἡ χωρητικότητα τῶν περιεχομένων σιφωνίων), ἡ ἀποστείρωση νά γίνεται μέσα σ' αὐτά στόν ὑγρό κλίβανο.

Τά τρυβλία Petry περιτυλίγονται μέ χαρτί μέχρι πέντε μαζί.

Ὅλο τό γυάλινο ὑλικό γενικά, μετά τήν προετοιμασία πού γίνεται, ἀποστειρώνεται στόν ***ξηροκλίβανο.*** Τά γυάλινα σκεύη πού ἔχουν ἐλαστικά πώματα ἤ πώματα κοχλιωτά μεταλλικά μέ ἐλαστικό παρέμβασμα, ἀποστειρώνονται στόν ***ὑγρό κλίβανο.***

Ἡ ἀποστείρωση στόν ξηροκλίβανο γίνεται στούς 160°-180°C ἐπί 1-2 ὧρες ἀναλόγως.

Ἡ ἀποστείρωση τοῦ μικροβιολογικοῦ κρίκου ἤ τῆς ἀκίδας γίνεται καί πρίν ἀπό τή χρήση καί μετά ἀπό αὐτήν στή φλόγα τῆς λυχνίας Bunsen.

Ἡ ἀποστείρωση τῶν διαφόρων θρεπτικῶν ὑλικῶν γίνεται στόν κλίβανο ὑγρῆς ἀποστειρώσεως. Σέ ὁρισμένες περιπτώσεις, πού τά ὑλικά καταστρέφονται ἀπό τήν ὑψηλή θερμοκρασία, ἡ ἀποστείρωση γίνεται μέ διήθηση ἤ καί μέ τυνταλλισμό.

Ὅπως ἀναφέραμε, μετά τή μικροβιολογική καλλιέργεια τά διάφορα σκεύη, πού χρησιμοποιήθηκαν σ' αὐτήν καί φέρουν τά μικρόβια, πρέπει νά ἀποστειρώνονται σέ ὑγρό κλίβανο, διαφορετικά δημιουργοῦν κίνδυνο διασπορᾶς τῶν μικροβίων. Τά ἄχρηστα ὑλικά, μετά τήν ἀποστείρωση στόν ὑγρό κλίβανο καί γιά νά ἀποκλείσομε καί τήν ἐλάχιστη πιθανότητα νά προκαλέσουν διασπορά μικροβίων, καίγονται ἤ θάβονται.

7.2 Ἐπιχρίσματα.

Ὁρισμός.

Ἐπίχρισμα ἑνός ὑλικοῦ, εἶναι ἕνα λεπτό, σωστά τοποθετημένο στρῶμα ἀπό τό ὑλικό αὐτό, πάνω σέ πολύ καλά καθαρισμένη ἐπιφάνεια ἀντικειμενοφόρου πλάκας (σχ. 7.2).

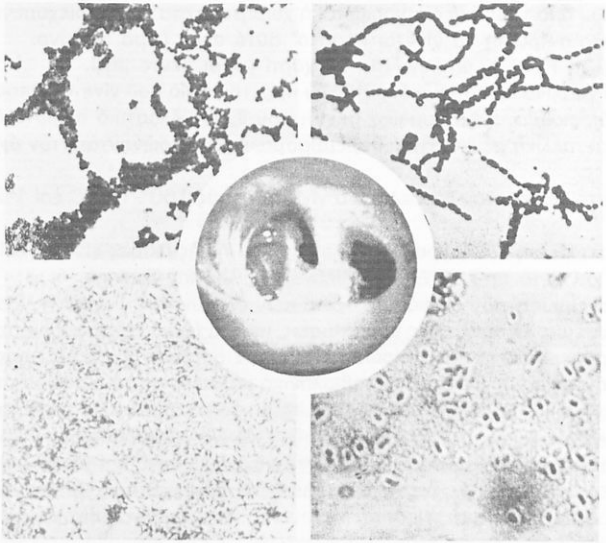
Καθαρισμός πλακῶν καί καλυπτρίδων.

Μεγάλη σημασία ἔχει γιά τήν παρασκευή σωστοῦ ἐπιχρίσματος ὁ καθαρισμός τῆς ἀντικειμενοφόρου πλάκας καί τῆς καλυπτρίδας, πού γίνεται πρίν ἀπό τήν παρασκευή της. Οἱ καινούργιες πλάκες καί καλυπτρίδες καθαρίζονται ὡς ἑξῆς: Τοποθετοῦνται σέ διάλυμα, πού ἀποτελεῖται ἀπό 6 μέρη νιτρικοῦ ὀξέος, 6 μέρη διχρωμικοῦ καλίου, καί 300 ml νερό. Τό διάλυμα αὐτό θερμαίνεται μέχρι βρασμοῦ. Βγάζομε μετά τίς πλάκες καί τίς καλυπτρίδες τίς πλένομε καλά πρῶτα μέ νερό κοινό καί μετά μέ ἀποσταγμένο καί τίς διατηροῦμε μέσα σέ δοχεῖο πού περιέχει ἀλκοόλη 50%. Πρίν τίς χρησιμοποιήσομε τίς στεγνώνομε μέ ὑδρόφιλο ὕφασμα καί στή συνέχεια τίς περνᾶμε πάνω ἀπό τή φλόγα τῆς λυχνίας Bunsen, γιά νά κατακαύσομε τά ἴχνη λίπους ἀπό τά δάκτυλά μας, πού ἐμποδίζουν τήν ἐπίστρωση. Σέ καθαρές πλάκες ἡ σταγόνα νεροῦ μπορεῖ νά ἐπιστρωθεῖ ὁμοιόμορφα σέ λεπτότατη στιβάδα, ἐνῶ σέ ἀκάθαρτες τό νερό συγκεντρώνεται σέ μικρά σταγονίδια καί ἡ ἐπίστρωσή του γίνεται ἀνομοιόμορφα.

Παρασκευή ἐπιχρίσματος.

Μποροῦμε νά παρασκευάσομε ἐπίχρισμα ἀπό ὑγρό ὑλικό καί ἀπό στερεό ὑλικό.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 7.2.
Παρασκευάσματα στρεπτόκοκκου, σταφυλόκοκκου, πνευμονιόκοκκου καί κολοβακτηριδίου.

Κατά τήν παρασκευη ἐπιχρίσματος ἀπό ὑγρό ὑλικό, ὅπως εἶναι οἱ καλλιέργειες σέ ζωμό, τό πύον, τά πτύελα κλπ., παίρνομε μέ κρίκο, πού τόν ἔχομε ἀποστειρώσει μέ πυράκτωση στή φλόγα Bunsen, ποσότητα ἀπό τό ὑγρό ἴση μέ τήν ποσότητα 1-3 κρίκων, τήν τοποθετοῦμε στήν πλάκα καί τήν ἐπιστρώνομε σέ λεπτή στιβάδα μέ τή βοήθεια κρίκου ἤ ἄλλης πλάκας. Ὅταν τό ὑλικό εἶναι στερεό, τοποθετοῦμε πάνω στήν ἀντικειμενοφόρο πλάκα σταγόνα ἀποσταγμένου νεροῦ μέ τή βοήθεια κρίκου ἤ σιφωνίου Pasteur.

Στή συνέχεια, παίρνοντας πάντα τά κατάλληλα μέτρα ἀποστειρώσεως, λαμβάνεται προσεκτικά μικρή ποσότητα ἀπό τήν ἐπιφάνεια τοῦ στερεοῦ ὑλικοῦ καί ἀναμιγνύεται μέ τή σταγόνα τοῦ νεροῦ. Τό ἐναιώρημα πού δημιουργεῖται ἐπιστρώνεται σέ λεπτή στιβάδα.

Πρέπει νά τονίσομε ὅτι ἐφόσον χρησιμοποιοῦμε κρίκο, δουλεύομε πάντα κοντά στή λυχνία Bunsen, γιά νά τόν ἀποστειρώνομε πρίν καί μετά τή χρήση του.

Ξήρανση ἐπιχρίσματος.

Ἡ ξήρανση τοῦ ἐπιχρίσματος πρέπει νά γίνεται στή θερμοκρασία τοῦ περιβάλλοντος. Σχεδόν ποτέ δέ χρησιμοποιοῦμε φλόγα γιά νά ξηράνομε ἕνα ἐπίχρισμα. Ἄν βιαζόμαστε μποροῦμε μέ ἁπλές κινήσεις τῆς πλάκας στόν ἀέρα νά ἐπιταχύνομε τήν ξήρανση.

Μονιμοποίηση ἐπιχρίσματος.

Ἡ μονιμοποίηση μικροβιολογικοῦ ἐπιχρίσματος γίνεται συνήθως ἄν περάσομε τήν πλάκα ἀργά τρεῖς φορές πάνω ἀπό τή φλόγα τῆς λυχνίας Bunsen. Προκειμένου

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ὅμως νά χρωματίσομε σπειροχαῖτες, πρωτόζωα κλπ. ἡ μονιμοποίηση γίνεται μέ εἰδικά ὑγρά μονιμοποιήσεως.

7.3 Χρώσεις.

Ὅταν ἐξετάζομε τά μικρόβια στό μικροσκόπιο χωρίς νά τά χρωματίσομε, αὐτά δέν φαίνονται καλά ἤ ἐμφανίζονται ὡς λευκά σωματίδια, πού τά διάφορα χαρακτηριστικά τους δέν μποροῦμε νά τά διακρίνομε καθαρά. Γιά νά μπορέσομε νά παρατηρήσομε στό μικροσκόπιο τίς διάφορες λεπτομέρειες τοῦ μικροβιακοῦ κυττάρου, πρέπει μέ διάφορες τεχνικές μεθόδους, νά χρωματίσομε τά μικρόβια. Οἱ τρόποι χρώσεως τῶν μικροβίων διακρίνονται, ἀνάλογα μέ τή χρώση τοῦ μικροβίου ἤ τοῦ ὑποστρώματος, σέ ***θετικές*** καί ***ἀρνητικές*** καί, ἀνάλογα μέ τόν ἀριθμό τῶν χρωστικῶν πού χρησιμοποιοῦμε, σέ ***ἁπλές*** ἤ ***σύνθετες.***

Ἀρνητικές χρώσεις καλοῦνται οἱ μέθοδοι χρώσεως μέ τίς ὁποῖες χρωματίζεται μόνο τό περιβάλλον τοῦ μικροβιακοῦ κυττάρου καί τά μικρόβια παραμένουν ἄχροα.

Θετικές χρώσεις καλοῦνται οἱ μέθοδοι χρώσεως, πού χρωματίζουν τά μικροβιακά κύτταρα.

Ἁπλές, ὀνομάζομε τίς χρώσεις γιά τίς ὁποῖες χρησιμοποιοῦμε μία μόνο χρωστική καί ***σύνθετες*** ὅταν χρησιμοποιοῦνται δύο ἤ περισσότερες χρωστικές.

7.3.1 Χρώση κατά Gram.

Εἶναι ἡ σπουδαιότερη ἀπό ὅλες τίς χρώσεις. Μέ τή χρώση αὐτή ὁρισμένα μικρόβια ἄν χρωματισθοῦν μέ τή βασική χρωστική ἰῶδες τῆς γεντιανῆς ἤ κρυσταλλικό ἰῶδες ἤ ἰῶδες τοῦ μεθυλίου καί μετά ὑποστοῦν τήν ἐπίδραση ἰωδίου, κρατοῦν τήν ἰώδη χρωστική στερεά στό σῶμα τους καί δέν τήν ἀποδίδουν ὑπό τήν ἐπίδραση οἰνοπνεύματος ἤ ἀκετόνης (θετικά κατά Gram). Ἀντιθέτως ἄλλα μικρόβια, ἐνῶ χρωματίζονται ἀπό τίς βασικές ἰώδεις χρωστικές, ὑπό τήν ἐπίδραση οἰνοπνεύματος ἤ ἀκετόνης ἀποχρωματίζονται (ἀρνητικά κατά Gram).

Ὁ μηχανισμός τῆς χρώσεως κατά Gram ἀποδίδεται στήν ὀξειδωτική δράση τοῦ ἰωδίου, στή διαπερατότητα τοῦ κυτταρικοῦ τοιχώματος καί στή διαφορά χημικῆς συστάσεως τοῦ κυτταροπλάσματος τῶν μικροβίων. Προσοχή μεγάλη χρειάζεται στήν παρασκευή τοῦ ἐπιχρίσματος, γιατί τό πάχος του στή χρώση Gram μπορεῖ νά δώσει, σέ ἀνισόπαχο παρασκεύασμα, τά ἀρνητικά μικρόβια σάν θετικά ὅταν αὐτά βρεθοῦν σέ παχύτερα τμήματα τοῦ παρασκευάσματος.

Ἀπαιτούμενα διαλύματα.

1) Διάλυμα ἰώδους τῆς γεντιανῆς ἤ κρυσταλλικοῦ ἰώδους.
2) Διάλυμα Lugol, ἰσχυρό, δηλαδή ἰώδιο 1 g, ἰωδιοῦχο κάλιο 2 g μέσα σέ 100 ml νερό.
3) Μίγμα ἀπόλυτου οἰνοπνεύματος (60 μέρη) καί ἀκετόνης (40 μέρη) ἤ οἰνόπνευμα κοινό τοῦ ἐμπορίου.
4) Ἀραιό διάλυμα φαινικούχου φουξίνης ἤ ἀραιό διάλυμα σαφρανίνης.

Τεχνική.

Τό πρός ἐξέταση ὑλικό ἐπιστρώνεται καί μονιμοποιεῖται κατά τά γνωστά. Καλύπτεται τό μονιμοποιημένο ἐπίχρισμα μέ διάλυμα ἰώδους τῆς γεντιανῆς γιά 2 λεπτά

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ἤ μέ διάλυμα κρυσταλλικοῦ ἰώδους γιά 3 λεπτά. Ἐκπλύνεται καλά τό ἐπίχρισμα μέ ἄφθονο νερό καί ἀκολουθεῖ τό πιό εὐαίσθητο στάδιο τῆς χρώσεως. Προστίθεται διάλυμα Lugol καί ἀφήνεται γιά 2 λεπτά. Ἐκπλύνεται πάλι μέ νερό καί τό ἐπίχρισμα καλύπτεται μέ μίγμα οἰνοπνεύματος καί ἀκετόνης ἤ μόνο οἰνοπνεύματος. Ἀκολουθεῖ ἔκπλυση μέ νερό. Στή συνέχεια μεταχρωματίζεται μέ διάλυμα σαφρανίνης ἤ μέ διάλυμα ἀραιᾶς φαινικούχου φουξίνης γιά 30-60 δευτερόλεπτα. Ἔκπλυση πάλι μέ νερό, ξήρανση στόν ἀέρα ἤ μεταξύ δύο φύλλων διηθητικοῦ χαρτιοῦ καί τό παρασκεύασμα εἶναι ἕτοιμο γιά μικροσκόπηση.

7.3.2 Χρώση κατά Ziehl-Neelsen.

Μέ τή χρώση αὐτή χρωματίζομε μόνο τά ὀξυάντοχα μικρόβια, βακτηρίδια φυματιώσεως, λέπρας κλπ., τά ὁποῖα δέ χρωματίζονται μέ ἄλλες χρωστικές ἐπειδή ἔχουν κηρολιπῶδες περίβλημα. Μέ τήν πυκνή φαινικοῦχο φουξίνη πού χρησιμοποιοῦμε στήν τεχνική αὐτή, μποροῦμε σέ ψυχρό γιά πολλές ὧρες ἤ σέ θερμό γιά λίγα λεπτά περιβάλλον νά πετύχομε τό χρωματισμό τοῦ μικροβιακοῦ σώματος ἔτσι, ὥστε νά εἶναι ἀδύνατη ἡ ἀπομάκρυνση τῆς χρωστικῆς ὑπό τήν ἐπίδραση ὀξέων.

Ἀπαιτούμενα διαλύματα.

1) Πυκνή φαινικοῦχος φουξίνη κατά Ziehl-Neelsen.
2) Κυανό τοῦ μεθυλενίου κατά Löffler ἤ ὑδατικό διάλυμα πράσινο τοῦ μαλαχίτη 1%.
3) Οἰνόπνευμα καθαρό ἤ μετουσιωμένο πού νά περιέχει 3% ὑδροχλωρικό ὀξύ.

Τεχνική.

Προστίθεται στήν πλάκα ἡ φαινικοῦχος φουξίνη καί θερμαίνεται μέ φλόγα μέχρι νά παραχθοῦν ἀραιοί ἀτμοί (ἀποφεύγεται ὁ βρασμός). Ἀφήνεται ἡ χρωστική γιά 5-20 λεπτά τουλάχιστον. Ἡ θέρμανση τῆς πλάκας ἐπαναλαμβάνεται κατά διαστήματα γιά νά διατηρεῖται ἡ χρωστική θερμή καθόλο τό διάστημα τῆς χρώσεως. Προσοχή χρειάζεται γιά νά μήν ἀποξηρανθεῖ ἡ χρωστική στό παρασκεύασμα.

Ἀκολουθεῖ ἔκπλυση μέ νερό καί στή συνέχεια τό παρασκεύασμα ἐκπλύνεται μέ ὄξινο οἰνόπνευμα ὥσπου νά ἀποχρωματισθεῖ καί ἀκολουθεῖ πάλι ἔκπλυση μέ νερό. Μεταχρωματίζεται μέ κυανό τοῦ μεθυλενίου κατά Löffler ἤ μέ πράσινο τοῦ μαλαχίτη 30-60 δευτερόλεπτα. Ἔκπλυση μέ νερό, ἀποξήρανση καί μικροσκόπηση.

Τά ὀξυάντοχα μικρόβια χρωματίζονται ζωηρά ἐρυθρά, ἐνῶ τά ἄλλα μικρόβια κυανά ἤ πράσινα, ἀνάλογα μέ τό μεταχρωματισμό.

Ἐρωτήσεις.

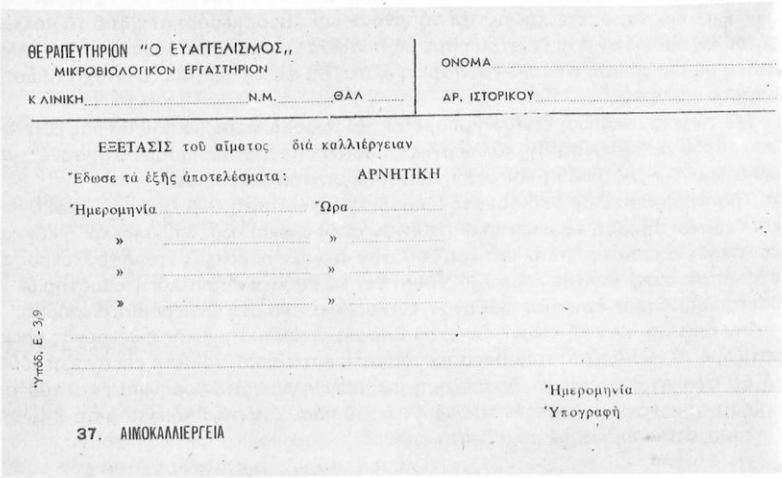
1. Τί εἶναι ἐπίχρισμα;
2. Πῶς παρασκευάζεται ἕνα ἐπίχρισμα;
3. Πῶς γίνεται ἡ ξήρανση τοῦ ἐπιχρίσματος;
4. Πῶς γίνεται ἡ μονιμοποίηση τοῦ ἐπιχρίσματος;
5. Ποιές χρώσεις λέμε θετικές, ἀρνητικές, ἁπλές καί σύνθετες;
6. Πῶς γίνεται ἡ Gram χρώση;
7. Ποιά εἶναι ἡ τεχνική τῆς Ziehl-Neelsen;
8. Ποιά εἶναι ἡ ἀρχή τῆς Gram χρώσεως;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.4 Ἀναζήτηση μικροβίων σέ διάφορα ὑλικά.

7.4.1 Αἱμοκαλλιέργεια.

Ἡ ἀναζήτηση μικροβίων στήν αἱμοκαλλιέργεια, θά γίνει μετά τήν 24ωρη ἐπώαση τῶν φιαλιδίων στό ζωμό ὅπου ἐμβολιάσθηκαν, ὅπως ἀναφέρουμε στό ἀντίστοιχο κεφάλαιο. Ἡ μικροσκοπική ἐξέταση γίνεται ἀπό φιαλίδια πού παρουσιάζουν θολερότητα. Παίρνομε μιά σταγόνα ἀπό τέτοιο φιαλίδιο καί τήν ἐξετάζομε ἀραιωμένη κάτω ἀπό τό μικροσκόπιο. Ἄν ὑπάρχουν μικρόβια κατά τήν ἐξέταση τῆς σταγόνας αὐτῆς, παίρνομε μιά ἄλλη καί τήν ἐξετάζομε ἀφοῦ γίνει χρωματισμός κατά Gram (σχ. 7.4).



ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ
ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ .....

ΟΝΟΜΑ .....
ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

ΕΞΕΤΑΣΙΣ τοῦ αἵματος διά καλλιέργειαν

Ἔδωσε τά ἑξῆς ἀποτελέσματα: ΑΡΝΗΤΙΚΗ

Ἡμερομηνία ..... Ὥρα .....
» ..... » .....
» ..... » .....
» ..... » .....

Ἡμερομηνία .....
Ὑπογραφή

37. ΑΙΜΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Ὑποδ. Ε - 3/9

Σχ. 7.4.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως αἱμοκαλλιέργειας.

7.4.2 Ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό.

Ἡ μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ γιά τήν ἀναζήτηση μικροβίων εἶναι ἀπαραίτητη. Τό δεῖγμα, πού ἔχομε πάρει, τό φυγοκεντροῦμε, ἐκτός ἄν εἶναι πολύ θολερό. Μιά σταγόνα ἀπό τό ἴζημα τοποθετεῖται πάνω σέ ἀντικειμενοφόρο πλάκα. Στεγνώνομε τήν πλάκα στόν ἀέρα, χρωματίζομε κατά Gram καί μικροσκοποῦμε. Τά μικρόβια πού μπορεῖ νά βροῦμε εἶναι:

α) Διπλόκοκκοι, Gram ἀρνητικοί (πρόκειται σχεδόν πάντα γιά μηνιγγιτιδόκοκκο).

β) Διπλόκοκκοι ἤ κόκκοι μέ κοντές ἁλυσίδες, Gram θετικοί (πρόκειται σχεδόν πάντα γιά τό πνευμονιόκοκκο).

γ) Βακτηρίδια λεπτά, Gram ἀρνητικά (πρόκειται σχεδόν πάντα γιά αἰμόφιλο).

Σέ ὅλες τίς ἄλλες περιπτώσεις δέν μποροῦμε ἀπό τή μικροσκοπική ἐξέταση νά βροῦμε τό εἶδος τοῦ μικροβίου καί χρειάζεται ἡ καλλιέργεια. Ἡ μικροσκοπική ἐξέ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ταση γίνεται καί γιά κυτταρολογική ἔρευνα. Ἀναζήτηση μικροβίων καί χαρακτηρισμός τοῦ εἴδους γίνεται καί ἀπό τίς ἀποικίες τῆς καλλιέργειας τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ.

7.4.3 Πύον.

Ἡ μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ πύου εἶναι ἀπαραίτητη μέθοδος ἐξετάσεως καί προηγεῖται τῆς καλλιέργειας. Παίρνομε τό δεῖγμα καί μέ κρίκο ἐπιστρώνομε τρεῖς ἀντικειμενοφόρες πλάκες. Ἄν τό πύον εἶναι λίγο σέ ποσότητα καί ἔχει ληφθεῖ μέ βαμβακοφόρο στειλεό, θά τό πάρομε ἀπό τό στειλεό μέ κρίκο γιά νά μήν μολυνθεῖ τό ὑπόλοιπο.

Στήν περίπτωση πού τό πύον εἶναι πολύ, τό βάζομε σέ τρυβλίο γιά νά δοῦμε μήπως ἔχει κοκκία, ὁπότε χρειάζεται νά γίνουν καί παρασκευάσματα ἀπό τά κοκκία αὐτά. Ἡ μία πλάκα πού ἐπιστρώσαμε μέ πύον θά χρωματισθεῖ κατά Gram, ἡ ἄλλη πλάκα μέ μία χρώση Giemsa καί ἡ τρίτη πλάκα θά φυλαχθεῖ γιά ὀξυάντοχη χρώση, ἐφόσον χρειασθεῖ.

Μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση μποροῦμε νά βροῦμε μικρόβια πού θά μᾶς βοηθήσουν στήν κατεύθυνση τῆς καλλιέργειας πού θά πραγματοποιήσομε στή συνέχεια, ἀλλά καμιά φορά ἀκόμη καί στήν ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου.

Τά μικρόβια πού βρίσκονται στή μικροσκοπική ἐξέταση εἶναι, κόκκοι Gram θετικοί ἐνδοκυττάριοι ἤ ἐξωκυττάριοι (πιθανόν σταφυλόκοκκοι), διπλόκοκκοι ἤ κόκκοι μέ μικρές ἀλυσίδες Gram θετικοί (πιθανόν πνευμονιόκοκκος ἤ ἐντερόκοκκος ἤ στρεπτόκοκκος), βακτηρίδια παχιά, Gram θετικά (πιθανόν βάκιλλοι ἤ κλωστηρίδια), βακτηρίδια Gram ἀρνητικά (πιθανόν ἐντεροβακτηρίδια ἤ ἀναερόβια μικρόβια).

Ἄν ἀπό τήν κλινική εἰκόνα ὑπάρχει ὑποψία μυκοβακτηριακῆς φλεγμονῆς χρωματίζομε τό ἕνα ἀπό τά τρία παρασκευάσματα κατά Ziehl-Neelsen καί ἀναζητοῦμε τά ὀξυάντοχα βακτηρίδια. Ἀναζήτηση μικροβίων γιά τήν ἀπομόνωση καί ταυτοποίηση τους κάνομε καί στήν καλλιέργεια τοῦ πύου ἀπό τίς ἀποικίες, μετά 24ωρη ἐπώαση στά τρυβλία μέ τά θρεπτικά ὑλικά.

7.4.4 Ὑγρά παρακεντήσεων.

Ἡ ἀναζήτηση μικροβίων στά ὑγρά παρακεντήσεων μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση εἶναι ἀπαραίτητη καί προηγεῖται τῆς καλλιέργειας. Ἀπό τό ἵζημα τῶν ὑγρῶν αὐτῶν ἑτοιμάζομε τρία ξηρά παρασκευάσματα. Τό ἕνα παρασκεύασμα χρωματίζεται κατά Gram, τό ἄλλο μέ Giemsa καί τό τρίτο κατά Ziehl-Neelsen. Ἄν ὑπάρχουν μικρόβια θά προχωρήσομε στήν καλλιέργεια.

7.4.5 Ἀρθρικό ὑγρό.

Ἡ ἀναζήτηση μικροβίων στό ἀρθρικό ὑγρό, γίνεται στό ἵζημά του μετά ἀπό φυγοκέντρηση. Στό μικροσκοπικό παρασκεύασμα πού χρωματίζεται κατά Gram βρίσκονται μικρόβια, ἀλλά ὄχι πάντοτε. Σέ περίπτωση πού βρεθοῦν μικροσκοπικῶς μικρόβια, γίνεται ὁπωσδήποτε καλλιέργεια γιά τήν ἀπομόνωση καί ταυτοποίησή τους. Τά συνηθέστερα μικρόβια εἶναι σταφυλόκοκκος, στρεπτόκοκκος, διάφορα Gram ἀρνητικά ἐντεροβακτηριοειδή, γονόκοκκος κλπ.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.4.6 Φαρυγγικό ἐπίχρισμα.

Μικροσκοπική ἐξέταση φαρυγγικοῦ ἐπιχρίσματος δέν χρειάζεται καί δέν πρέπει νά γίνεται οὔτε καί στήν περίπτωση πού ὑπάρχουν ὑποψίες γιά διφθερίτιδα, γιατί εἶναι ἀδύνατο νά κάνομε ταυτοποίηση τῶν μικροβίων ἀπό τή μορφολογία τους. Μικροσκοπική ἐξέταση πραγματοποιοῦμε ἀπό τίς ὕποπτες ἀποικίες τῆς καλλιέργειας τοῦ φαρυγγικοῦ ἐπιχρίσματος μετά ἀπό 24ωρη ἐπώαση. Γίνεται Gram χρώση καί μικροσκόπηση τοῦ παρασκευάσματος πού ἑτοιμάσαμε ἀπό κάθε ὕποπτη ἀποικία, καί ἀπό τή μορφολογία τῶν μικροβίων κάνομε τήν πρώτη ἀναγνώριση τῶν παθογόνων μορφῶν.

7.4.7 Πτύελα.

Ἀπό τό δεῖγμα τῶν πτυέλων στρώνομε 2-3 ἀντικειμενοφόρες πλάκες. Ἄν τό δεῖγμα τῶν πτυέλων εἶναι πολύ συμπαγές, ἡ ἐπίστρωση γίνεται καλύτερη ἄν συμπιέσομε τό δεῖγμα ἀνάμεσα σέ δύο ἀντικειμενοφόρες πλάκες. Χρωματίζομε τό ἕνα παρασκεύασμα κατά Gram καί τά δύο ἄλλα τά φυλᾶμε.

Ἀναζητοῦμε τά μικρόβια καί σημειώνομε αὐτά πού ἐπικρατοῦν, π.χ. Gram θετικοί διπλόκοκκοι, ἀρνητικά βακτηρίδια κλπ. Μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση δέν μποροῦμε νά βγάλομε κανένα συμπέρασμα, ἀλλά μᾶς βοηθᾶ στήν καλλιέργεια.

Ἄν ὑπάρχει ὑποψία γιά φυματίωση τό ἕνα παρασκεύασμα χρωματίζεται κατά Ziehl-Neelsen καί ἀναζητοῦμε τά μυκοβακτηρίδια. Μετά τήν καλλιέργεια τῶν πτυέλων, ἀπό τίς ὕποπτες ἀποικίες γίνονται μικροσκοπικά παρασκευάσματα καί ἀναζητοῦμε τά παθογόνα μικρόβια.

7.4.8 Κολπικό ἔκκριμα.

Μετά τή λήψη τοῦ δείγματος ἑτοιμάζομε μερικά μικροσκοπικά παρασκευάσματα, ἀπό τά ὁποῖα τό ἕνα νωπό καί τά ἄλλα ξηρά. Στό νωπό παρασκεύασμα ἀναζητοῦμε πυοσφαίρια καί τριχομονάδες. Ἄν βροῦμε τριχομονάδες δέν θά προχωρήσομε σέ γενική καλλιέργεια. Ἄν δέν βρεθοῦν πυοσφαίρια, θά ἀναβληθεῖ ἡ ἐξέταση γιά νά γίνει ὅταν ὑπάρχει ἔξαρση τῆς κολπίτιδας.

Στό παρασκεύασμα πού εἶναι Gram χρωματισμένο θά ἀναζητήσομε πάλι τά πυοσφαίρια, ἀλλά καί βλαστοσπόρια καί ψευδομυκητύλλια τῆς Candida. Ἀπό τή μικροσκόπιση τοῦ χρωματισμένου παρασκευάσματος θά πάρομε μιά γενική εἰκόνα τῆς χλωρίδας, κατά πόσο αὐτή εἶναι μονομικροβιακή ἤ πολυμικροβιακή, πλούσια ἤ φτωχή, διάσπαρτη ἤ συγκεντρωμένη. Τά περισσότερα ἀπό τά μικρόβια πού θά δοῦμε, δέν θά ἀναπτυχθοῦν στή γενική καλλιέργεια πού θά ἀκολουθήσει, εἴτε γιατί εἶναι γαλακτοβάκιλλοι εἴτε γιατί εἶναι αἰμόφιλοι εἴτε γιατί εἶναι ἀπαιτητικά ἤ αὐστηρά ἀναερόβια μικρόβια.

Μετά τήν ἐπώαση τῆς καλλιέργειας, ἀπό τίς ὕποπτες ἀποικίες γίνονται παρασκευάσματα πού χρωματίζονται κατά Gram καί μικροσκοποῦνται.

Γιά τήν ἀναζήτηση γονόκοκκου πρίν ἀπό τήν καλλιέργεια γίνεται ξηρό παρασκεύασμα μέ λεπτή ἐπίστρωση καί χρωματίζεται ἐπιμελῶς κατά Gram. Οἱ γονόκοκκοι ἐμφανίζονται σάν Gram ἀρνητικοί διπλόκοκκοι, ἐξωκυττάριοι καί ἐνδοκυττάριοι.

Προκειμένου νά ἀναζητήσομε τριχομονάδες κατασκευάζομε νωπό παρασκεύασμα καί μικροσκοποῦμε μέ ξηρούς φακούς. Οἱ τριχομονάδες ἐμφανίζονται ὡς κι-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

νούμενα στρογγυλά ἤ μακρουλά σωματίδια. Ἄν οἱ τριχομονάδες δέν κινοῦνται, φτιάχνομε εἰδική χρώση ὅπως εἶναι ἡ τρίχρωμη χρώση καί ἡ βραδεία Giemsa.

Οἱ μύκητες, πού ἀναζητοῦνται στό κολπικό ἔκκριμα, βρίσκονται ὅταν ἑτοιμάσομε ξηρό παρασκεύασμα καί τό χρωματίσομε μέ χρώση Gram.

7.4.9 Ἔκκριμα οὐρήθρας.

Μετά τή λήψη τοῦ δείγματος, παρασκευάζεται καί ἐξετάζεται ἀμέσως ἕνα νωπό παρασκεύασμα γιά πυοσφαίρια καί γιά τριχομονάδες. Ἕνα ἄλλο παρασκεύασμα χρωματίζεται μέ χρώση Gram γιά μύκητες καί γιά μικρόβια, ἄν ὑπάρχουν, καί τέλος ἕνα τρίτο παρασκεύασμα χρωματίζεται μέ χρώση Giemsa γιά κυτταρικά ἔγκλειστα.

Ἄν στό νωπό παρασκεύασμα βρεθοῦν τριχομονάδες ἡ ἐξέταση σταματᾶ καί δέν συνεχίζομε σέ καλλιέργεια. Στή Gram χρώση ἀναζητοῦμε τό γονόκοκκο. Ἄν βρεθοῦν μύκητες καί ἄλλα μικρόβια προχωροῦμε σέ καλλιέργεια, γιατί δέν μπορεῖ νά ἀξιολογηθεῖ ἡ παρουσία τῶν μικροβίων.

7.4.10 Δερματικές βλάβες.

Ἡ μικροσκοπική ἐξέταση ὑλικοῦ ἀπό δερματικές βλάβες, γίνεται πρίν ἀπό τήν καλλιέργεια καί ἀναζητοῦμε σέ χρωματισμένο κατά Gram ξηρό παρασκεύασμα κόκκους ἤ βακτηρίδια Gram θετικά ἤ ἀρνητικά.

Ἄν βρεθοῦν μικρόβια συνεχίζομε σέ καλλιέργεια, ἀπό τήν ὁποία μετά 24ωρη ἐπώαση ἀναζητοῦμε, ἀπό τίς ὕποπτες ἀποικίες, μέ Gram χρώση τά μικρόβια πού ἀναπτύχθηκαν.

Προκειμένου νά ἀναζητήσομε μύκητες παρασκευάζομε νωπά καί ἔγχρωμα παρασκευάσματα. Γιά τά νωπά παρασκευάσματα βάζομε σέ ἀντικειμενοφόρες πλάκες τρίχες ἤ λέπια καί μέ πιπέττα Pasteur σταγόνες NaOH 10%.

Θερμαίνομε τήν πλάκα πάνω ἀπό φλόγα μέχρι νά ἀρχίσουν νά βγαίνουν φυσαλίδες. Τοποθετοῦμε καλυπτρίδα καί μικροσκοποῦμε. Στά ἔγχρωμα παρασκευάσματα τοποθετοῦμε στήν ἀντικειμενοφόρο πλάκα τά λέπια καί μέ πιπέττα Pasteur προσθέτομε σταγόνες πυκνοῦ θειϊκοῦ ὀξέος. Θερμαίνομε τήν πλάκα πάνω ἀπό φλόγα ὥσπου νά βράσει τό ὀξύ καί νά ἐξατμισθεῖ. Προσθέτομε κυανό τοῦ μεθυλενίου καί, ἀφοῦ στεγνώσομε, μικροσκοποῦμε. Ἄν ἀναζητοῦμε τό μυκοβακτηρίδιο τῆς φυματιώσεως καί τῆς λέπρας χρωματίζομε μέ Ziehl-Neelsen.

7.4.11 Τραύματα.

Ἡ ἀναζήτηση μικροβίων στά διάφορα τραύματα, χειρουργικά, ἀπό ἀτυχήματα κλπ. γίνεται ὅπως στά ὑγρά παρακεντήσεων καί στό πύον.

Ἐρωτήσεις.

1. Ἀπό ποιά ὑλικά ἀναζητοῦμε μικρόβια;
2. Πῶς γίνεται ἡ μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ πύου;
3. Πῶς γίνεται ἡ μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
4. Στά πτύελα πῶς ἀναζητοῦμε τά μικρόβια;
5. Στό φαρυγγικό ἐπίχρισμα πῶς ἀναζητοῦμε τά μικρόβια;
6. Πῶς γίνεται ἡ ἀναζήτηση μικροβίων στά ὑγρά παρακεντήσεων;
7. Νά ἀναφέρετε τή μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ κολπικοῦ ἐκκρίματος.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

8. Πῶς γίνεται ἡ μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἐκκρίματος ῥῳῤῆθρας;
9. Στίς δερματικές βλάβες πῶς ἀναζητοῦμε τά μικρόβια;

7.5 Θρεπτικά ὑλικά.

Τά μικρόβια γιά νά ἀναπτυχθοῦν καί νά πολλαπλασιασθοῦν ἔχουν ἀνάγκη ἀπό κατάλληλη θερμοκρασία καί ἀτμόσφαιρα, καί ἀπό κατάλληλες θρεπτικές οὐσίες. Τά θρεπτικά ὑλικά εἶναι μίγματα διαφόρων οὐσιῶν, τά ὁποῖα προσφέρουν τίς εὐνοϊκές συνθῆκες γιά τή διατροφή καί τόν πολλαπλασιασμό τῶν μικροβίων in vitro. Μερικές ἀπό τίς οὐσίες αὐτές εἶναι πράγματι θρεπτικές γιά τά μικρόβια, ἐνῶ ἄλλες εἶναι παράγοντες αὐξήσεως ἤ προστατευτικές γιά τήν ἀνάπτυξή τους. Ἀπό τή μεταβολική δραστηριότητα τῶν μικροβίων τό θρεπτικό ὑπόστρωμα ἀλλοιώνεται καί ἡ ἀρχική ὄψη του μεταβάλλεται (θόλωση, παραγωγή ἀερίου, μεταβολή τοῦ pH). Ἔτσι παίρνομε πολύτιμα στοιχεῖα γιά τίς ἰδιότητες γενικά τῶν μικροβίων.

Γιά τήν παρασκευή θρεπτικῶν ὑλικῶν χρησιμοποιοῦνται ὡς πρῶτες ὕλες οἱ παρακάτω βασικές οὐσίες.

Πεπτόνη. Ἡ πεπτόνη εἶναι βιομηχανικό προϊόν καί παρασκευάζεται ἀπό διάφορες λευκωματοῦχες οὐσίες ὕστερα ἀπό εἰδική κατεργασία ὑπό τήν ἐπίδραση πεπτικῶν ἐνζύμων. Ὑπάρχει στό ἐμπόριο ὑπό μορφή σκόνης πού εἶναι διαλυτή στό νερό καί δέν καταστρέφεται οὔτε πήζει μέ τή θέρμανση. Οἱ πιό συνηθισμένες πεπτόνες ἐκτός ἀπό τήν κοινή πεπτόνη, εἶναι ἡ τρυπτόζη, ἡ πρωτεόζη καί ἡ τρυπτόνη.

Σάκχαρα. Ἀποτελοῦν βασικό συστατικό πολλῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν καί εἰδικῶς τῶν σακχαρούχων. Στό ἐμπόριο ὑπάρχουν εἴτε ὡς διαλύματα μέσα σέ φύσιγγες εἴτε ὡς σκόνη. Ἐκεῖνα πού χρησιμοποιοῦνται περισσότερο εἶναι ἡ γλυκόζη, ἡ λακτόζη, ἡ ἀραβινόζη, ἡ ραφφινόζη, ἡ ξυλόζη, τό ἄμυλο κλπ.

Ἐκχύλισμα κρέατος. Ἀπό τό κρέας ἐκχυλίζονται στό νερό διάφορες οὐσίες, ἀζωτοῦχες καί μή, ὅπως καί διάφορα ἅλατα. Οἱ οὐσίες αὐτές εἶναι διαλυτές στό νερό καί δέν πήζουν μέ τή θέρμανση. Στό ἐμπόριο ὑπάρχουν εἴτε ὡς σκόνη εἴτε ὡς πολτός.

Ἅλατα. Μέσα στά θρεπτικά ὑλικά προστίθενται ἅλατα πού χρησιμεύουν στά μικρόβια ὡς συμπληρωματικές οὐσίες καί ρυθμίζουν τήν πυκνότητα τῶν ἰόντων ὑδρογόνου. Ἐπίσης χρησιμεύουν σάν ἀνασταλτικές οὐσίες στήν ἀνάπτυξη ὁρισμένων μικροβίων.

Αἷμα. Εἶναι ἐξαιρετικό θρεπτικό ὑλικό καί περιέχει τούς παράγοντες πέντε καί δέκα πού εἶναι ἀπαραίτητοι γιά τήν ἀνάπτυξη τῶν αἱμοφίλων. Χρησιμοποιεῖται αἷμα προβάτου, κουνελιοῦ ἤ ἀλόγου. Προσθέτομε μέσα στά ὑποστρώματα ποσότητα 5-10%.

Ἄγαρ. Εἶναι οὐσία φυτικῆς προελεύσεως καί χρησιμοποιεῖται ὡς στερεωτικό τῶν ὑγρῶν θρεπτικῶν οὐσιῶν. Προσφέρεται σέ μορφή σκόνης καί ἀποτελεῖται ἀπό πολυσακχαρίδια καί ἅλατα ἀσβεστίου πού δέν προσφέρουν θρεπτικές οὐσίες στά μικρόβια. Λαμβάνεται ἀπό τά θαλάσσια φυτά καί διαλύεται στό νερό, ἐνῶ πήζει σέ θερμοκρασία κάτω ἀπό 40°C.

Χολή καί ἀσκιτικό ὑγρό. Χρησιμοποιεῖται κυρίως ἡ χολή βοδιοῦ πού λαμβάνεται ὅπως καί τό ἀσκιτικό ὑγρό, ἀσήπτως.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.5.1 Διαίρεση θρεπτικῶν ὑλικῶν.

Τά θρεπτικά ὑλικά τά διακρίνομε σέ:

1) ***Ἐμπειρικά***. Εἶναι τά θρεπτικά ὑλικά πού ἡ σύνθεσή τους δέν εἶναι ἀκριβῶς γνωστή, ἐπειδή γιά τήν παρασκευή τους χρησιμοποιοῦνται οὐσίες μέ πολύπλοκη καί μή σταθερή σύνθεση.

2) ***Συνθετικά***. Εἶναι τά θρεπτικά ὑλικά πού γνωρίζομε ἐπακριβῶς τή χημική τους σύνθεση.

3) ***Κοινά ἤ συνήθη***. Εἶναι τά θρεπτικά ὑλικά πού ἐπιτρέπουν τήν ἀνάπτυξη καί τόν πολλαπλασιασμό τῶν μικροβίων, πού οἱ μεταβολικές ἀνάγκες τους δέν εἶναι αὐξημένες. Στήν κατηγορία αὐτή τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν ἀνήκουν ὁ θρεπτικός ζωμός, ὁ πεπτικός ζωμός, τό θρεπτικό ἄγαρ, ὁ σακχαροῦχος ζωμός, ὁ αἱματοῦχος ζωμός, τό αἱματοῦχο ἄγαρ, ἡ σακχαροῦχος πεπτόνη, τό σοκολατοῦχο ἄγαρ κλπ.

4) ***Εἰδικά.*** Αὐτά χρησιμοποιοῦνται: α) γιά τήν καλλιέργεια ἀπαιτητικῶν μικροβίων πού δέν ἀναπτύσσονται σέ κοινά ὑλικά, β) γιά τή διευκόλυνση τῆς ἀπομονώσεως τῶν μικροβίων ἀπό μικροβιοβριθές ὑλικό καί γ) γιά τό διαχωρισμό τοῦ εἴδους ἤ τοῦ γένους τῶν ἀναπτυσσομένων μικροβίων.

Διακρίνονται σέ ***ἐμπλουτιστικά*** καί ***ἐκλεκτικά.***

Ἐμπλουτιστικά ὀνομάζονται τά ὑγρά θρεπτικά ὑλικά πού εὐνοοῦν τήν πιό γρήγορη ἀνάπτυξη ὁρισμένων μικροβίων καί παράλληλα σταματοῦν ἤ καθυστεροῦν τήν ἀνάπτυξη ἄλλων.

Ἐκλεκτικά ὀνομάζονται τά στερεά θρεπτικά ὑλικά, πού ἀναστέλλουν τήν ἀνάπτυξη ὁρισμένων μικροβίων, ἐπιτρέπουν ὅμως τήν ἀνάπτυξη ἄλλων.

7.5.2 Ρύθμιση τοῦ pH τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν.

Τό pH τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν ρυθμίζεται μετά τήν παρασκευή τους καί πρίν ἀπό τήν τελική ἀποστείρωση μέ τή βοήθεια κανονικῶν ἤ δεκατοκανονικῶν διαλυμάτων ὀξέων καί ἀλκαλίων. Ὁ προσδιορισμός τοῦ pH γίνεται ἄν συγκρίνομε τό χρῶμα τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ μετά τήν προσθήκη τοῦ δείκτη πρός τό χρῶμα πρότυπου διαλύματος πού ἔχει γνωστό pH.

7.5.3 Παρασκευή θρεπτικῶν ὑλικῶν.

Οἱ κυριότερες ἐργασίες γιά τήν παρασκευή θρεπτικοῦ ὑλικοῦ εἶναι:

α) ἡ συγκέντρωση τῶν ὑλικῶν,
β) ἡ ζύγιση,
γ) ἡ διάλυση τῶν συστατικῶν,
δ) ἡ διήθηση,
ε) ἡ διανομή,
στ) ἡ ἀποστείρωση,
ζ) ὁ ἔλεγχος ἀποστειρώσεως καί
η) ἡ διατήρηση τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν.

Συγκεντρώνομε τίς διάφορες οὐσίες ἀπό τίς ὁποῖες θά παρασκευασθεῖ τό θρεπτικό ὑλικό καθώς καί τά γυάλινα καί λοιπά σκεύη πού εἶναι ἀπαραίτητα γιά τήν παρασκευή καί ἀκολουθοῦμε τίς ὁδηγίες τοῦ οἴκου πού παρασκευάζει τίς διάφορες οὐσίες.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἡ ζύγιση τῶν οὐσιῶν πρέπει νά εἶναι ἀκριβής καί ἰδίως κατά τήν παρασκευή τῶν συνθετικῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν. Γιά τή ζύγιση χρησιμοποιοῦμε ζυγό ἀκριβείας.

Μετά τή ζύγιση, οἱ διάφορες οὐσίες διαλύονται συνήθως μέσα σέ ἀποσταγμένο νερό. Γιά τή διάλυση τῶν οὐσιῶν χρησιμοποιοῦμε δοχεῖο γυάλινο ἤ ἐμαγιέ καί ἐφαρμόζομε τήν τεχνική διαλύσεως πού δίνει ὁ παρασκευαστής τῶν οὐσιῶν.

Ἀκολουθεῖ ἡ διήθηση, μέ τήν ὁποία ἐπιτυγχάνεται ἡ ἀπομάκρυνση κάθε αἰωρούμενης οὐσίας καί ἡ λήψη θρεπτικοῦ ὑλικοῦ πού πρέπει νά εἶναι διαυγές. Γιά τά ἀφυδατωμένα θρεπτικά ὑλικά τοῦ ἐμπορίου χρησιμοποιοῦμε ἁπλή διήθηση μέ διηθητικό ἠθμό. Ὅσα θρεπτικά ὑλικά περιέχουν ζωμό τά διηθοῦμε μέ θέρμανση στούς 120°C γιά 20 λεπτά, ὁπότε καθιζάνουν τά διάφορα ἄλατα πού προκαλοῦν τή θόλωση.

Στή συνέχεια χρησιμοποιοῦμε ***χωνί-διανομέα,*** πού εἶναι γυάλινο καί φέρει στό ρύγχος του ἐλαστικό σωλήνα μέ πίεστρο, γιά τή διανομή τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ. Ἡ διανομή τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν γίνεται μέσα σέ ἀποστειρωμένα σκεύη καί σέ ποσότητα πού ἀναφέρεται στή συνταγή τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ. Ἄν τοποθετήσομε θρεπτικό ὑλικό σέ φιάλες, αὐτές πωματίζονται μέ βαμβάκι, καλύπτονται μέ χαρτί καί δένονται μέ σπάγγο.

Τά θρεπτικά ὑλικά ἀποστειρώνονται μετά τή διανομή τους σέ κλίβανο ὑγρῆς ἀποστειρώσεως. Ἄν τά συστατικά τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἀλλοιώνονται στήν ὑψηλή θερμοκρασία, ἡ ἀποστείρωση γίνεται μέ διήθηση καί σέ ὁρισμένες περιπτώσεις μέ τυνταλλισμό.

Προκειμένου νά διαπιστώσομε τήν ἐπιτυχία τῆς ἀποστειρώσεως, τοποθετοῦμε τά θρεπτικά ὑλικά σέ ἐπωαστικό κλίβανο μέ θερμοκρασία 37°C γιά 24-48 ὧρες. Στήν περίπτωση πού δέν ἔχομε κάνει σωστή ἀποστείρωση θά ἀναπτυχθοῦν μέσα στά θρεπτικά ὑλικά μικρόβια.

Τέλος μετά τόν ἔλεγχο τῆς ἀποστειρώσεως πρέπει νά λάβομε μέτρα γιά τή διατήρηση τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν. Ἄν αὐτά εἶναι τοποθετημένα σέ φιάλες ἤ σωλῆνες τά πωματίζομε γιά νά ἀποφύγομε τήν ἐξάτμιση καί ἀποξήρανση. Ὅλα τά θρεπτικά ὑλικά τά διατηροῦμε σέ ψυγεῖο μέ θερμοκρασία 4°C.

Τά θρεπτικά ὑλικά διακρίνονται σέ ὑγρά καί στερεά. Τά ὑγρά τοποθετοῦνται σέ γυάλινους σωλῆνες ἤ φιάλες διαφόρου μεγέθους, ἐνῶ τά στερεά σέ τρυβλία, σωλῆνες ἤ φιαλίδια.

Ἐρωτήσεις.

1. Τί ὀνομάζομε θρεπτικά ὑλικά;
2. Ποιές βασικές οὐσίες χρησιμοποιοῦνται ὡς πρῶτες ὕλες στά θρεπτικά ὑλικά;
3. Σέ τί διακρίνομε τά θρεπτικά ὑλικά;
4. Ποιές εἶναι οἱ κυριότερες ἐργασίες γιά τήν παρασκευή τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν;

7.6 Καλλιέργειες μικροβίων.

Καλλιέργεια ἑνός ἤ περισσοτέρων μικροβίων καλεῖται ἡ πλήρης ἀνάπτυξή τους μέσα σέ θρεπτικά ὑλικά. Ἡ καλλιέργεια ἀναγνωρίζεται στά ὑγρά θρεπτικά ὑλικά ἀπό τή θόλωση καί στά στερεά ἀπό τήν ἐμφάνιση ἀποικιῶν. Ἡ καλλιέργεια λοιπόν, ἀποβλέπει στήν ἀνάπτυξη τοῦ παθογόνου μικροβίου πού προκάλεσε ἀσθένεια. Ἄν

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ἐπιτύχομε τό σκοπό τῆς καλλιέργειας, ἐντοπίζομε τήν αἰτία τῆς ἀσθένειας καί μποροῦμε ἐπίσης νά δοκιμάσομε τήν εὐαισθησία τοῦ μικροβίου στά διάφορα ἀντιβιοτικά, μέ ἀποτέλεσμα νά βοηθήσομε στή θεραπεία. Ἄν τό ἐξεταστέο ὑλικό προέρχεται ἀπό περιοχή τοῦ σώματος πού φυσιολογικά δέν ὑπάρχουν μικρόβια καί δέν ἐπιμολύνεται ἀπό ἄλλα μικρόβια, τότε ἡ τεχνική τῆς καλλιέργειας καί ἡ ἀξιολόγηση τοῦ ἀποτελέσματος εἶναι εὔκολη ἐργασία.

Ἀντίθετα, ἄν τό ἐξεταστέο ὑλικό προέρχεται ἀπό περιοχή τοῦ σώματος πού ὑπάρχουν μικρόβια ἤ ἐπιμολύνεται ἀπό διάφορα μικρόβια, τότε ἡ τεχνική τῆς καλλιέργειας εἶναι διαφορετική καί ἡ ἀξιολόγηση τοῦ ἀποτελέσματος δύσκολη.

Τά παθολογικά ὑλικά πρέπει νά λαμβάνονται μέ ἄσηπτες συνθῆκες γιά νά ἀποφεύγεται ἡ ἐπιμόλυνσή τους. Τά διάφορα ἐργαλεῖα, μέ τά ὁποῖα λαμβάνομε τά παθολογικά ὑλικά καί τά στέλνομε στό ἐργαστήριο, πρέπει νά εἶναι ἀποστειρωμένα, καί ἡ ἀποστολή νά γίνεται ὅσο τό δυνατόν πιό γρήγορα.

Οἱ καλλιέργειες διακρίνονται σέ καλλιέργειες ὑλικῶν ἐκ φύσεως στείρων ὅπως, αἵματος, ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ, πύου καί ὑγρῶν ἀπό παρακεντήσεις, οὔρων καί ἀρθρικοῦ ὑγροῦ καί σέ καλλιέργειες ὑλικῶν μέ μικροβιακή χλωρίδα ὅπως, φαρυγγικοῦ καί ρινικοῦ, στοματικοῦ, λαρυγγικοῦ, παραρρινικῶν κόλπων, πτυέλων, κοπράνων, κολπικοῦ ἐκκρίματος, οὐρηθρικοῦ ἐκκρίματος, δερματικῶν βλαβῶν καί μολυσμένων τραυμάτων.

Ἡ τεχνική τῆς τοποθετήσεως μέσα σέ θρεπτικό ὑλικό ἑνός μικροβιακοῦ στελέχους ἤ ἑνός μικροβιοβριθοῦς ὑλικοῦ καλεῖται ***ἐνοφθαλμισμός*** ἤ ***ἐμβολιασμός*** ἤ ***σπορά.***

Ἡ τοποθέτηση γίνεται μέ τρόπο ἄσηπτο καί τά ἐργαλεῖα πού χρησιμοποιοῦνται πρέπει νά εἶναι ἀποστειρωμένα. Ἡ ἐργασία τοῦ ἐμβολιασμοῦ γίνεται πάντοτε κοντά στή φλόγα τῆς λυχνίας Bunsen. Χρησιμοποιοῦμε τά παρακάτω ἐργαλεῖα:

1. Μικροβιολογικό βελονοκάτοχο μέ κρίκο ἀπό πλατίνα (σχ. 7.6α).
2. Μικροβιολογικό βελονοκάτοχο μέ ἀκίδα ἀπό πλατίνα.
3. Σιφώνιο Pasteur.
4. Ἀριθμημένα σιφώνια.

7.6.1 Τρόποι ἐμβολιασμοῦ ἤ ἐνοφθαλμισμοῦ μικροβίων.

Ὁ ἐμβολιασμός τῶν μικροβίων μέσα στά θρεπτικά ὑλικά γίνεται μέ διάφορους τρόπους, ἀνάλογα μέ τό σκοπό πού ἐπιδιώκεται καί τό θρεπτικό ὑλικό πού χρησιμοποιεῖται. Οἱ τρόποι ἐνοφθαλμισμοῦ τῶν μικροβίων ἔχουν ἐφαρμογή τόσο κατά τήν ἀπομόνωση, ὅσο καί κατά τήν ταυτοποίησή τους.

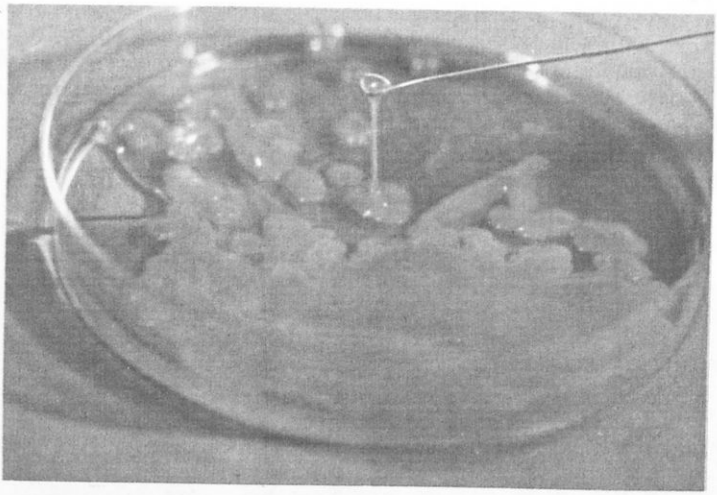
1) Ἐμβολιασμός μέσα σέ ὑγρά θρεπτικά ὑλικά.

Ὁ ἐμβολιασμός αὐτός γίνεται μέ κρίκο, προκειμένου νά ἐμβολιασθοῦν μικρόβια πού ἀναπτύχθηκαν σέ στερεό θρεπτικό ὑλικό. Ἐπίσης μέ κρίκο γίνεται ὁ ἐμβολιασμός ὅταν πρόκειται νά ἐμβολιασθεῖ μικρή ποσότητα ἀπό μικροβιοβριθές ὑλικό. Σιφώνιο Pasteur χρησιμοποιεῖται ὅταν πρόκειται νά ἐμβολιασθεῖ μεγάλη ποσότητα ἀπό μικροβιακό ἐναιώρημα (σχ. 7.6β).

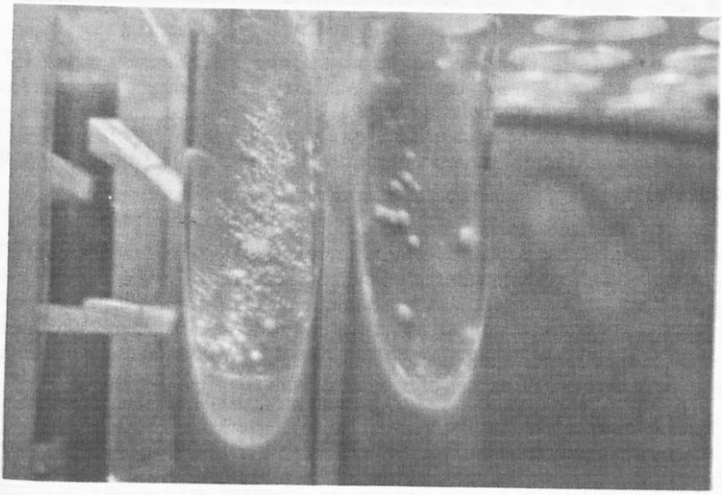
Ἡ ἐργασία γίνεται ὡς ἑξῆς:

Ἀποστειρώνομε τόν κρίκο σέ φλόγα ὥσπου νά ἐρυθροπυρακτωθεῖ. Περιμένομε νά κρυώσει ὁ κρίκος, τόν ὁποῖο κρατοῦμε σέ ἀπόσταση μικρότερη ἀπό 15 cm ἀπό τή φλόγα. Φορτίζεται ὁ κρίκος μέ μικροβιακό ὑλικό. Ἀφαιρεῖται τό πῶμα ἀπό

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



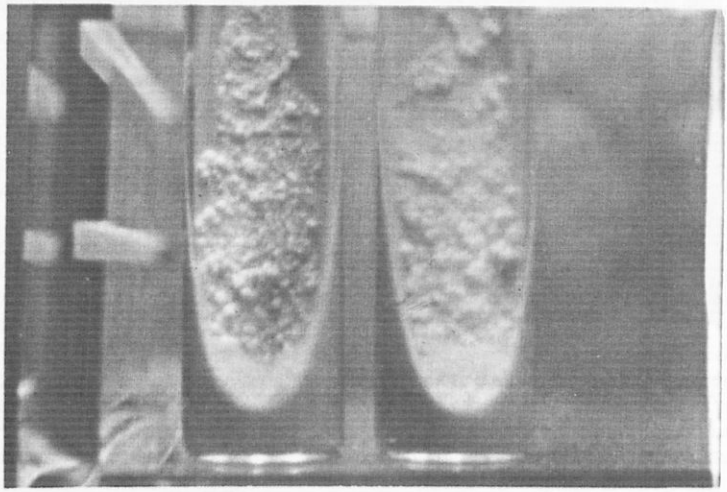
Σχ. 7.6α.
Λήψη μικρῆς ποσότητας ὑλικοῦ μέ μικροβιολογικό κρίκο ἀπό καλλιέργεια κλεμπσιέλλας.



Σχ. 7.6β.
Καλλιέργεια μυκοβακτηριδίου μέσα σέ σωληνάρια.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

τό σωληνάριο, καίγεται τό στόμιό του πάνω ἀπό τή φλόγα καί εἰσάγεται ὁ κρίκος μέσα στό σωληνάριο. Μέ κυματοειδεῖς κινήσεις ἐπιστρώνεται τό ὑλικό πάνω στήν ἐπιφάνεια τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ. Ὁ κρίκος ἐξέρχεται ἀπό τό σωλήνα, τό στόμιο τοῦ σωλήνα καίγεται πάλι πάνω στή φλόγα καί πωματίζεται, ἐνῶ ὁ κρίκος πυρακτώνεται πάλι γιά νά ἀποστειρωθεῖ (σχ. 7.6γ).



Σχ. 7.6γ.
Ἀποικίες μυκοβακτηριδίου φυματιώσεως σέ ὑλικό Loewenstein.

2) Ἐμβολιασμός μέ ἀριθμημένο σιφώνιο.

Γίνεται ὅταν τό παθολογικό ὑλικό εἶναι ὑγρό καί ἡ ποσότητα τοῦ ὑλικοῦ πού πρόκειται νά ἐμβολιασθεῖ συγκεκριμένη, π.χ. 1 ml, 2 ml κλπ. Τά σιφώνια πού θά χρησιμοποιηθοῦν πρέπει νά εἶναι ἀποστειρωμένα.

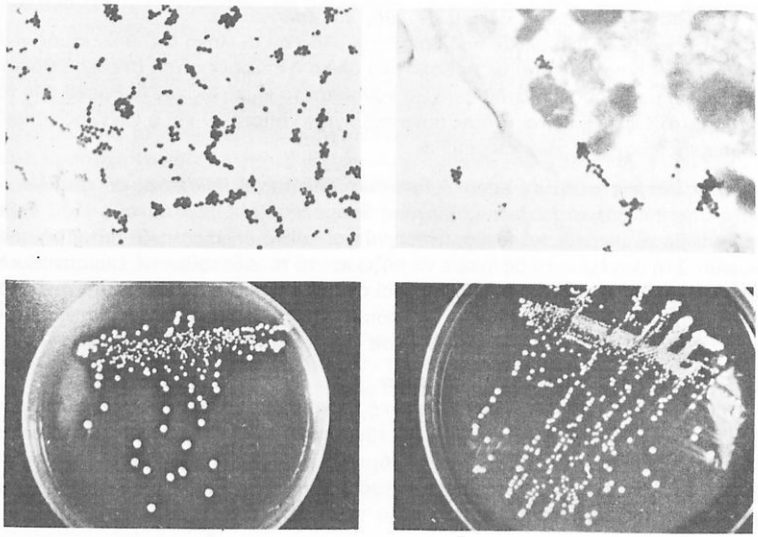
3) Ἐμβολιασμός μέ σιφώνιο Pasteur.

Ὁ ἐμβολιασμός αὐτός γίνεται ὅταν τό παθολογικό ὑλικό εἶναι ὑγρό καί ἡ ποσότητα πού πρόκειται νά ἐμβολιασθεῖ μιά ἤ περισσότερες σταγόνες. Ἡ ὅλη ἐργασία γίνεται ὡς ἑξῆς: Ὅταν πρόκειται νά χρησιμοποιήσομε τό σιφώνιο Pasteur, σπᾶμε τό λεπτό ἄκρο του καί τό ἀποστειρώνομε ἐξωτερικά, περνώντας το 2-3 φορές πάνω ἀπό φλόγα. Πραγματοποιοῦμε ἀναρρόφηση τοῦ παθολογικοῦ ὑλικοῦ καί ἡ μεταφορά στό θρεπτικό ὑλικό γίνεται ὅπως ἀκριβῶς καί μέ τόν κρίκο.

4) Ἐμβολιασμός σέ πλάκα ἄγαρ.

Ἡ πλάκα ἄγαρ παρασκευάζεται, ἄν μέσα σέ ἀποστειρωμένο τρυβλίο τοποθετήσομε 15-20 ml θρεπτικό ἄγαρ. Μετά τή στερεοποίηση τοῦ ὑλικοῦ μέσα στό τρυβλίο, ξηραίνομε τήν ἐπιφάνειά του τοποθετώντας τό τρυβλίο ἀνοικτό μέσα στόν ἐπωαστικό κλίβανο σέ θερμοκρασία 37°C ἐπί 20-30 λεπτά. Ἡ ἐπίστρωση σέ πλάκα ἄγαρ γίνεται γιά νά πετύχομε ἀνάπτυξη μεμονωμένων ἀποικιῶν (σχ. 7.6δ).

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 7.6δ.
Καλλιέργειες καί παρασκευάσματα σταφυλόκοκκου.

Ἡ ἐργασία γίνεται ὡς ἑξῆς:

Μέ τόν κρίκο πού ἔχει φορτισθεῖ μέ παθολογικό ὑλικό, ἐπιστρώνομε μικρή περιοχή Α τῆς ἐπιφάνειας τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ. Ἐρυθροπυρακτώνομε τόν κρίκο καί τόν ἀφήνομε νά κρυώσει. Ἐπιστρώνομε στή συνέχεια γειτονική περιοχή Β κατά τέτοιο τρόπο, ὥστε μικρός ἀριθμός μικροβίων τῆς Α περιοχῆς νά παραληφθεῖ ἀπό τόν κρίκο καί νά ἐπιστρωθεῖ στήν Β περιοχή. Ἐρυθροπυρακτώνομε πάλι τόν κρίκο καί μέ τόν ἴδιο τρόπο ἐπιστρώνομε περιοχή Γ καί περιοχή Δ.

Μεμονωμένες ἀποικίες μποροῦμε νά πετύχομε καί ἄν ἀραιώσομε τό πρός ἐξέταση παθολογικό ὑλικό μέσα σέ στεῖρο ζωμό ἤ στεῖρο ἰσότονο διάλυμα χλωριούχου νατρίου. Ποσότητα ἑνός κρίκου ἀπό τήν ἀραίωση αὐτή ἤ μιά σταγόνα ἐπιστρώνεται πάνω στήν ἐπιφάνεια τοῦ τρυβλίου μέ τό ἄγαρ.

Προκειμένου νά ἐπιτύχομε ὁμοιόμορφη καί διάχυτη ἀνάπτυξη πάνω στήν πλάκα, τοποθετοῦμε μέ στεῖρο σιφώνι ποσότητα 1 ml περίπου ἀπό τό μικροβιακό ὑλικό πάνω στήν ἐπιφάνεια τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ καί μέ κατάλληλες κινήσεις ἐπιστρώνομε τό παθολογικό ὑλικό πάνω σέ ὅλη τήν ἐπιφάνεια τῆς πλάκας.

5) Ἐμβολιασμός στερεοῦ ὑλικοῦ σέ ὑψηλή στήλη.

Τό θρεπτικό ὑλικό βρίσκεται μέσα σέ σωληνάριο, σέ στερεά μορφή καί σέ στήλη ὕψους 8-10 cm. Ὁ ἐμβολιασμός γίνεται ὄχι μέ κρίκο ἀλλά μέ σύρμα μέ κεντρική νύξη τοῦ ὑλικοῦ ἀπό τήν ἐπιφάνεια καθέτως πρός τόν πυθμένα. Ἡ νύξη φθάνει σέ βάθος 1 cm ἀπό τόν πυθμένα τοῦ σωλήνα.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

6) Ἐμβολιασμός στερεοῦ ὑλικοῦ μέ νύξη καί ἐπίστρωση.

Σέ στερεό θρεπτικό ὑλικό, πού βρίσκεται μέσα σέ σωλήνα ὁ ἐμβολιασμός γίνεται ὡς ἑξῆς: Ἐπιστρώνεται μέ παθολογικό ὑλικό ἡ ἐπιφάνεια τοῦ στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ μέ σύρμα καί στή συνέχεια τρυπιέται τό ὑλικό ὥς τόν πυθμένα. Μέ τόν τρόπο αὐτό ἐπιτυγχάνεται ἡ σύγχρονη παραγωγή ἀποικιῶν καί ὁ ἔλεγχος κάποιας βιοχημικῆς ἰδιότητας τῶν μικροβίων.

7) Ἐμβολιασμός μέσα σέ στερεό θρεπτικό ὑλικό πού βρίσκεται σέ τρυβλίο.

Τό θρεπτικό ὑλικό λειώνει καί ὅταν ἡ θερμοκρασία κατέβει στούς 45°C ἐμβολιάζεται μέ τό μικροβιακό ὑλικό, ἀναμιγνύεται καί τό μίγμα τοποθετεῖται μέσα σέ τρυβλίο. Στή συνέχεια τό ἀφήνομε νά πήξει καί τό τοποθετοῦμε σέ ἐπωαστικό κλίβανο γιά ἐπώαση. Μέ τόν τρόπο αὐτό οἱ ἀποικίες ἀναπτύσσονται μέσα στό ἄγαρ καί ὄχι στήν ἐπιφάνεια τῆς πλάκας. Ὁ τρόπος αὐτός ἐμβολιασμοῦ γίνεται γιά τή μέτρηση τοῦ ἀριθμοῦ τῶν μικροβίων μέσα σέ ὁποιοδήποτε ὑγρό ὑλικό.

8) Ἐμβολιασμός ἀναερόβιων μικροβίων.

Πρίν ἀπό τόν ἐμβολιασμό, τό θρεπτικό ὑλικό, πού βρίσκεται μέσα σέ σωληνάριο, λειώνει καί ὅταν ἡ θερμοκρασία κατέβει στούς 45°C ἐμβολιάζεται μέ τό μικροβιακό ὑλικό. Τό ἀνακατεύομε, τό ἀφήνομε νά πήξει καί τό τοποθετοῦμε στόν ἐπωαστικό κλίβανο γιά ἐπώαση. Μέ τόν τρόπο αὐτό οἱ ἀποικίες τῶν ἀναερόβιων μικροβίων ἀναπτύσσονται μέσα στή μάζα τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ.

9) Ἐμβολιασμός μέσα σέ σωληνάριο τοῦ Graigle.

Ὁ τρόπος αὐτός ἐμβολιασμοῦ γίνεται προκειμένου νά ἀπομονώσομε κινούμενα μικρόβια ἀπό κάποιο μικροβιακό ἐναιώρημα.

10) Ταυτόχρονος ἐμβολιασμός μέσα σέ ὑγρό καί στερεό θρεπτικό ὑλικό ἤ διφασική καλλιέργεια.

Μέ τόν τρόπο αὐτό ἐπιτυγχάνεται ἡ ταυτόχρονη ἀνάπτυξη τῶν μικροβίων μέσα σέ ὑγρό ὑλικό καί ἡ παραγωγή ἀποικιῶν σέ στερεό θρεπτικό ὑλικό.

Ἐρωτήσεις.

1. Τί καλεῖται καλλιέργεια μικροβίων;
2. Τί ὀνομάζομε ἐνοφθαλμισμό ἤ ἐμβολιασμό ἤ σπορά μικροβιακοῦ ὑλικοῦ;
3. Μέ ποιούς τρόπους ἐμβολιάζομε τά μικρόβια στά θρεπτικά ὑλικά;
4. Πῶς γίνεται ὁ ἐμβολιασμός μέσα σέ ὑγρά θρεπτικά ὑλικά;
5. Πῶς γίνεται ὁ ἐμβολιασμός μέ ἀριθμημένο σιφώνιο καί σιφώνιο Pasteur;
6. Πῶς γίνεται ὁ ἐμβολιασμός σέ πλάκα ἄγαρ;
7. Νά ἀναφέρετε τόν ἐμβολιασμό στερεοῦ ὑλικοῦ μέ νύξη καί ἐπίστρωση.
8. Νά ἀναφέρετε τόν ἐμβολιασμό στερεοῦ ὑλικοῦ σέ ὑψηλή στήλη.
9. Πῶς γίνεται ὁ ἐμβολιασμός ἀναερόβιων μικροβίων;
10. Πῶς γίνεται ὁ ἐμβολιασμός μέσα σέ στερεό θρεπτικό ὑλικό πού βρίσκεται σέ τρυβλίο;

7.7 Τρόποι ἐπωάσεως καλλιεργειῶν.

1) Ἐπώαση ἀερόβιας καλλιέργειας.

Ἡ ἐπώαση γίνεται σέ κλίβανο ἐπωαστικό, ὅπου ἡ θερμοκρασία διατηρεῖται σταθερή, περίπου στούς 37°C καί ὑπάρχει καί ποσό ὑγρασίας. Ἡ ἐπώαση μπορεῖ νά γίνει καί σέ ὑδατόλουτρο, ὅταν ἔχομε καλλιέργειες σέ σωλῆνες. Τά θρεπτικά ὑ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

λικά πού ἔχουν ἐμβολιασθεῖ καί βρίσκονται μέσα σέ σωλῆνες, τρυβλία, φιάλες καί λοιπά, τοποθετοῦνται μέσα σέ κλίβανο. Τά σωληνάρια τοποθετοῦνται σέ συρμάτινα καλάθια πού ἔχουν βαμβάκι στόν πυθμένα. Τά τρυβλία τοποθετοῦνται μεμονωμένα ἤ τό ἕνα πάνω στό ἄλλο, ὄχι περισσότερα ἀπό τρία, καί ἀνεστραμμένα, δηλαδή τό κάλυμμα πρός τό δάπεδο τοῦ κλιβάνου. Μέ τόν τρόπο αὐτό οἱ παραγόμενοι ὑδρατμοί ἀπό τό θρεπτικό ὑλικό παραμένουν μέσα στόν ἀέρα τοῦ τρυβλίου. Μεγάλη προσοχή χρειάζεται γιά νά μή γίνει ἀποξήρανση τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ. Γιά νά διατηρεῖται τό ποσό τῶν ὑδρατμῶν σταθερό μέσα στόν κλίβανο τοποθετοῦμε μέσα σ' αὐτόν κομμάτια βαμβάκι βρεγμένα μέ νερό ἤ ποτήρι μέ νερό. Ὁ χρόνος πού διαρκεῖ ἡ ἐπώαση ἐξαρτᾶται ἀπό τό εἶδος τῶν καλλιεργουμένων μικροβίων, ἀλλά συνήθως κυμαίνεται ἀπό 24-72 ὧρες.

2) Ἐπώαση ἀναερόβιας καλλιέργειας.

Ἡ ἐπώαση τῆς ἀναερόβιας καλλιέργειας κατορθώνεται ἄν τοποθετήσομε τίς καλλιέργειες μέσα σέ εἰδικά δοχεῖα, ἀπό τά ὁποῖα μποροῦμε νά ἀφαιρέσομε τό ὀξυγόνο. Ἄν δέν διαθέτομε εἰδικά δοχεῖα προσπαθοῦμε νά αὐξήσομε τήν ἀναγωγική δύναμη τοῦ ὑλικοῦ. Αὐτό γίνεται ὡς ἑξῆς:

α) Μέ βρασμό τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ.
β) Μέ καλλιέργεια σέ ὑψηλή στήλη.
γ) Μέ καλλιέργεια παρουσία ἀναγωγικῶν οὐσιῶν (σιδήρου, θειογλυκολικοῦ ζωμοῦ κλπ.).

7.8 Μορφολογία καλλιεργειῶν.

Τά μικρόβια, ὅταν ἀναπτυχθοῦν μέσα στά θρεπτικά ὑλικά, προκαλοῦν μεταβολές, πού μποροῦν νά χρησιμεύσουν γιά τό διαχωρισμό καί μερικές φορές γιά τήν ἀναγνώριση τῶν μικροβίων. Ἡ ἀνάπτυξη μικροβίων μέσα στά θρεπτικά ὑλικά μπορεῖ νά προκαλέσει θόλωση. Ἡ θόλωση αὐτή μπορεῖ νά εἶναι ὁμοιόμορφη ἤ πιό ἔντονη στόν πυθμένα ἤ στήν ἐπιφάνεια. Ἄλλες φορές μπορεῖ νά ἐμφανισθεῖ μικρή ἤ μεγάλη κροκύδωση πού νά αἰωρεῖται ἤ νά καθιζάνει στόν πυθμένα. Ἐπίσης ἡ ἀνάπτυξη τῶν μικροβίων μπορεῖ νά προκαλέσει τήν ἐμφάνιση ***ὑμενίου*** πού μπορεῖ νά εἶναι λεπτό ἤ παχύ.

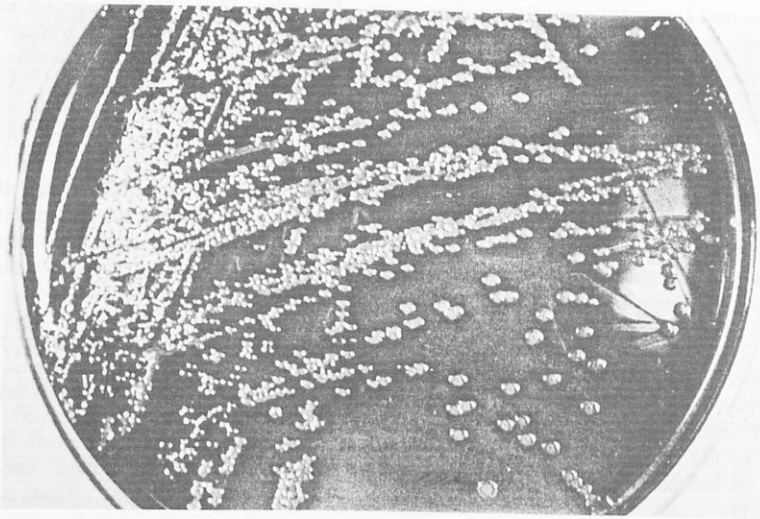
Στά στερεά θρεπτικά ὑλικά παράγονται οἱ ***ἀποικίες*** (σχ. 7.8). Ἡ μορφολογία τῶν ἀποικιῶν ἀποτελεῖ σπουδαῖο κριτήριο γιά τό διαχωρισμό τῶν μικροβίων.

Στήν ἀποικία μᾶς ἐνδιαφέρει:

1) Τό σχῆμα (κυκλικό, ἀκτινοειδές κλπ.).
2) Τό μέγεθος (μετροῦμε τή διάμετρο σέ χιλιοστόμετρα).
3) Τό ὕψος (ἀποικία ἐπηρμένη, θολωτή, χαμηλή κλπ.).
4) Ἡ ὄψη τῆς ἐπιφάνειας (ὁμαλή, ρυτιδωμένη κλπ.).
5) Τά ἄκρα (περιγεγραμμένη, κυματοειδής κλπ.).
6) Τό χρῶμα (κίτρινη, κυανή κλπ.).
7) Ἡ διαφάνεια (διαφανής, θολερή κλπ.).
8) Ἡ σύσταση.

Ἡ μελέτη τῶν ἀποικιῶν γίνεται εἴτε μέ κοινό φακό εἴτε μέ εἰδικό μικροσκόπιο ἀποικιῶν.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 7.8.
Καλλιέργεια κολοβακτηριδίου σέ τρυβλίο Petry.

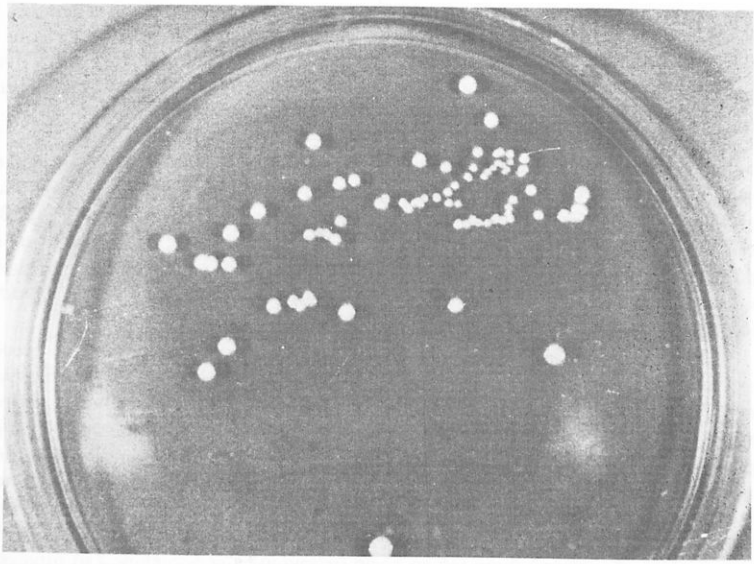
7.9 Μορφολογία ἀποικιῶν διαφόρων μικροβίων.

1) Σταφυλόκοκκος	Ἀποικίες μεγάλες κιτρινωπές ἤ λευκωπές (σχ. 7.9α).
2) Στρεπτόκοκκος	Ἀποικίες συμπαγεῖς λευκές, μέ ζώνη αἱμολύσεως γύρω τους.
3) Πνευμονιόκοκκος	Ἀποικίες ἄχρωμες, διαφανεῖς μέ βαθούλωμα στό μέσο.
4 Μηνιγγιτιδόκοκκος	Ἀποικίες μεγάλες, στρογγυλές, γκριζωπές.
5) Σαλμονέλλα	Ἀποικίες μεγάλες γκριζωπές.
6) Βρουκέλλα	Ἀποικίες μικρές.
7) Ψευδομονάδα	Ἀποικίες μεγάλες πράσινες (σχ. 7.9β).
8) Κολοβακτηρίδιο	Ἀποικίες ροδοκόκκινες στό Mac Conkey.
9) Κλεμπσιέλλα	Ἀποικίες ροδοκόκκινες στό Mac Conkey.
10) Πρωτέας	Παρουσιάζει ἐρπυσμό στήν καλλιέργεια.

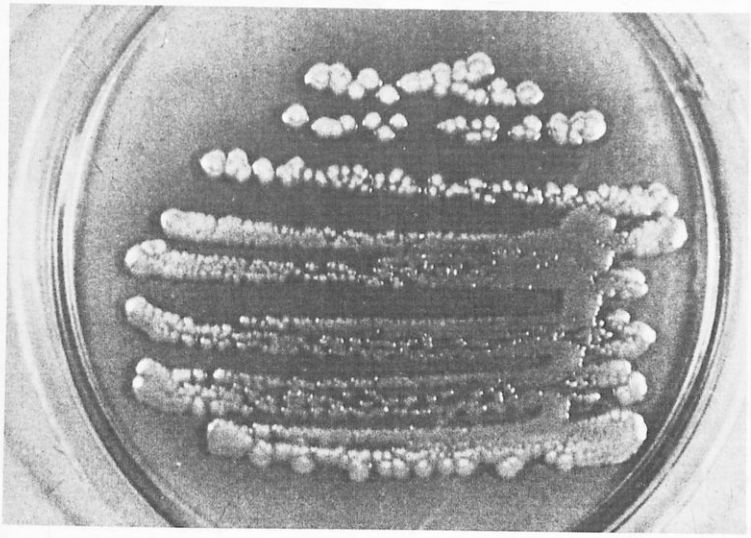
Ἐρωτήσεις.

1. Πῶς γίνεται ἡ ἐπώαση ἀερόβιας καλλιέργειας;
2. Πῶς γίνεται ἡ ἐπώαση ἀναερόβιας καλλιέργειας;
3. Τί προκαλοῦν τά μικρόβια ὅταν ἀναπτυχθοῦν σέ ὑγρά θρεπτικά ὑλικά καί τί σέ στερεά;
4. Τί μᾶς ἐνδιαφέρει στή μορφολογία μιᾶς ἀποικίας;
5. Ποιά εἶναι ἡ μορφολογία τῶν ἀποικιῶν τῶν κυριοτέρων μικροβίων;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 7.9α.
Καλλιέργεια σταφυλόκοκκου σέ τρυβλίο Petry.



Σχ. 7.9β.
Καλλιέργεια ψευδομονάδας σέ τρυβλίο Petry.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.10 Ἀπομόνωση καί ταυτοποίηση μικροβίων.

Τελικός σκοπός τῆς μικροβιολογικῆς ἐξετάσεως ἑνός παθολογικοῦ ὑλικοῦ εἶναι ἡ ἀπομόνωση καί ἡ ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου, πού προκάλεσε τήν ἀσθένεια.

α) Ἀπομόνωση μικροβίου.

Καλεῖται ὁ διαχωρισμός τοῦ μικροβίου ἀπό τά ἄλλα μικρόβια τοῦ μικροβιακοῦ ὑλικοῦ καί ἡ λήψη του σέ καθαρή καλλιέργεια. Γιά τήν ἀπομόνωση τῶν μικροβίων χρησιμοποιεῖται ἀρχικά ἕνα ὑγρό θρεπτικό ὑλικό, ὅπου ἀναπτύσσονται τά μικρόβια πού ἐπιθυμοῦμε τήν ἀπομόνωσή τους. Μετά τήν ἀνάπτυξη τῆς καλλιέργειας σέ ὑγρό θρεπτικό ὑλικό, ἐμβολιάζεται στερεό θρεπτικό ὑλικό γιά τή λήψη μεμονωμένων ἀποικιῶν, πού ἀποτελοῦν καί τήν ἀπομόνωση τῶν μικροβίων. Ἡ ὅλη ἐργασία γιά τήν ἀπομόνωση ἀεροβίων μικροβίων γίνεται ὡς ἑξῆς:

Παρασκευάζομε ἀπό τό παθολογικό ὑλικό νωπά καί χρωματισμένα παρασκευάσματα, τά ὁποῖα μικροσκοποῦμε. Ἀπό τή μικροσκόπηση παίρνομε τίς πρῶτες πληροφορίες πού καθορίζουν τήν ἐπιλογή τῶν καταλλήλων γιά τόν ἐμβολιασμό θρεπτικῶν ὑλικῶν. Σημειώνομε τίς ἀποικίες πού ἔχουν ἀναπτυχθεῖ καί μεταφέρομε μέ κρίκο κάθε μία μέσα σέ σωληνάριο, πού περιέχει 1 ml θρεπτικό ζωμό. Ἀπό κάθε σωληνάριο παρασκευάζονται πάλι νωπά καί χρωματισμένα παρασκευάσματα πού μικροσκοποῦνται. Μέ τόν τρόπο αὐτό καθορίζεται ποιές ἀποικίες ἀνήκουν σέ διαφορετικά μικρόβια. Ἀπό κάθε σωληνάριο ἐμβολιάζονται 3-4 σωλῆνες κεκλιμένου ἄγαρ ἤ πλάκα θρεπτικοῦ ἄγαρ γιά τή λήψη μεμονωμένων ἀποικιῶν. Στή συνέχεια μία ἀποικία μεταφέρεται σέ κεκλιμένο ἄγαρ καί ἡ καλλιέργεια, πού θά ἀναπτυχθεῖ σέ αὐτό ἀποτελεῖ τήν ***καθαρή καλλιέργεια*** τοῦ μικροβίου.

Καθαρή καλλιέργεια μικροβίου, εἶναι αὐτή πού προκύπτει ἀπό τόν ἐμβολιασμό θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἀπό μιά μεμονωμένη ἀποικία.

β) Ταυτοποίηση μικροβίου.

Καλεῖται ὁ ἀκριβής προσδιορισμός τοῦ εἴδους τοῦ μικροβίου καί εἶναι μία ἀπό τίς πιό δύσκολες ἐργασίες τοῦ ἐργαστηρίου. Ἡ ταυτοποίηση βασίζεται στόν ἔλεγχο τῶν μορφολογικῶν, καλλιεργητικῶν, βιοχημικῶν, ὀρολογικῶν καί λοιπῶν χαρακτήρων τοῦ ἐξεταζόμενου μικροβίου.

7.11 Δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά. Μέθοδος τῶν δισκίων.

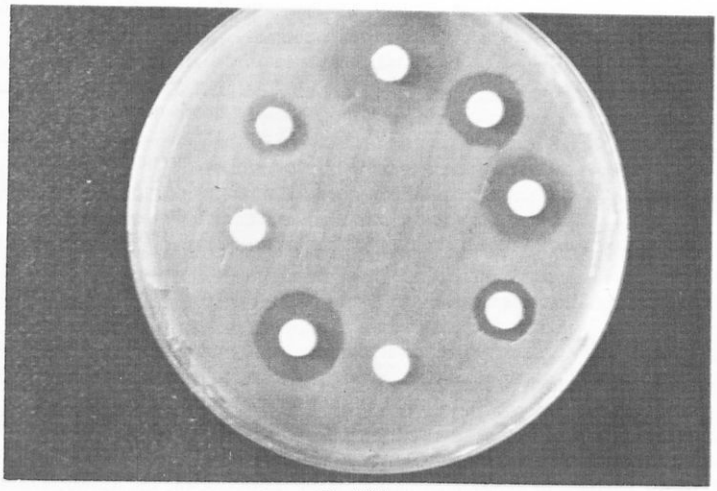
Ἡ δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά γίνεται μέ πολλούς τρόπους, ἀλλά ἐπικράτησε ἡ μέθοδος τῶν δισκίων πού εἶναι γρήγορη, ἁπλή καί φτηνή (σχ. 7.11α).

Τεχνική.

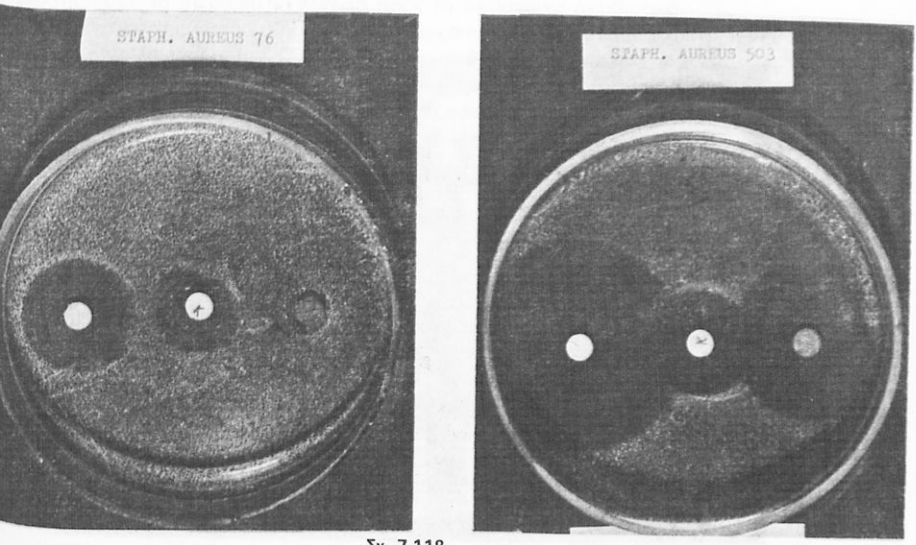
Στήν ἐπιφάνεια στερεοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ, πού εἶναι κυρίως αἱματοῦχο ἄγαρ ἤ θρεπτικό ἄγαρ, ἐπιστρώνεται τό πρός ἐξέταση μικροβιακό ὑλικό, πού μπορεῖ νά εἶναι καθαρό καλλιέργημα μικροβίου ἤ ἔκκριμα ἤ παθολογικό ὑλικό ἀπό τόν ἀσθενή.

Στήν ἴδια ἐπιφάνεια τοποθετοῦνται δισκία ἀπό διηθητικό χαρτί ποτισμένα μέ διάφορα ἀντιβιοτικά. Τά δισκία ὑπάρχουν ἕτοιμα στό ἐμπόριο, ἀλλά μποροῦν νά παρασκευασθοῦν καί στό ἐργαστήριο. Ἡ παρασκευή τῶν δισκίων, πού εἶναι διαμέτρου 0,3-0,8 cm, εἶναι ἁπλή καί γίνεται ἄν ρίξομε μία σταγόνα ἀπό τό ἀντιβιοτι-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 7.11α.
Δοκιμασία ἀναισθησίας στά ἀντιβιοτικά.
Μέθοδος δισκίων.

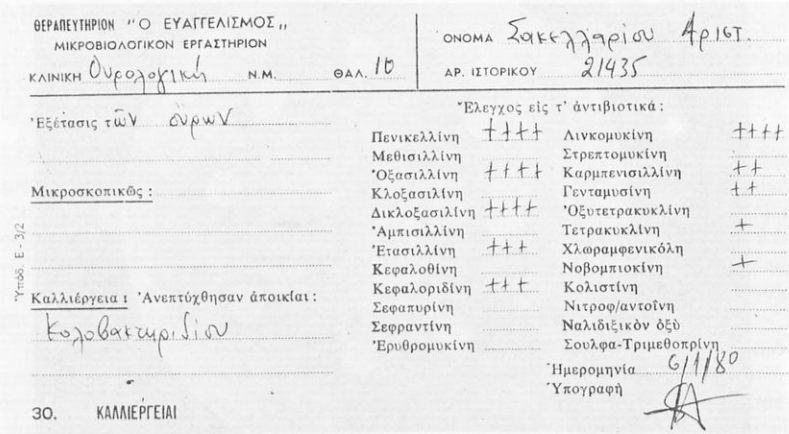


Σχ. 7.11β.
Ἀντιβιογράμματα.
Βλέπομε διαφορές στήν διάμετρο τῆς ζώνης ἀναστολῆς στίς δύο εἰκόνες.

κό πάνω στό δισκίο ἀπό διηθητικό χαρτί, πού μετά τό ξηραίνομε στόν ξηροκλίβανο.

Ἡ τοποθέτηση τῶν δισκίων στήν ἐπιφάνεια τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ γίνεται σέ ἀπόσταση 1 cm ἀπό τήν περιφέρεια. Μετά τήν τοποθέτηση στό θρεπτικό ὑλικό τοῦ πρός ἐξέταση ὑλικοῦ καί τῶν δισκίων μέ τά ἀντιβιοτικά, τό τοποθετοῦμε στόν κλίβανο γιά ἐπώαση.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ"
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ
ΚΛΙΝΙΚΗ Ουρολογική Ν.Μ. ΘΑΛ. 10

ΟΝΟΜΑ Σακελλαρίου Αριστ.
ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ 21435

Ἐξέτασις τῶν οὔρων

Μικροσκοπικῶς :

Καλλιέργεια : Ἀνεπτύχθησαν ἀποικίαι :
Κολοβακτηρίδιον

Ὑποδ. Ε - 3/2

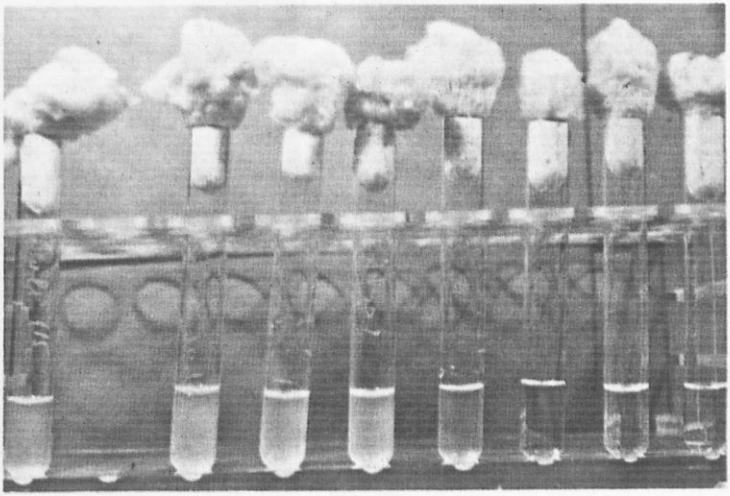
Ἔλεγχος εἰς τ' ἀντιβιοτικά :

Πενικελλίνη	++++	Λινκομυκίνη	++++
Μεθισιλλίνη		Στρεπτομυκίνη	
Ὀξασιλλίνη	++++	Καρμπενισιλλίνη	++
Κλοξασιλίνη		Γενταμυσίνη	++
Δικλοξασιλίνη	++++	Ὀξυτετρακυκλίνη	
Ἀμπισιλλίνη		Τετρακυκλίνη	+
Ἐτασιλλίνη	+++	Χλωραμφενικόλη	
Κεφαλοθίνη		Νοβομπιοκίνη	+
Κεφαλοριδίνη	+++	Κολιστίνη	
Σεφαπυρίνη		Νιτροφ/αντοΐνη	
Σεφραντίνη		Ναλιδιξικὸν ὀξὺ	
Ἐρυθρομυκίνη		Σουλφα-Τριμεθοπρίνη	

Ἡμερομηνία 6/1/80
Ὑπογραφή

30. ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΙ

Σχ. 7.11γ
Τρόπος ἐγγραφῆς σέ ἔντυπο ἀπαντήσεως τοῦ ἀποτελέσματος τῆς καλλιέργειας οὔρων.



Σχ. 7.11δ.
Δοκιμασία εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά.
Μέθοδος σωληναρίων.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Μέσα στόν κλίβανο τά ἀντιβιοτικά τῶν δισκίων διαχέονται στό θρεπτικό ὑλικό, ἐνῶ ἐπάνω στήν ἐπιφάνεια τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἀναπτύσσεται τό μικρόβιο καί σχηματίζει «τάπητα» διάχυτης ἀναπτύξεως. Στά σημεῖα ὅμως τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ στά ὁποῖα ὑπάρχουν τά ἀντιβιοτικά, πρός τά ὁποῖα τό μικρόβιο εἶναι εὐαίσθητο δέ γίνεται ἀνάπτυξη τοῦ μικροβίου ἀλλά δημιουργεῖται μία κυκλική ζώνη ἀναστολῆς γύρω ἀπό τό δισκίο πού ἔχει τό ἀντιβιοτικό πρός τό ὁποῖο τό μικρόβιο εἶναι εὐαίσθητο. Ἀντίθετα δέν δημιουργεῖται καμία ζώνη γύρω ἀπό τά δισκία πού ἔχουν ἀντιβιοτικά πρός τά ὁποῖα τό μικρόβιο ἔχει ἀντοχή. Ἡ ἔκταση τῆς ζώνης ἀναστολῆς εἶναι πιό μεγάλη ὅσο τό μικρόβιο εἶναι πιό πολύ εὐαίσθητο πρός τό ἀντιβιοτικό καί πιό μικρή ὅσο πιό μικρή εἶναι ἡ εὐαισθησία τοῦ μικροβίου στό ἀντιβιοτικό (σχ. 7.11β).

Ἡ ἀνάγνωση τοῦ ἀποτελέσματος μπορεῖ νά γίνει καί μόλις περάσουν 8-12 ὧρες, ἀλλά καλύτερα εἶναι νά γίνεται μετά 24 ὧρες.

Τό ἀποτέλεσμα ἀναγράφεται σέ εἰδικό ἔντυπο, ἀφοῦ πρῶτα ἀναφέρομε τή μορφολογία τῆς ἀποικίας καί ποιό ἀκριβῶς μικρόβιο ἀπομονώθηκε. Ἡ ἔκθεση τοῦ ἀντιβιογράμματος περιλαμβάνει τό βαθμό τῆς εὐαισθησίας τοῦ μικροβίου πρός τά διάφορα ἀντιβιοτικά καί ἐκφράζεται σέ σταυρούς, ἀπό 4 ὡς 1 (σχ. 7.11γ).

Μέ 4 σταυρούς θά χαρακτηρίσομε τή ζώνη ἀναστολῆς, πού μοιάζει μέ τή ζώνη ἀναστολῆς τοῦ προτύπου καί θά χαρακτηρίσομε τήν εὐαισθησία πολύ μεγάλη. Μέ ἕνα σταυρό θά ἐκφράσομε τήν πιό μικρή ζώνη ἀναστολῆς καί θά χαρακτηρίσομε τήν εὐαισθησία μικρή. Τέλος ἐκεῖ ὅπου δέν ἀναπτύχθηκε ζώνη ἀναστολῆς θά χαρακτηρίσομε τό μικρόβιο ἀνθεκτικό πρός τό ἀντίστοιχο ἀντιβιοτικό.

Ἐκτός ἀπό τή μέθοδο τῶν δισκίων, ὑπάρχουν καί ἄλλες μέθοδοι, ὅπως ἡ ***μέθοδος τῶν σωληναρίων*** (σχ. 7.11δ) καί ἡ ***μέθοδος τῆς αὔλακας.***

7.12 Καλλιέργειες μικροβίων ἀπό διάφορα ὑλικά.

7.12.1 Αἱμοκαλλιέργεια.

Ἡ αἱμοκαλλιέργεια βοηθᾶ σημαντικά στή διάγνωση καί θεραπεία βαριῶν συνήθως ἀσθενειῶν, γι' αὐτό θεωρεῖται ἡ πιό διαγνωστική ἀπό ὅλες τίς μικροβιολογικές ἐξετάσεις.

Τά μικρόβια πού ζητᾶμε νά βροῦμε στό αἷμα εἶναι σταφυλόκοκκος, χρυσίζων ἤ λευκός, στρεπτόκοκκος, πρασινίζων ἤ αἱμολυτικός, πνευμονιόκοκκος, ἐντερόκοκκος, μηνιγγιτιδόκοκκος, σαλμονέλλες, βρουκέλλες, πρωτεῖς, ψευδομονάδες καί κλεμπσιέλλες.

Ἡ λήψη τοῦ αἵματος γίνεται κάτω ἀπό αὐστηρά ἄσηπτες συνθῆκες καί ἡ ποσότητα πού παίρνομε πρέπει νά εἶναι τό 10% περίπου τοῦ ζωμοῦ. Τό αἷμα ἐμβολιάζεται σέ ἕνα ἤ περισσότερα φιαλίδια πού περιέχουν θειογλυκολικό ζωμό, ἤ ζωμό μέ τρυπτικάση καί σόγια ἤ ζωμό μέ ἐκχύλισμα καρδιᾶς καί ἐγκεφάλου βοδιοῦ καί 1% γλυκόζη. Τά φιαλίδια τοποθετοῦνται σέ κλίβανο μέ 37°C καί τήν ἑπομένη χωρίς νά τά ἀνακινήσομε ἀναζητοῦμε τυχόν ἀλλαγή.

Ἀπό τά φιαλίδια παίρνομε ζωμό γιά ἀνακαλλιέργεια καί μικροσκοπική ἐξέταση. Ἡ ἀνακαλλιέργεια γίνεται σέ τρυβλίο μέ αἱματοῦχο ἄγαρ. Στό τρυβλίο τήν ἑπομένη, μετά δηλαδή ἀπό 24ωρη ἐπώασή του, γίνεται ἡ ἀνάγνωση τῆς ἀνακαλλιέργειας καί ἡ ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.12.2 Καλλιέργεια ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ.

Ἡ λήψη τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ, γίνεται μέ ὀσφυονωτιαία παρακέντηση. Τά μικρόβια πού ζητᾶμε εἶναι μηνιγγιτιδόκοκκος, πνευμονιόκοκκος, πρωτεῖς, ψευδομονάδες, μυκοβακτηρίδιο φυματιώσεως, αἰμόφιλος τῆς γρίππης καί κλεμπσιέλλες. Τό δεῖγμα τοῦ ὑγροῦ φυγοκεντρεῖται καί ἀπό τό ἴζημα μεταφέρονται σταγόνες σέ θρεπτικά ὑλικά, κατά προτίμηση ὑλικό Levinthal πού εἶναι βρασμένο αἱματοῦχο ἄγαρ στό σωληνάριο πηγμένο σέ λοξή θέση ἤ αἱματοῦχο ἄγαρ σέ τρυβλίο ἤ σοκολατοῦχο ἄγαρ σέ τρυβλίο. Μετά ἀπό ἐπώαση 24 ὡρῶν γίνεται ἡ ἀνάγνωση τῆς καλλιέργειας καί ἡ ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου.

Στό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό γίνονται καί εἰδικές καλλιέργειες, ὅπως στή φυματιώδη μηνιγγίτιδα, τήν κρυπτοκοκκική καί τή μηνιγγίτιδα ἀπό λιστέριες.

7.12.3 Καλλιέργεια πύου.

Ἄν τό πύον πάρθηκε ἀπό κλειστή κοιλότητα μέ παρακέντηση ἤ χειρουργική διάνοιξη, θά ἐξετασθεῖ ὅπως τό αἷμα καί τό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό. Ἀντίθετα σέ πύον πού πάρθηκε ἀπό συρίγγιο, ἀπό χειρουργικό τραῦμα καί ἀπό εἰδικές φλεγμονές, θά ἐξετασθεῖ διαφορετικά μέ εἰδικές καλλιέργειες. Ἄν τό πύον εἶναι ἄφθονο τό παίρνομε μέ σύριγγα. Ἄν εἶναι λίγο ἤ πολύ παχύ τό παίρνομε μέ βαμβακοφόρο στειλεό καί τό βάζομε σέ ὑλικό Stuart. Τά μικρόβια πού βρίσκομε στή γενική καλλιέργεια εἶναι σταφυλόκοκκος χρυσίζων, αἰμολυτικός στρεπτόκοκκος, πνευμονιόκοκκος, ψευδομονάδα, πρωτεῖς κ.ἄ.

Ἀπό τό δεῖγμα πύου μεταφέρονται μικρές ποσότητες:

α) σέ τρεῖς ἀντικειμενοφόρες πλάκες γιά μικροσκοπική ἐξέταση,

β) σέ τρυβλίο μέ αἱματοῦχο ἄγαρ γιά ἀερόβια ἀνάπτυξη,

γ) σέ ἕνα δεύτερο τρυβλίο μέ αἱματοῦχο ἄγαρ γιά ἀναερόβια ἀνάπτυξη καί

δ) σέ σωληνάριο μέ θειογλυκολικό ζωμό γιά ἀνακαλλιέργεια, σέ περίπτωση ἀρνητικῶν καλλιεργειῶν στά τρυβλία. Μετά 24ωρη ἐπώαση στούς 37°C ἀναζητοῦμε στά τρυβλία ἀποικίες μικροβίων. Γίνεται μικροσκοπική ἐξέταση ἀπό κάθε εἶδος ἀποικίας καί στή συνέχεια ἀπομόνωση καί ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου. Σέ περίπτωση πού δέν γίνει ἀνάπτυξη ἀποικιῶν στά τρυβλία, πραγματοποιοῦμε ἀνακαλλιέργεια ἀπό τό ζωμό σέ δύο τρυβλία μέ αἱματοῦχο ἄγαρ γιά ἀερόβια καί ἀναερόβια ἀνάπτυξη.

7.12.4 Καλλιέργεια σέ ὑγρά παρακεντήσεων.

Τά ὑγρά παίρνονται μέ παρακέντηση ἀπό τόν κλινικό ἰατρό. Διακρίνομε τά ἑξῆς ὑγρά παρακεντήσεως: πλευριτικό, περικαρδικό, ἀρθρικό, ἰγμορίων, ἀσκιτικό.

Μικρόβια πού ἀναζητοῦμε εἶναι: πνευμονιόκοκκος, αἰμολυτικός στρεπτόκοκκος, πρασινίζων στρεπτόκοκκος, χρυσίζων σταφυλόκοκκος, γονόκοκκος, μυκοβακτηρίδιο φυματιώσεως, μηνιγγιτιδόκοκκος καί διάφορα ἐντεροβακτηριακά. Τά ὑγρά τοποθετοῦνται σέ ἀποστειρωμένα σωληνάρια καί ἀπό τό ἴζημά τους μπολιάζονται δύο τρυβλία αἱματούχου ἄγαρ καί ἕνα σωληνάριο μέ θειογλυκολικό ζωμό.

Μετά τήν ἐπώαση, ἄν ἀναπτυχθοῦν ἀποικίες, γίνεται ἀπομόνωση καί ταυτοποίηση μικροβίου. Διαφορετικά ἀπό τό σωληνάριο μέ τό θειογλυκολικό ζωμό γίνεται ἀνακαλλιέργεια.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.12.5 Καλλιέργεια φαρυγγικοῦ ἐπιχρίσματος.

Ἡ λήψη γίνεται μέ βαμβακοφόρο στειλεό πού ἀμέσως μπαίνει σέ σωληνάριο μέ ὑλικό συντηρήσεως Stuart. Ἡ καλλιέργεια μπορεῖ νά εἶναι ἁπλή ἤ πλήρης καί ἡ διαφορά τους εἶναι ὅτι στή δεύτερη χρησιμοποιοῦνται περισσότερα θρεπτικά ὑλικά ἀπό τό αἱματοῦχο ἄγαρ τῆς ἁπλῆς. Ἡ σπορά γίνεται σέ δύο τρυβλία, ἀπό τά ὁποῖα τό ἕνα ἐπωάζεται σέ φιάλη ἀναερόβιας καλλιέργειας καί τό ἄλλο ἀεροβίως. Τήν ἄλλη ἡμέρα γίνεται ἡ ἀνάγνωση καί ἀναζητοῦμε ἀποικίες παθογόνων μικροβίων, κυρίως πνευμονιόκοκκου, αἱμολυτικοῦ στρεπτόκοκκου καί αἱμόφιλου τῆς γρίππης. Ἀπό τίς ὕποπτες ἀποικίες γίνεται ἀνακαλλιέργεια σέ νέο αἱματοῦχο ἄγαρ καί τήν ἑπομένη κάνομε ἀπομόνωση, ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου καί δοκιμή εὐαισθησίας.

7.12.6 Καλλιέργεια πτυέλων.

Μαζεύονται τά πρωϊνά πτύελα σέ ἀποστειρωμένο τρυβλίο καί ἀπό ὅλη τήν ποσότητα τῶν πτυέλων διαλέγομε ἕνα κομμάτι, τό πιό πυῶδες. Ἄν τό κομμάτι τῶν πτυέλων εἶναι πολύ συμπαγές, τό τοποθετοῦμε σέ ἀποστειρωμένο τρυβλίο καί μέ φυσιολογικό ὀρό ἀνακατεύομε καί παίρνομε κατάλληλο δεῖγμα γιά τήν καλλιέργεια.

Ἡ σπορά γίνεται σέ δύο τρυβλία μέ αἱματοῦχο ἄγαρ, ἀπό τά ὁποῖα τό ἕνα ἐπωάζεται σέ φιάλη ἀναερόβιας καλλιέργειας, σέ ἕνα τρυβλίο μέ ἄγαρ Mac Conkey καί σέ ἕνα σωληνάριο μέ ἄγαρ Sabouraud. Μετά 24ωρη ἐπώαση στούς 37°C, ἀναζητοῦμε τίς ὕποπτες ἀποικίες τῶν διαφόρων παθογόνων μικροβίων (πνευμονιόκοκκο, αἱμόφιλο, σταφυλόκοκκο, στρεπτόκοκκο, κλεμπσιέλλα), γίνονται ἀνακαλλιέργειες, ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου καί δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά. Τό Sabouraud ἐξετάζεται γιά πολλές μέρες. Στά πτύελα γίνονται εἰδικές καλλιέργειες γιά μύκητες, μυκόπλασμα, φυματίωση κλπ.

7.12.7 Καλλιέργεια κοπράνων.

Ἡ καλλιέργεια κοπράνων μπορεῖ νά γίνει ὡς γενική καλλιέργεια, ἀλλά καί ὡς εἰδική γιά διαγνωστικούς καί ἐπιδημιολογικούς σκοπούς, ὅπως σέ ἐπιδημικές διάρροιες, χολέρα, τροφική δηλητηρίαση κλπ.

Στά κόπρανα ὑπάρχει φυσιολογικά ἄφθονη μικροβιακή χλωρίδα, ὅπως ἐντερόκοκκος, σταφυλόκοκκος, στρεπτόκοκκος, βακτηριοειδή, ψευδομονάδα, κολοβακτηρίδια, πρωτεῖς, κάντιντες, γι' αὐτό κατά τήν καλλιέργεια χρησιμοποιοῦνται μέθοδοι πού ἀποβλέπουν στό νά ἐμποδίζουν τήν ἀνάπτυξη τῶν μικροβίων αὐτῶν, πού θά ἐκάλυπταν τήν ἀνάπτυξη τῶν παθογόνων, πού εἶναι σαλμονέλλες, σιγκέλλες, ἐσχερίχιες καί εὐκαιριακά ὁ χρυσίζων σταφυλόκοκκος, τά κολοβακτηρίδια, ἡ ψευδομονάδα, οἱ πρωτεῖς κλπ.

Τό καλύτερο δεῖγμα κοπράνων μποροῦμε νά τό πάρομε ἀπό μία πρόσφατη διαρροϊκή κένωση. Ἐπειδή ὅμως ὑπάρχουν κίνδυνοι διασπορᾶς στό περιβάλλον καί δυσκολίες στή διακίνηση, παίρνομε δεῖγμα μέ βαμβακοφόρο στειλεό εἴτε ἀπό τά κόπρανα ἀμέσως μετά τήν κένωση εἴτε ἀπό τό ὀρθό.

Ἀμέσως μετά τή λήψη τό δεῖγμα τοποθετεῖται σέ σωληνάριο μέ συντηρητικό

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Stuart. Ἡ σπορά γίνεται σέ 6 θρεπτικά ὑλικά. Σέ ἄγαρ Mac Conkey γιά τήν ἀνά πτυξη ἐσχεριχιῶν, σέ D.C.A. γιά τήν ἀνάπτυξη σιγκελλῶν καί σαλμονελλῶν, σέ ζω μό μέ σεληνίτη γιά τήν ἀνάπτυξη σαλμονελλῶν, σέ ἄγαρ κοινό, θρεπτικό γιά τήν ἀ νάπτυξη πρωτέων καί ψευδομονάδας, σέ ἄγαρ Chapman γιά τήν ἀνάπτυξη σταφυ λόκοκκου καί σέ ἄγαρ Sabouraud γιά τήν ἀνάπτυξη μυκήτων. Ἡ ἐπώαση ὅλων τῶ θρεπτικῶν ὑλικῶν γίνεται σέ κλίβανο μέ 37°C ὡς τήν ἐπομένη.

Κατά τήν ἀνάγνωση μετά τήν 24ωρη ἐπώαση, στό Mac Conkey ἀναγνωρίζον ται οἱ ἀποικίες τῶν ἐσχεριχιῶν καί γίνεται ὀροσυγκόλληση μέ ἀντι-ορούς ἐσχερι χιῶν. Στό D.C.A. ὑλικό γίνεται ἡ ἀναγνώριση τῶν σιγκελλῶν καί σαλμονελλῶν κα κάνομε τίς δοκιμές συγκολλήσεως μέ ὀρούς σιγκελλῶν καί σαλμονελλῶν. Ἀπό τί ἀποικίες τοῦ D.C.A. ἤ τοῦ Mac Conkey κάνομε ἀνακαλλιέργειες σέ κοινό θρεπτικ ὑλικό καί σέ νέο Mac Konkey καί τήν ἐπομένη ἔχομε ἄφθονη ἀνάπτυξη καί καθαρ καλλιέργημα. Μετά τήν ταυτοποίηση τοῦ μικροβίου γίνεται καί ἡ δοκιμή εὐαισθη σίας στά διάφορα ἀντιβιοτικά.

7.12.8 Καλλιέργεια κολπικοῦ ἐκκρίματος.

Ἡ καλλιέργεια κολπικοῦ ἐκκρίματος παρουσιάζει πολλές δυσκολίες στήν ἀπο-μόνωση τοῦ μικροβίου καί κυρίως στήν ἀξιολόγηση τοῦ ἀποτελέσματος, ἐπειδή ὑ-πάρχει ἄφθονη καί ποικίλη μικροβιακή χλωρίδα (σταφυλόκοκκος λευκός, κορυνο-βακτηρίδια, ἀναερόβιοι στρεπτόκοκκοι, βακτηριοειδή, μυκοπλάσματα, σπορογόνοι βάκιλλοι, αἰμόφυλος τοῦ κόλπου, ἐντερόκοκκος κλπ.). Μικρόβια πού εἶναι πάντοτε παθογόνα στόν κόλπο καί τά ἀναζητοῦμε εἶναι τριχομονάδες, κάντιντα, γονόκοκ-κος, σπειροχαίτη σύφιλης.

Καλλιέργεια γίνεται ἐφόσον ἔχει ἀποκλεισθεῖ ἡ κολπίτιδα ἀπό τριχομονάδες καί μύκητες. Ἡ λήψη τοῦ δείγματος γίνεται μετά ἀπό τοπικό καθαρισμό, μέ γυάλινη πι-πέττα πού ἔχει στό ἕνα ἄκρο δυνατό πουάρ. Ἡ λήψη μπορεῖ νά γίνει καί μέ βαμβα-κοφόρο στειλεό.

Τό δεῖγμα τοποθετεῖται σέ σωληνάριο μέ ὑλικό συντηρήσεως Stuart ἤ μέ λίγο θειογλυκολικό ζωμό καί ἀρχίζει ἀμέσως ἡ σπορά στά διάφορα θρεπτικά ὑλικά. Τά ὑλικά πού χρησιμοποιοῦμε εἶναι σοκολατοῦχο ἄγαρ μέ ἀντιβιοτικά, δύο τρυβλία μέ αἱματοῦχο ἄγαρ, ἄγαρ Mac Conkey, ἄγαρ Sabouraud καί ζωμός κρέατος. Πρίν ἀπό τόν ἐμβολιασμό, τά τρυβλία θερμαίνονται στούς 37°C.

Μετά τή σπορά ὅλα τά τρυβλία ἐπωάζονται στούς 37°C. Τό ἕνα αἱματοῦχο καί τό σοκολατοῦχο ἄγαρ ἐπωάζονται κατά προτίμηση σέ ἀτμόσφαιρα CO_2 5-10% καί τό ἄλλο αἱματοῦχο καί ὁ ζωμός σέ δοχεῖο ἀναερόβιας καλλιέργειας. Τήν ἐπομένη ζητᾶμε τίς ἀποικίες σέ κάθε ἕνα ἀπό τά τρυβλία καί γίνεται ἡ ἀξιολόγηση. Ἡ γενική καλλιέργεια πού περιγράψαμε, ἐφόσον ἀποκλεισθεῖ ἡ κολπίτιδα ἀπό τριχομονάδες, μύκητες καί γονόκοκκο, λίγη διαγνωστική βοήθεια μᾶς προσφέρει.

Προκειμένου νά καλλιεργήσομε κολπικό ἔκκριμα γιά γονόκοκκο, χρησιμοποιοῦ-με σοκολατοῦχο ἄγαρ μέ ἀντιμικροβιακές οὐσίες, ὅπως εἶναι τό ὑλικό Thayer - Martin μέ V.C.N., τό ὑλικό Müller-Hinton μέ V.C.N. κλπ. Ἡ ἐπώαση γίνεται στούς 37°C, ἀλλά ἀπαραίτητα παρουσία CO_2 5-10%. Γιά τήν ἀναγνώριση τῶν ἀποικιῶν τοῦ γονόκοκκου, θά γίνει δοκιμή ὀξειδάσης.

Αὐτή γίνεται ἄν στάξομε μιά σταγόνα ἀπό τό ἀντιδραστήριο τῆς ὀξειδάσης πάνω

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

στό τρυβλίο μέ τήν καλλιέργεια, ὁπότε, ἄν ὑπάρχει ἀποικία γονόκοκκου, ἡ ἀποικία θά μαυρίσει. Ἀπό μιά παρόμοια καλλιέργεια ἀνακαλλιεργοῦμε καί τήν ἑπομένη κάνομε τήν τελική ταυτοποίηση.

7.12.9 Καλλιέργεια ἐκκρίματος οὐρήθρας.

Στό ἔκκριμα τῆς οὐρήθρας ἀνευρίσκονται τά μή παθογόνα μικρόβια, (μικρόκοκκοι, σταφυλόκοκκος λευκός, κορυνοβακτηρίδια) καί τά παθογόνα μικρόβια (γονόκοκκος, τριχομονάδα, κάντιντα, σταφυλόκοκκος χρυσίζων, στρεπτόκοκκοι κλπ.). Ἡ λήψη τοῦ ἐξεταστέου δείγματος γίνεται, μετά ἀπό καλή καθαριότητα τῆς περιοχῆς, μέ μάλαξη γιά νά ἀναβλύσει τό ἔκκριμα ἤ μέ εἰσαγωγή στήν οὐρήθρα βαμβακοφόρου στειλεοῦ.

Τό δεῖγμα ἐμβολιάζεται ἀμέσως ἤ τοποθετεῖται ὁ στειλεός σέ ὑλικό συντηρητικό Stuart καί προκειμένου νά καλλιεργήσομε γιά μυκοπλάσματα σέ ὑλικό Hanks. Ὁ ἐμβολιασμός γίνεται σέ 2 τρυβλία μέ αἱματοῦχο ἄγαρ, ἀπό τά ὁποῖα τό ἕνα χρησιμεύει γιά ἀναερόβια καλλιέργεια, σέ Mac Conkey, σέ Sabouraud καί σέ ζωμό μέ κρέας.

Ἡ ἐπώαση γίνεται στούς 37°C. Τό ἕνα αἱματοῦχο ἐπωάζεται κατά προτίμηση σέ ἀτμόσφαιρα CO_2 5-10%. Τό ἄλλο αἱματοῦχο καί ὁ ζωμός σέ δοχεῖο ἀναερόβιας καλλιέργειας. Ἀκολουθεῖ τήν ἑπομένη ἡ ἀνάγνωση, ἡ ἀπομόνωση καί ἡ ταυτοποίηση τῶν μικροβίων.

7.12.10 Καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό δερματική βλάβη.

Τό δέρμα, τά νύχια καί οἱ τρίχες ἐμφανίζουν μικροβιακά καί μυκητιασικά νοσήματα πού ὀφείλονται σέ διάφορα παθογόνα μικρόβια. Τό δέρμα ἐμφανίζει φυσιολογική χλωρίδα μικροβίων ἀπό μικρόκοκκους, κορυνοβακτηρίδια καί λευκό σταφυλόκοκκο. Μικρόβια πού προκαλοῦν ἀσθένειες εἶναι ὁ χρυσίζων σταφυλόκοκκος, ὁ αἱμολυτικός στρεπτόκοκκος, τό κορυνοβακτηρίδιο τῆς ἀκμῆς, τό λεπτότατο τῆς διφθερίτιδας, τό μυκοβακτηρίδιο τῆς φυματιώσεως, τό μυκοβακτηρίδιο τῆς λέπρας, ὁ βάκιλλος τοῦ ἄνθρακα κλπ.

Ἡ λήψη τοῦ δείγματος, ἄν ἡ βλάβη εἶναι ἀνοικτή, θά γίνει μέ βαμβακοφόρο στειλεό ἤ μέ κρίκο ἤ ἀκόμη καί μέ τό ἄκρο μιᾶς βελόνας, ἀπό τά ὅρια ἀνάμεσα στή βλάβη καί στό ὑγιές δέρμα. Ἄν ἡ βλάβη εἶναι κλειστή θά παρακεντηθεῖ μέ λεπτή βελόνα.

Ἡ σπορά γίνεται σέ δύο τρυβλία μέ αἱματοῦχο ἄγαρ, σέ ἄγαρ Chapman καί σέ ἄγαρ Sabouraud.

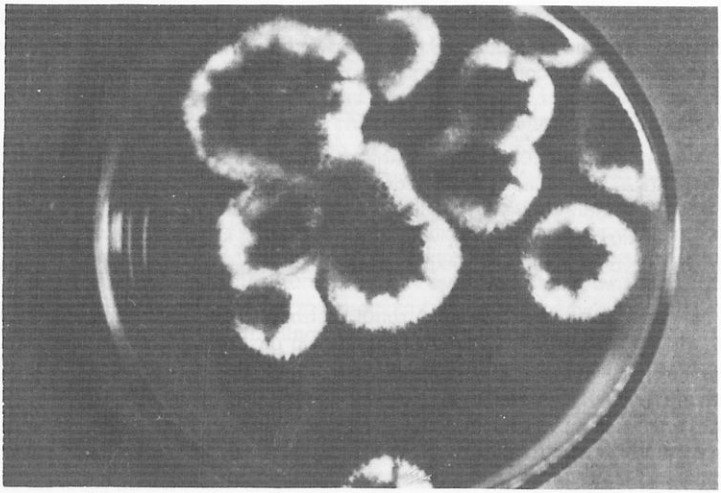
Ἡ ἐπώαση γίνεται στούς 37°C. Τό ἕνα τρυβλίο μέ αἱματοῦχο ἄγαρ ἐπωάζεται σέ φιάλη ἀναερόβιας καλλιέργειας ἤ παρουσία CO_2 10%.

Τήν ἑπομένη ἀναζητοῦνται ὕποπτες ἀποικίες, γίνονται ἀνακαλλιέργειες γιά ἀπομόνωση, δοκιμές ταυτοποιήσεως καί δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά.

Προκειμένου νά καλλιεργήσομε μύκητες τοῦ δέρματος χρησιμοποιοῦμε ὡς θρεπτικό ὑλικό ἐκλογῆς τό ἄγαρ Sabouraud μέ γλυκόζη (σχ. 7.12). Στό ὑλικό προσθέτομε ἀντιβιοτικά γιά νά ἐμποδίσομε τήν ἀνάπτυξη τῶν μικροβίων. Ἡ καλλιέργεια γίνεται σέ σωληνάρια μέ ἐλαστικό πῶμα καί σέ τρυβλία.

Ὁ ἐμβολιασμός τοῦ ὑλικοῦ γίνεται μέ τό νά βυθίσομε μέρος τοῦ δείγματος μέσα στό ὑλικό καί νά πωματίσομε καλά τό σωληνάριο. Τό τρυβλίο μετά τή σπορά τό

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής



Σχ. 7.12.
Καλλιέργεια μυκήτων σέ τρυβλίο Petry (Ἀσπέργιλλος).

κλείνομε καλά μέ ταινία ἀπό λευκοπλάστη. Ἡ ἐπώαση διαρκεῖ 2 τουλάχιστον ἑβδομάδες καί γίνεται σέ θερμοκρασία δωματίου. Τά καλλιεργήματα ἐλέγχονται καθημερινά ὥσπου νά δοῦμε ἀνάπτυξη μύκητα. Ὅταν διαπιστώσομε ἀνάπτυξη μύκητα, κάνομε ἀνακαλλιέργεια καί ἀπό αὐτή προσπαθοῦμε νά ταυτοποιήσομε τό μύκητα.

Μέ εἰδικές ἐξετάσεις ἀνακαλύπτομε μικρόβια πού δέν ἀποκαλύπτονται μέ τή γενική καλλιέργεια.

7.12.11 Καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό μολυσμένα τραύματα.

Ἡ καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό μολυσμένα τραύματα γίνεται ὅπως καί ἡ καλλιέργεια στά ὑγρά παρακεντήσεων καί τοῦ πύου. Ἰδιαίτερη προσοχή θά δοθεῖ στήν ἀπομόνωση ἀναερόβιων μικροβίων καί στό ἀναερόβιο τρυβλίο θά ἀναζητηθοῦν ἀποικίες:

α) κλωστηριδίου,
β) ἀναερόβιων στρεπτοκόκκων καί
γ) Gram ἀρνητικῶν βακτηριοειδῶν.

7.12.12 Καλλιέργεια οὔρων.

Γιά νά ἔχομε ἐπιτυχία στήν καλλιέργεια οὔρων πρέπει νά πάρομε τό κατάλληλο δεῖγμα, δηλαδή οὖρα πού δέν ἔχουν μολυνθεῖ ἀπό ἄλλα μικρόβια. Ἡ λήψη τοῦ δείγματος μπορεῖ νά γίνει μέ τρεῖς τρόπους:

α) λήψη οὔρων κατά τήν οὔρηση καί μάλιστα ἀφοῦ ἀφήσομε τά πρῶτα οὖρα νά τρέξουν.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

β) λήψη οὔρων μέ καθετηριασμό τῆς κύστης καί

γ) λήψη οὔρων μέ παρακέντηση τῆς κύστης.

Ὁ καλύτερος τρόπος εἶναι ὁ τρίτος, ἀλλά δέν ἐφαρμόζεται. Ὁ δεύτερος τρόπος ἐφαρμόζεται σέ ἀρρώστους κλινήρεις, ἀνάπηρους κλπ., ἐνῶ ὁ πρῶτος τρόπος ἀποτελεῖ τή μέθοδο ἐκλογῆς.

Κατά τή λήψη οὔρων μέσου ρεύματος ὁ ἄρρωστος πλένεται μέ ζεστό νερό καί σαπουνάδα σέ ὅλη τήν περιγεννητική περιοχή καί ξεπλένεται μέ ἀποστειρωμένο νερό. Ἀρχίζει νά οὐρεῖ καί καθώς οὐρεῖ ἀνοίγομε τό πῶμα τοῦ ἀποστειρωμένου σωληναρίου, τό πλησιάζομε στό ρεῦμα τῶν οὔρων καί ἀφήνομε νά μποῦν μέσα σ' αὐτό λίγα οὖρα. Κλείνομε τό σωληνάριο μέ τό πῶμα καί τό δεῖγμα τοποθετεῖται στό ψυγεῖο ὥσπου νά ἐξετασθεῖ.

Στίς οὐροκαλλιέργειες ἀναζητοῦμε τά ἐξῆς μικρόβια: κλεμπσιέλλα, πρωτεῖς, σταφυλόκοκκο, κολοβακτηρίδιο, ψευδομονάδα, κορυνοβακτηρίδια, ἐντερόκοκκο, στρεπτόκοκκο κλπ.

Ἡ σπορά γίνεται σέ ἄγαρ Mac Conkey πού ἐπιτρέπει τήν ἀνάπτυξη τοῦ ἐντερόκοκκου, σέ ἄγαρ θρεπτικό κοινό καί σέ αἱματοῦχο ἄγαρ. Τά ὑλικά εἶναι τοποθετημένα σέ τρυβλία καί πρίν ἀπό τήν ἐξέταση στεγνώνομε τήν ἐπιφάνεια τοῦ ὑλικοῦ στόν κλίβανο μέ 37°C. Σέ κάθε τρυβλίο μποροῦμε νά καλλιεργήσομε δύο δείγματα ἄν ἀφαιρέσομε ἀπό τό μέσο τοῦ τρυβλίου μιά λωρίδα θρεπτικοῦ ὑλικοῦ.

Πρίν ἀπό τή σπορά κάνομε τήν ἀραίωση τῶν οὔρων. Σέ ἕνα ἀποστειρωμένο δοκιμαστικό σωληνάριο βάζομε 4 ml ἀποστειρωμένο φυσιολογικό ὀρό καί μέ μιά πιπέττα τοῦ 1 ml προσθέτομε 1 ml ἀπό τά οὖρα πού πήραμε, ἀφοῦ προηγουμένως τά ἀνακατέψομε καλά. Μέ τόν τρόπο αὐτό ἔχομε κάνει μιά ἀραίωση τῶν οὔρων 1 : 5. Μέ μιά πιπέττα τῶν 0,1 ml μεταφέρομε στήν ἐπιφάνεια κάθε τρυβλίου 0,01 ml ἀραιωμένα οὖρα μέ ὅση ἀκρίβεια εἶναι δυνατή. Στή συνέχεια μέ ἕνα γυάλινο ραβδάκι, πού εἶναι ἀποστειρωμένο, στρώνομε τά οὖρα πού ἐμβολιάσαμε, σέ ὅλη τήν ἐπιφάνεια τοῦ τρυβλίου.

Σκεπάζομε τά τρυβλία καί τά ἐπωάζομε στούς 37°C ὡς τήν ἄλλη μέρα. Τήν ἑπομένη γίνεται ἡ ἀνάγνωση καί ἡ μέτρηση τῶν ἀποικιῶν.

Ἄν δέν ὑπάρχουν ἀποικίες δίνεται τό ἀποτέλεσμα, οὐροκαλλιέργεια ***στείρα.*** Ἄν ὑπάρχουν ἀποικίες, τίς μετροῦμε καί ὑπολογίζομε τά μικρόβια κατά ml οὔρων, μέ πολλαπλασιασμό τοῦ ἀριθμοῦ τῶν ἀποικιῶν ἐπί 500.

Παράδειγμα.

Ἔστω ὅτι μετρήθηκαν 100 ἀποικίες, ὁπότε θά ἔχομε:

100 × 500 = 50.000 μικρόβια σέ 1 ml οὔρων.

Στήν περίπτωση πού ἀναπτύχθηκε ἕνα μικρόβιο, ἡ οὐροκαλλιέργεια θά χαρακτηρισθεῖ θετική ὅταν ὁ ἀριθμός τῶν μικροβίων εἶναι πάνω ἀπό 100.000 καί ἀρνητική ἄν εἶναι κάτω ἀπό 100.000.

Ἡ οὐροκαλλιέργεια ὁλοκληρώνεται μέ τήν ταυτοποίηση τῶν μικροβίων πού γίνεται μέ μορφολογικά καί βιοχημικά κριτήρια.

7.13 Ἀναζήτηση μικροβίων σέ πειραματόζωα.

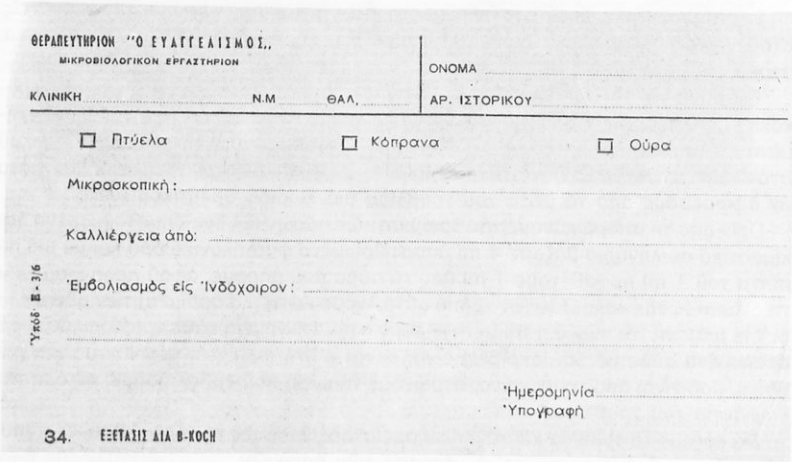
Σήμερα γιά διαγνωστικούς σκοπούς χρησιμοποιοῦνται συνήθως τά ἰνδικά χοιρίδια καί ὁ λευκός ποντικός.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Τά ἰνδικά χοιρίδια χρησιμοποιοῦνται γιά τή διάγνωση τῆς φυματιώσεως καί τῆς βρουκελώσεως (μελιταῖος πυρετός), ἐνῶ ὁ λευκός ποντικός γιά τήν ἀπομόνωση τοῦ πνευμονιόκοκκου ἀπό τά πτύελα.

Ἡ διαγνωστική μέθοδος εἶναι ἁπλή.

Ἐμβολιάζομε τά πειραματόζωα μέ πύον, οὖρα, πτύελα εἴτε ὑποδορίως εἴτε ἐνδοπεριτοναϊκῶς εἴτε ἐνδοφλεβίως. Τά ζῶα μετά τόν ἐμβολιασμό τά τοποθετοῦμε σέ κατάλληλα κλουβιά μέ τίς καλύτερες συνθῆκες διαβιώσεως καί καλῆς τροφῆς. Σέ πινακίδα πού τοποθετεῖται στό κλουβί σημειώνομε τήν ἡμερομηνία ἐμβολιασμοῦ τοῦ ζώου. Μετά τό θάνατο τῶν πειραματόζωων, γίνεται νεκροψία καί ἀναζητοῦνται οἱ ἀλλοιώσεις καί τά μικρόβια πού τίς προκάλεσαν (σχ. 7.13).


ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΟΝΟΜΑ .....

ΚΛΙΝΙΚΗ ..... Ν.Μ ..... ΘΑΛ. .....

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

☐ Πτύελα ☐ Κόπρανα ☐ Οὖρα

Μικροσκοπική: .....

Καλλιέργεια ἀπό: .....

Ἐμβολιασμός εἰς Ἰνδόχοιρον: .....

Ἡμερομηνία .....

Ὑπογραφή

Ὑπόδ. Ε - 3/6

34. ΕΞΕΤΑΣΙΣ ΔΙΑ Β-ΚΟΣΗ

Σχ. 7.13.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως μικροβιολογικῆς ἐξετάσεως, καλλιέργειας καί ἐμβολιασμοῦ σέ ἰνδόχοιρο, πτυέλων, κοπράνων, οὔρων.

Ἐρωτήσεις.

1. Τί εἶναι ἀπομόνωση μικροβίου καί πῶς γίνεται;
2. Τί ὀνομάζομε καθαρή καλλιέργεια;
3. Τί ὀνομάζομε ταυτοποίηση μικροβίων καί πῶς γίνεται;
4. Πῶς γίνεται ἡ δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά μέ τή μέθοδο τῶν δισκίων;
5. Ποιές μεθόδους γνωρίζετε γιά τή δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά;
6. Πῶς γίνεται ἡ αἱμοκαλλιέργεια;
7. Πῶς γίνεται ἡ καλλιέργεια πύου;
8. Πῶς γίνεται ἡ καλλιέργεια ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
9. Νά ἀναφέρετε τήν καλλιέργεια φαρυγγικοῦ ἐπιχρίσματος.
10. Νά ἀναφέρετε τήν καλλιέργεια πτυέλων.
11. Πῶς γίνεται ἡ καλλιέργεια κοπράνων;
12. Πῶς γίνεται ἡ καλλιέργεια κολπικοῦ ἐκκρίματος;
13. Πῶς γίνεται ἡ καλλιέργεια οὔρων;
14. Νά ἀναφέρετε τήν καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό δερματική βλάβη.
15. Πῶς γίνεται ἡ καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό μολυσμένα τραύματα;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

ΕΙΔΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

8.1 Ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό.

Τό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό γεμίζει τόν ὑπαραχνοειδή χῶρο, τίς κοιλίες τοῦ ἐγκεφάλου καί τόν κεντρικό σωλήνα τοῦ νωτιαίου μυελοῦ. Προέρχεται ἀπό τό πλάσμα τοῦ αἵματος καί ἐκκρίνεται ἀπό τά χοριοειδή πλέγματα τῶν κοιλιῶν καί τῶν ἀγγείων τῆς χοριοειδοῦς μήνιγγας. Ἡ λήψη γίνεται μέ ὀσφυονωτιαία παρακέντηση.

Φυσιολογικά τό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό πού ἐξέρχεται ἀπό τόν αὐλό τῆς βελόνας κατά τήν ὀσφυονωτιαία παρακέντηση ρέει μέ τή μορφή σταγόνων, εἶναι ἄχρωμο, διαυγές καί περιέχει ὡς 5 λεμφοκύτταρα ἀνά mm^3 (πίνακας 8.1.1). Κατά τή χημική ἐξέτασή του τό ποσό τοῦ λευκώματος κυμαίνεται μεταξύ 15-40 mg%, τό σάκχαρο μεταξύ 50-80 mg% καί τά χλωριοῦχα μεταξύ 720-750 mg%. Περιέχει ἐπίσης καί διάφορα συστατικά τοῦ πλάσματος, ὅπως χοληστερίνη, οὐρία, οὐρικό ὀξύ, ἀσβέστιο, φωσφόρο, κάλιο, νάτριο κλπ. Τά συστατικά αὐτά δέν ἔχουν καμία διαγνωστική ἤ προγνωστική ἀξία.

8.1.1 Φυσικοί χαρακτῆρες τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ.

α) Ὁλικό ποσό. Αὐτό ἀνέρχεται σέ 2,2 cm^3 κατά kg βάρους, δηλαδή σέ 100-150 cm^3.

β) Πίεση. Ἡ πίεση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ ὅταν ὁ ἀσθενής βρίσκεται σέ ὕπτια θέση κυμαίνεται μεταξύ 10-20 cm στήλης ὕδατος καί ὅταν ὁ ἀσθενής εἶναι καθιστός σχεδόν στό διπλάσιο. Σέ παθολογικές καταστάσεις ἡ πίεση αὐξάνει ἤ ἐλαττώνεται.

γ) Χροιά. Φυσιολογικά εἶναι ἄχρωμο καί στίς περισσότερες παθήσεις παραμένει ἄχρωμο. Μπορεῖ ὅμως νά ἐμφανισθεῖ κόκκινο, ξανθοχρωματικό καί κιτρινοπράσινο σέ διάφορες παθήσεις.

δ) Ὄψη. Τό φυσιολογικό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό εἶναι διαυγές σάν τό νερό. Ἐμφανίζεται θολερό σέ διάφορες μηνιγγίτιδες.

ε) Ἴζημα - Εἰδικό βάρος. Φυσιολογικά δέν ἐμφανίζει ἴζημα, ἐνῶ τό εἰδικό βάρος του κυμαίνεται μεταξύ 1003-1008.

στ) Ἀντίδραση. Ἡ ἀντίδραση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου εἶναι ἀσθενῶς ἀλκαλική μέ pH πού κυμαίνεται ἀπό 7,35-7,60.

8.1.2 Κυτταρολογική ἐξέταση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ.

Τό φυσιολογικό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό περιέχει 0-5 λεμφοκύτταρα πού στά

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

παιδιά μπορεῖ νά φθάσουν ὥς 25 κύτταρα. Αὔξηση τοῦ ἀριθμοῦ αὐτοῦ εἶναι παθολογική. Ἡ μέτρηση τῶν κυττάρων πρέπει νά γίνεται ἀμέσως, μέσα σέ μιά ὥρα ἀπό τήν παρακέντηση, γιατί καταστρέφονται γρήγορα. Ἡ κυτταρολογική ἐξέταση περιλαμβάνει τή μέτρηση τοῦ ἀριθμοῦ τῶν κυττάρων καί τόν προσδιορισμό τοῦ τύπου τῶν κυττάρων αὐτῶν.

α) Μέτρηση κυττάρων. Χρησιμοποιοῦμε ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό, χωρίς πῆγμα, χωρίς νά ἔχομε κάνει φυγοκέντρηση καί χωρίς καμιά ἀραίωση. Ἡ μέτρηση γίνεται σέ καταμετρητική πλάκα αἱμοκυττάρων, ὅπως εἶναι ἡ Neubauer. Ἄν ὑπάρχουν πολλά ἐρυθρά τότε μπορεῖ νά προστεθεῖ μιά σταγόνα ὀξικοῦ ὀξέος 33% σέ 10 σταγόνες ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ. Στήν περίπτωση αὐτή, κατά τόν ὑπολογισμό τοῦ ἀριθμοῦ τῶν κυττάρων κατά mm^3, θά πολλαπλασιασθεῖ ὁ τελικός ἀριθμός μέ 1,1. Ἡ εἰδική πλάκα καλεῖται Nageotte καί ἡ ἐπιφάνειά της διαιρεῖται σέ 40 ὀρθογώνια. Γεμίζομε τήν πλάκα μέ ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό καί τοποθετοῦμε καλυπτρίδα. Μετροῦμε μέ ξηρό φακό 18 ὀρθογώνια καί τά κύτταρα πού βρίσκομε τά διαιροῦμε μέ τόν ἀριθμό 45 καί ἔχομε ἔτσι τά κύτταρα κατά mm^3.

β) Τύπος κυττάρων. Ἀπό τό ἴζημα τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ ἤ ἀπό τό ἴδιο τό ὑγρό ἄν εἶναι θολερό, ἑτοιμάζομε παρασκεύασμα καί τό χρωματίζομε μέ χρώση Giemsa. Ἀπό τό παρασκεύασμα αὐτό στή μικροσκόπηση γίνεται ὁ προσδιορισμός τοῦ τύπου τῶν κυττάρων, πού εἶναι πολυμορφοπύρηνα καί λεμφοκύτταρα. Πολυμορφοπύρηνα εἶναι τά κύτταρα σέ ὅλες τίς μηνιγγίτιδες, ἐκτός ἀπό τή φυματιώδη πού εἶναι λεμφοκύτταρα. Ὁ χαρακτηρισμός τῶν κυττάρων εἶναι δύσκολος γιατί συχνά αὐτά εἶναι κατεστραμμένα.

8.1.3 Χημική ἐξέταση.

Ἡ χημική ἐξέταση περιλαμβάνει τόν προσδιορισμό τοῦ ποσοῦ τοῦ λευκώματος καί τοῦ σακχάρου καί σπανίως ἄλλων στοιχείων, ὅπως τά χλωριοῦχα.

α) Προσδιορισμός ποσοῦ λευκώματος. Ἡ καλύτερη μέθοδος εἶναι ἡ θολομετρική. Σ' αὐτή γίνεται σύγκριση τῆς θολερότητας πού παίρνει τό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό, ὅταν προστεθεῖ σουλφοσαλικυλικό ὀξύ, μέ τή θολερότητα μιᾶς σταθερῆς θολομετρικῆς κλίμακας ἤ καμπύλης. Ἡ σύγκριση γίνεται μέ τή βοήθεια ἠλεκτροφωτόμετρου. Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι 15 ὥς 45 mg %.

β) Προσδιορισμός σακχάρου. Ἡ καλύτερη μέθοδος εἶναι αὐτή πού χρησιμοποιεῖται γιά τόν προσδιορισμό σακχάρου στό αἷμα. Ἀλλά ἐπειδή φυσιολογικά τό ποσό τοῦ σακχάρου στό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό, εἶναι περίπου τό μισό ἀπό ὅ,τι εἶναι στό αἷμα, θά χρησιμοποιηθεῖ διπλάσια ποσότητα ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ. Οἱ φυσιολογικές τιμές εἶναι 50-80 mg%.

γ) Ποιοτικές δοκιμασίες πρωτεϊνῶν.

Οἱ δοκιμασίες αὐτές στηρίζονται στήν καθίζηση τῶν αὐξημένων σφαιρινῶν μέ διάφορα ἀντιδραστήρια.

1) Ἀντίδραση Nonne-Apelt.

Χρησιμοποιοῦμε κεκορεσμένο διάλυμα θειϊκοῦ ἀμμωνίου (85 g θειϊκοῦ ἀμμωνίου μέσα σέ 100 ml θερμοῦ ἀποσταγμένου νεροῦ). Μέσα σέ σωληνάριο αἱμολύσεως βάζομε 1 ml ἀντιδραστήριο Nonne-Apelt. Προσθέτομε 0,5 ml ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό. Ἄν ἡ ἀντίδραση εἶναι θετική ἐμφανίζεται μετά τρία λεπτά λευκός δακτύλιος στό σημεῖο τῆς ἐπαφῆς τῶν δύο ὑγρῶν.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

2) Ἀντίδραση Pandy.

Χρησιμοποιοῦμε ὡς ἀντιδραστήριο διάλυμα διαυγές καί ἄχρωμο ἀπό 10 g φαινόλης μέσα σέ 150 ml ἀποσταγμένο νερό. Σέ ἕνα σωληνάριο βάζομε 2 ml ἀντιδραστήριο Pandy. Προσθέτομε 2 σταγόνες ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό. Φυσιολογικά δέν παρατηρεῖται θόλωμα, ἐνῶ σέ θετική ἀντίδραση σχηματίζεται ἀμέσως λευκός δακτύλιος. Ἡ ἀντίδραση αὐτή εἶναι πιό εὐαίσθητη ἀπό τήν προηγούμενη.

3) Ἀντίδραση Wassermann.

Τό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό μπορεῖ νά δώσει θετική τήν ἀντίδραση Wassermann καί ἐπί συγγενοῦς καί ἐπί ἐπίκτητης σύφιλης καί ὅταν ἀκόμη ἡ ταυτόχρονη ἀντίδραση Wassermann τοῦ αἵματος εἶναι ἀρνητική.

Ἡ τεχνική τῆς ἀντιδράσεως εἶναι ἡ ἴδια, ὅπως καί γιά τό αἷμα, μέ τίς ἐξῆς διαφορές. Δέν χρειάζεται ἀδρανοποίηση, ἐκτός ἄν τό ὑγρό ἔχει παραμείνει πολλές ἡμέρες. Ἐπειδή συχνά παρατηρεῖται ***φαινόμενο ζώνης,*** δηλαδή ἀναστολή τῆς ἀντιδράσεως στά πρῶτα σωληνάρια, εἶναι καλύτερα νά γίνεται αὐτή ἀπό τήν ἀρχή ὡς ποσοτική. Ἐπειδή ὁ τίτλος ἀντισωμάτων εἶναι μικρότερος ἀπό ὅ,τι εἶναι στό αἷμα, δέν γίνεται ἀραίωση τοῦ ὑγροῦ, ἀλλά χρησιμοποιεῖται ὅπως ἔχει.

Ἔτσι ἡ δοκιμή γίνεται σέ μιά σειρά 5 σωληναρίων καί ἑνός μάρτυρα. Σέ ὅλα τά σωληνάρια, ἐκτός ἀπό τό πρῶτο καί τό ἕκτο, τοποθετοῦνται ἀπό 0,2 ml ρυθμιστικό διάλυμα.

Στό πρῶτο, τό δεύτερο καί τό ἕκτο σωληνάριο τοποθετοῦνται 0,2 ml ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό. Ἀπό τό δεύτερο μεταφέρεται 0,2 ml στό τρίτο σωληνάριο, ἀπό αὐτό 0,2 ml στό τέταρτο καί ἀπό αὐτό 0,2 ml στό πέμπτο σωληνάριο. Ἀπό τό πέμπτο σωληνάριο πετᾶμε ποσότητα 0,2 ml. Στά σωληνάρια τῆς δοκιμῆς προσθέτομε 0,2 ml ἀντιγόνο καί στό ἕκτο σωληνάριο 0,2 ml ρυθμιστικό διάλυμα. Στή συνέχεια ἡ δοκιμή καί ἡ ἀνάγνωση γίνεται ὅπως καί στή Wassermann τοῦ ὁροῦ αἵματος. Εἶναι καλύτερα νά χρησιμοποιήσομε θετικό καί ἀρνητικό μάρτυρα.

Στό ἀποτέλεσμα ἀναγράφεται ἡ ἀραίωση, πού ἔδειξε πλήρη ἀναστολή τῆς αἱμολύσεως.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.1.1
Φυσιολογικές τιμές ἐξετάσεων ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ (Ε.Ν.Υ.)

ΕΞΕΤΑΣΗ	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΤΙΜΗ
1. Τάση	10 - 20 cm στήλης ὕδατος
2. Κύτταρα	0 - 5 λεμφοκύτταρα κατά mm^3
3. Λεύκωμα	15 - 40 mg%
4. Σάκχαρο	50 - 70 mg%
5. Χλωριοῦχα	720 - 750 mg% ἤ 110 - 130 mEq/*l*
6. Οὐρία	10 - 30 mg%
7. Ἀντίδραση Pandy	Ἀρνητική (—)
8. Ἀντίδραση Nonne-Apelt	Ἀρνητική (—)
9. Ἀντίδραση κολλοειδοῦς χρυσοῦ	«0000000000», δηλαδή κόκκινο χρῶμα σέ ὅλα τά σωληνάρια.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἐρωτήσεις.

1. Ποιοί εἶναι οἱ φυσικοί χαρακτῆρες τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
2. Πῶς γίνεται ἡ μέτρηση τῶν κυττάρων τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
3. Τί περιλαμβάνει ἡ χημική ἐξέταση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
4. Νά περιγράψετε τίς ἀντιδράσεις Nonne-Apelt καί Pandy.

8.2 Κόπρανα.

Στήν καθημερινή πρακτική ἡ ἐξέταση τῶν κοπράνων περιορίζεται συνήθως στήν ἀναζήτηση τῆς ***αἱμοσφαιρίνης*** καί τῶν ***ἐντερικῶν παρασίτων.***

Πολλά ὅμως μπορεῖ νά προσφέρει στή διάγνωση ἡ ***μακροσκοπική*** ἐξέταση τῶν κοπράνων, μέ τήν ὁποία διαπιστώνεται μεταβολή τοῦ ὄγκου, τοῦ σχήματος, τῆς συστάσεως, τῆς ὀσμῆς, τοῦ χρώματος τῶν κοπράνων καθώς καί ἡ παρουσία αἵματος καί ὁρατῶν παρασίτων.

Ἡ καλούμενη κακῶς «γενική ἐξέταση κοπράνων» περιλαμβάνει τή ***μικροσκοπική ἐξέταση,*** γιά τήν ἀναζήτηση ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων καί πυοσφαιρίων, τή ***χημική,*** γιά τήν παρουσία λίπους καί αἱμοσφαιρίνης, τήν ***παρασιτολογική,*** γιά τήν ἀναζήτηση παρασίτων καί τέλος τήν ἀναζήτηση ὑπολειμμάτων ἄπεπτων τροφῶν (σχ. 8.2).

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ"
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ..... Ν.Μ. ..... ΘΑΛ. .....

ΟΝΟΜΑ .....

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ .....

1) Παρασιτολογική ἐξέτασις
α) Ἄμεσος μικροσκοπική
β) Ἐμπλουτισμός κατά Ritchie

2) Χημική ἐξέτασις
Αἱμοσφαιρίνη
Κοπροχολίνη
Κοπροχολινογόνον

3) Λειτουργική ἐξέτασις
Μ. Ἴνες
Ἄμυλον
Λιπαρά ὀξέα
Λιποσφαίρια
Σάπωνες
Φυτικά κύτταρα

4) Καλλιέργεια

Ὑπόδ. 1 - 3/5

33. ΚΟΠΡΑΝΑ

Ἡμερομηνία .....
Ὑπογραφή

Σχ. 8.2.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως παρασιτολογικῆς, χημικῆς, μικροσκοπικῆς ἐξετάσεως καί καλλιέργειας κοπράνων.

8.2.1 Γενικοί χαρακτῆρες κοπράνων.

α) Ποσό. Τό ποσό τῶν κοπράνων σέ μικτή δίαιτα κυμαίνεται ἀπό 80-200 g τό

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

24ωρο, ἐνῶ σέ φυτική 250 g τό 24ωρο. Σέ παθολογικές καταστάσεις τό ποσό τῶν κοπράνων αὐξάνεται ἤ ἐλαττώνεται.

β) Ὑφή. Φυσιολογικά τά κόπρανα εἶναι στερεά καί σχηματισμένα. Παθολογικά μπορεῖ νά εἶναι ξηρά καί μάλιστα μέ μορφή σκυβάλων, πολτώδη, ὑδαρή, ταινιοειδή καί σκωληκοειδή ὅταν ὑπάρχει στένωση τοῦ ἀπευθυσμένου, ὀρυζοειδή στή χολέρα κλπ.

γ) Ὀσμή. Ἡ ὀσμή τῶν κοπράνων ὀφείλεται στήν παρουσία κυρίως τῆς ἰνδόλης καί τῆς σκατόλης. Ἡ ἔνταση τῆς ὀσμῆς μπορεῖ νά φθάσει ὥς τήν ἔντονη κακοσμία, ἡ ὁποία διακρίνεται σέ κοπρανώδη ἤ γαγγραινώδη.

δ) Χροιά. Τά κόπρανα φυσιολογικά εἶναι καστανόχρωμα. Ἡ φυσιολογική χροιά τῶν κοπράνων ὀφείλεται στήν παρουσία τῆς κοπροχολίνης. Ἡ χροιά ἐπηρεάζεται ἀπό τό εἶδος τῆς τροφῆς. Ἔτσι τά κόπρανα φυτοφάγων εἶναι πρασινωπά, τῶν κρεατοφάγων βαθιά καστανόχρωμα καί σέ ἀμυλώδη δίαιτα ἡ χροιά γίνεται κίτρινη. Ἐπίσης τά διάφορα φάρμακα ἐπηρεάζουν τή χροιά τῶν κοπράνων. Σέ παθολογικές καταστάσεις ἡ χροιά μπορεῖ νά εἶναι πράσινη, μέλαινα (μαύρη), κόκκινη, στοκώδης (ἀποχρωματισμένα κόπρανα).

ε) Ἀντίδραση. Φυσιολογικά ἡ ἀντίδραση τῶν κοπράνων εἶναι οὐδέτερη ἤ ἀσθενῶς ἀλκαλική μέ pH πού κυμαίνεται ἀπό 7,0-7,5.

8.2.2 Μακροσκοπική ἐξέταση.

Κατά τή μακροσκοπική ἐξέταση τῶν κοπράνων μποροῦμε νά διαπιστώσομε τά ἑξῆς:

α) Ὑπολείμματα τροφῆς. Μποροῦμε νά διαπιστώσομε μακροσκοπικῶς τήν παρουσία ὑπολειμμάτων τροφῆς, ὅπως κρέατος, λίπους, ἀμύλου κλπ. Ἡ παρουσία τους σημαίνει παθολογική κατάσταση.

β) Βλέννα. Φυσιολογικά δέν ἐμφανίζεται στά κόπρανα. Παθολογικά μπορεῖ νά σχηματίσει μερικές φορές καί μεγάλες μάζες μήκους μέχρι 40 cm.

γ) Ὑπολείμματα ἱστῶν.

δ) Λίθοι. Αὐτοί μπορεῖ νά εἶναι χολόλιθοι, παγκρεατικοί λίθοι καί ἐντερικοί λίθοι.

ε) Πύον. Ἡ παρουσία του στά κόπρανα ὀφείλεται σέ παθολογικές καταστάσεις καί προκαλεῖ μεγάλη κακοσμία.

στ) Παράσιτα. Μερικές φορές ἐμφανίζονται στά κόπρανα ὀξύουροι, ἀσκαρίδες, προγλωττίδες ταινιῶν κλπ.

8.2.3 Μικροσκοπική ἐξέταση.

Κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση τῆς φυσιολογικῆς κενώσεως ἤ αὐτῆς πού παίρνομε μετά τή λήψη καθαρτικοῦ παρατηροῦνται μέσα στά κόπρανα σπάνια πυοσφαίρια. Ἐρυθρά αἱμοσφαίρια δέν παρατηροῦνται. Σέ παθολογικές καταστάσεις ὁ ἀριθμός τῶν πυοσφαιρίων αὐξάνει, ἐνῶ παρατηροῦνται καί ἄφθονα ἐρυθρά. Τά ἐρυθρά πού ἀνευρίσκονται μπορεῖ νά εἶναι ἀναλλοίωτα ἤ νά εἶναι καταστραμμένα, ὁπότε ἡ διαπίστωση τῆς αἱμορραγίας θά γίνει μέ τή χημική ἐξέταση γιά τήν ἀναζήτηση τῆς αἱμοσφαιρίνης στά κόπρανα. Μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση ἀνευρίσκονται πλακώδη ἐπιθηλιακά κύτταρα, ἐπιθηλιακά κυλινδρικά κύτταρα, κρύσταλλοι, παράσιτα καί ὑπολείμματα τροφῆς.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ἀναζήτηση παρασίτων.

Τά κυριότερα παράσιτα πού ἐμφανίζονται στά κόπρανα εἶναι:

1. Ἀμοιβάδες (ἱστολυτικές, νανώδεις, coli, minuta κλπ.).
2. Λάμβλιες.
3. Τριχομονάδες.
4. Ὀξύουροι.
5. Ἀσκαρίδες καί αὐγά τους.
6. Προγλωττίδες καί αὐγά ταινιῶν.
7. Ἐχινόκοκκοι καί αὐγά τους.
8. Διάφορα ἄλλα παράσιτα μικρότερης σημασίας.

Γιά νά ἔχομε ἐπιτυχία στήν παρασιτολογική ἐξέταση πρέπει νά ὑπάρχουν οἱ ἑξῆς προϋποθέσεις:

α) Μέσα στό ἐξεταζόμενο δεῖγμα νά ὑπάρχουν ἀρκετά ἀπό τά παράσιτα πού ἀναζητοῦμε.

β) Τά παράσιτα νά εἶναι ζωντανά, γιά νά μή μεταβληθοῦν ὁρισμένοι μορφολογικοί καί βιολογικοί χαρακτῆρες, πού εἶναι ἀπαραίτητοι γιά τήν ἀναγνώρισή τους.

γ) Ἄν ὁ ἀσθενής ἔχει διαρροϊκές κενώσεις, ὡς ἐξεταστέο δεῖγμα παίρνομε ποσότητα κοπράνων ἀπό μιά πρόσφατη κένωση.

δ) Ἄν ὁ ἀσθενής δέν ἔχει διαρροϊκές κενώσεις παίρνει ἀλατοῦχο καθαρτικό καί ἐξετάζομε τίς πολτώδεις καί διαρροϊκές κενώσεις του.

ε) Ἄν ἀναζητοῦμε ὠάρια ἑλμίνθων δέν χρειάζεται καθαρτικό.

Στό δεῖγμα τῶν κοπράνων γίνονται οἱ ἑξῆς ἐξετάσεις:

1. Μικροσκοπική ἐξέταση νωπῶν παρασκευασμάτων.

Σέ ἀντικειμενοφόρο πλάκα βάζομε μία σταγόνα φυσιολογικοῦ ὀροῦ καί μέ κρίκο μεταφέρομε ποσότητα κοπράνων, ἀπό βλεννώδη περιοχή τους. Ἀναμιγνύομε, καλύπτομε μέ καλυπτρίδα καί μικροσκοποῦμε. Τό διάλυμα τοῦ φυσιολογικοῦ ὀροῦ μπορεῖ νά χρωματισθεῖ μέ λίγες σταγόνες διαλύματος ἠωσίνης ὥστε κατά τή μικροσκόπηση νά γίνουν πιό ἐμφανεῖς οἱ ἀμοιβάδες καί τά ἄλλα παράσιτα, πού δέ θά χρωματισθοῦν. Προκειμένου νά ἀναζητήσομε ἀμοιβάδες, τό ὑγρό καί ἡ πλάκα προθερμαίνονται ἐλαφρά γιά νά μήν ἀκινητοποιηθοῦν αὐτές ἀπό τό ψύχος. Σέ ἄλλη ἀντικειμενοφόρο πλάκα ἑτοιμάζομε παρασκεύασμα χρησιμοποιώντας ἀντί φυσιολογικοῦ ὀροῦ ἰωδιοῦχο διάλυμα Lugol.

2. Μικροσκοπική ἐξέταση χρωματισμένων παρασκευασμάτων.

3. Ἐμπλουτισμός κοπράνων μέ ἐπίπλευση ἤ μέθοδος τοῦ Faust.

4. Μέθοδος ἐμπλουτισμοῦ μέ καθίζηση.

5. Καλλιέργεια κοπράνων.

6. Ἀναζήτηση ἄπεπτων τροφῶν.

Πολλά καί χρήσιμα συμπεράσματα μποροῦν νά βγοῦν γιά τήν πέψη τῶν λευκωμάτων, λιπῶν καί ὑδατανθράκων στόν ἐντερικό σωλήνα μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση.

Γιά νά ἀξιολογήσομε τό ἀποτέλεσμα, πρέπει ὁ ἀσθενής νά ὑποβληθεῖ ἐπί διήμερο σέ εἰδική δίαιτα, πού εἶναι διεθνῶς γνωστή ὡς ***δίαιτα Schmidt.***

Πρίν ἀρχίσει ἡ δίαιτα δίνομε στόν ἀσθενή κάποια χρωστική ἀπό τό στόμα, γιά νά εἶναι εὔκολη ἡ διάκριση τῶν κοπράνων πού ἀναλογοῦν στή δίαιτα. Ἄν τηρηθοῦν τά παραπάνω καί βρεθοῦν κατά τή μικροσκοπική ἐξέταση ὑπολείμματα τρο-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

φῆς σημαίνει διαταραχή τῆς πεπτικῆς ἱκανότητας καί ἀνεπάρκεια ἐκκρίσεως πεπτικῶν ὑγρῶν.

Ἔτσι, ἡ ἀνεύρεση ἄφθονων κοκκίων ἀμύλου χαρακτηρίζει τήν ἐλλιπή πέψη τῶν ὑδατανθράκων. Ἡ πέψη τῶν λευκωμάτων ἐλέγχεται μέ τήν παρουσία μυϊκῶν ἰνῶν στά κόπρανα. Ἡ ἀνεύρεση ἰνῶν πού φέρουν ὁρατές μικροσκοπικῶς ἐγκάρσιες γραμμώσεις σημαίνει ἐλλιπή πέψη τῶν πρωτεϊνῶν. Ἡ παρουσία ἀναλλοίωτων πυρήνων μέσα στά κύτταρα τῶν μυϊκῶν ἰνῶν σημαίνει πλήρη ἀναστολή τῆς παγκρεατικῆς λειτουργίας. Ἡ ἀνεύρεση ἰνῶν συνδετικοῦ ἱστοῦ στά κόπρανα, σημαίνει πλημμελή πέψη στό στομάχι, γιατί ἡ πέψη τοῦ συνδετικοῦ ἱστοῦ γίνεται μόνο στό ὄξινο περιβάλλον τοῦ γαστρικοῦ ὑγροῦ. Αὔξηση τοῦ ποσοῦ τῶν οὐδέτερων λιπῶν σημαίνει παγκρεατική ἀνεπάρκεια, ἐνῶ αὔξηση τοῦ ποσοῦ τῶν λιπαρῶν ὀξέων σημαίνει ἔλλειψη χολῆς.

8.2.4 Χημική ἐξέταση.

α) Ἀναζήτηση αἱμοσφαιρίνης.

Ἡ ἀντίδραση τῆς αἱμοσφαιρίνης γίνεται θετική ὅταν ὑπάρχει αἱμορραγία σέ ὁποιοδήποτε σημεῖο τοῦ γαστρικοῦ σωλήνα. Γιά νά μποροῦμε νά ἀξιολογήσομε τή θετικότητα τῆς ἀντιδράσεως πρέπει ὁ ἀσθενής νά ἔχει τρεῖς τουλάχιστον ἡμέρες νά φάει κρέας.

Ἡ ἀναζήτηση τῆς αἱμοσφαιρίνης γίνεται μέ τίς ἑξῆς δοκιμασίες:

Δοκιμασία ὀρθοτολουϊδίνης.

Παρασκευάζομε λεπτόρευστο γαλάκτωμα κοπράνων, μέ τήν προσθήκη νεροῦ ἄν εἶναι ἀνάγκη. Μέ ξύλινο ραβδάκι κάνομε ἐπίχρισμα τοῦ ἐναιωρήματος αὐτοῦ σέ ταινία χαρτιοῦ Whatman No 121. Ἀναστρέφομε τό χάρτη καί στάζομε ἐπάνω του μία σταγόνα διαλύματος ὀρθοτολουϊδίνης 1,2% σέ πηγμένο ὀξικό ὀξύ. Στήν ἀντίθετη πλευρά τοῦ χαρτιοῦ προσθέτομε μία σταγόνα ὑπεροξείδιου τοῦ ὑδρογόνου 10 ὄγκων %. Ὅταν ἡ δοκιμασία εἶναι θετική, ἐμφανίζεται μέσα σέ 30 δευτερόλεπτα πράσινο ἕως μπλέ χρῶμα.

Δοκιμασία Hematest.

Σέ διηθητικό χαρτί παρασκευάζομε μικρό ἐπίχρισμα κοπράνων. Στό κέντρο τοῦ ἐπιχρίσματος τοποθετοῦμε ἕνα δισκίο Hematest. Ρίχνομε μία σταγόνα νερό ἐπάνω στό δισκίο. Μετά χρονικό διάστημα 5-10 δευτερολέπτων ρίχνομε καί δεύτερη σταγόνα νεροῦ ἐπάνω στό δισκίο γιά νά κυλήσει ἐπάνω στό χαρτί. Ἄν μέσα σέ δύο λεπτά δέν ἐμφανισθεῖ μπλέ χρῶμα στό χαρτί, ἡ δοκιμασία θεωρεῖται ἀρνητική. Ἄν ἐμφανισθεῖ στό διηθητικό χαρτί μπλέ χρῶμα ἡ δοκιμασία θεωρεῖται θετική. Ἡ ποσότητα αἵματος εἶναι ἀνάλογη πρός τήν ἔνταση τοῦ χρώματος καί τό χρόνο ἐμφανίσεώς του. Τό χρῶμα τοῦ δισκίου δέν ἔχει σημασία. Ἡ δοκιμασία Hematest εἶναι λιγότερο εὐαίσθητη ἀπό τή δοκιμασία ὀρθοτολουϊδίνης.

8.3 Πτύελα.

Πτύελα χαρακτηρίζομε τά ἐκκρίματα πού ἀποβάλλονται ἀπό τίς ἀεραγωγές ὁδούς, ἀπό τό λάρυγγα ὡς καί τίς πνευμονικές κυψελίδες. Ἡ ἐξέταση τῶν πτυέλων,

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

κατά κανόνα, ἀφορᾶ πτύελα πού συγκεντρώθηκαν κατά τή διάρκεια τοῦ 24ώρου. Μεγάλη σημασία γιά τήν ἐξέταση τῶν πτυέλων, ἔχει ἡ μακροσκοπική ἐξέτασή τους, γιατί μέ αὐτή βγαίνουν συμπεράσματα ἀπό τό ποσό, τή χροιά, τήν ὀσμή καί τή σύσταση τῶν πτυέλων, κι' αὐτό μᾶς καθοδηγεῖ στό εἶδος τῆς μικροσκοπικῆς ἐξετάσεως.

8.3.1 Μακροσκοπική ἐξέταση πτυέλων.

1) Ποσό.

Φυσιολογικά τό ποσό τῶν πτυέλων τοῦ 24ώρου εἶναι ἀσήμαντο. Αὔξησή του ἐμφανίζεται σέ ὀξεῖες βρογχίτιδες, βρογχικό ἄσθμα, βρογχεκτασίες, πνευμονικό ἀπόστημα, πνευμονικό οἴδημα, πνευμονία. Ἀπότομη ἐλάττωση τῆς ἀποχρέμψεως στίς παραπάνω παθήσεις σημαίνει ἀπόφραξη τοῦ ἀποχετευτικοῦ βρόγχου.

2) Σύσταση.

Ἡ σύσταση τῶν πτυέλων μπορεῖ νά εἶναι:

- Ὀρώδης
- Βλεννώδης
- Ἰνώδης
- Πυώδης
- Ὀροπυώδης
- Βλεννοπυώδης
- Χολώδης
- Αἱμορραγική
- Γαγγραινώδης

3) Χροιά.

Ἄχρωμη καί ***διαυγής*** εἶναι ἡ βλεννώδης ἀπόχρεμψη.

Κίτρινη ὅταν ὑπάρχει πύον ἀλλά καί στή βρογχίτιδα.

Τεφροκίτρινη (γκριζοκίτρινη) ὅταν ὑπάρχουν πύον καί ἐπιθηλιακά κύτταρα.

Πράσινη ὅταν ὑπάρχουν πνευμονικές λοιμώξεις ἀπό ψευδομονάδα καί ὅταν γίνει ρήξη ἡπατικοῦ ἀποστήματος μέσα στούς πνεύμονες.

Φαιή ἤ ἐρυθρόφαιη, σέ γάγγραινα τοῦ πνεύμονα καί ρήξη πρός τούς πνεύμονες ἀμοιβαδικοῦ ἀποστήματος τοῦ ἥπατος.

Κόκκινη σέ αἱμορραγίες.

Σκωριόχρωμη (χρῶμα σκουριᾶς) εἶναι ἡ ἀπόχρεμψη στήν πνευμονία καί σέ πνευμονική ἐμβολή.

Τεφρόχρωμη (γκρίζα) στό πολύ κάπνισμα.

4) Σχῆμα.

Τά πτύελα μέσα στό πτυελοδοχεῖο ἀποτελοῦν μία μάζα. Μπορεῖ ὅμως νά παίρνουν καί χαρακτηριστικό σχῆμα, ὅπως νομισματοειδές στή φυματίωση καί σάν φράουλα σέ νεοπλάσματα τοῦ πνεύμονα.

5) Ὀσμή.

Τά πρόσφατα φυσιολογικά πτύελα εἶναι ἄοσμα. Ἔντονα κάκοσμα πτύελα παρατηροῦνται ὅταν ὑπάρχει γάγγραινα τοῦ πνεύμονα, βρογχεκτασία, σπηλαιώδης φυματίωση.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

6) Παρουσία παθολογικῶν στοιχείων.

Παθολογικά στοιχεῖα θεωροῦνται μεμβράνες, βρογχόλιθοι καί ἔμβολα Dittrich.

8.3.2 Μικροσκοπική ἐξέταση πτυέλων.

Μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση τῶν πτυέλων, ἐκτός ἀπό τά μικρόβια πού μποροῦμε νά βροῦμε, μποροῦμε νά προσδιορίσομε καί τά ἀκόλουθα στοιχεῖα.

- ***Σπειρύλλια τοῦ Gurschmann.*** Εἶναι βλεννώδεις σπειροειδεῖς ἶνες, πού ἐμφανίζουν αὐλό καί παρατηροῦνται στά πτύελα τῶν ἀσθματικῶν.
- ***Κύλινδροι.*** Αὐτοί ἀποτελοῦν τά ἐκμαγεῖα τῶν βρόγχων.
- ***Ἐλαστικές ἶνες.*** Ἡ παρουσία ἐλαστικῶν ἰνῶν εἶναι ἐνδεικτική καταστροφῆς τῶν βρογχιολίων καί τῶν πνευμονικῶν κυψελίδων.
- ***Σωμάτια μυελίνης.*** Εἶναι διαυγή σφαιρίδια διαφόρων μεγεθῶν, πού μοιάζουν μέ σταγόνες λίπους καί δέν ἔχουν κλινική σημασία.
- ***Κύτταρα πού περιέχουν χρωστικές.*** Εἶναι μεγάλα μονοπύρηνα πού περιέχουν μέσα στό πρωτόπλασμά τους ἄφθονη αἱμοσιδηρίνη.
- ***Ἐπιθηλιακά κύτταρα.***
- ***Κρύσταλλοι Charcot-Leyden.***
- ***Ἐρυθρά αἱμοσφαίρια.***

8.3.3 Κυτταρολογική ἐξέταση πτυέλων.

Μέ τήν κυτταρολογική ἐξέταση πτυέλων ἀναζητοῦμε ἠωσινόφιλα πολυμορφοπύρηνα, πυοσφαίρια καί νεοπλασματικά κύτταρα.

8.3.4 Παρασιτολογική ἐξέταση πτυέλων.

Μέσα στά πτύελα τῆς ἀποχρέμψεως μπορεῖ νά ἀνευρεθοῦν ἄγκιστρα ἐχινόκοκκου κύστεως καί ἱστολυτικές ἀμοιβάδες.

8.3.5 Μυκητολογική ἐξέταση πτυέλων.

Μέσα στά πτύελα τῆς ἀποχρέμψεως μπορεῖ ἐπίσης νά ἀνευρεθοῦν καί διάφοροι μύκητες, ὅπως ἀκτινομύκητες, βλαστομύκητες, σπορότριχα, ἀσπέργιλλοι κλπ., ἡ παρουσία τῶν ὁποίων χαρακτηρίζει καί τό εἶδος τῆς μυκητιάσεως τοῦ πνεύμονα.

8.4 Ἀρθρικό ὑγρό.

Τό ἀρθρικό ὑγρό, ὅπως ὅλα τά ὑγρά τοῦ ὀργανισμοῦ σέ παθολογικές καταστάσεις, ὑφίσταται διάφορες μεταβολές τῶν χαρακτήρων του, πού μποροῦμε νά τίς διαπιστώσομε μέ τή μακροσκοπική, τή χημική, τή μικροσκοπική καί τή μικροβιολογική ἐξέτασή του.

8.4.1 Μακροσκοπική ἐξέταση.

1) Ὄψη.

Φυσιολογικά τό ἀρθρικό ὑγρό εἶναι διαυγές καί σπάνια μπορεῖ νά παρουσιάζει θολερότητα. Θολό γίνεται ὅταν ὑπάρχουν μέσα σ' αὐτό ἔμμορφα αἰωρούμενα στοιχεῖα, ὅπως κύτταρα, κρύσταλλοι, λιποειδή σωμάτια καί χονδρική σκόνη.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

2) Χρῶμα.

Φυσιολογικά τό ἀρθρικό ὑγρό εἶναι ἄχρωμο ἤ ἀχυροκίτρινο. Σέ παθολογικές καταστάσεις τό χρῶμα τοῦ ἀρθρικοῦ ὑγροῦ γίνεται κίτρινο, πρασινωπό, αἱμορραγικό καί ξανθοχρωματικό.

3) Παρουσία πήγματος ἰνικῆς.

Φυσιολογικά τό ἀρθρικό ὑγρό δέν ἐμφανίζει πῆγμα ἰνικῆς. Σέ ὁρισμένες ὅμως παθολογικές καταστάσεις τῆς ἀρθρώσεως ἐμφανίζεται πῆγμα ἰνικῆς.

4) Γλοιότητα.

Φυσιολογικά ὑπάρχει ἀρκετή, πού φαίνεται καί μέ τό μάτι. Ἄν ἀφήσομε μιά σταγόνα νά πέσει ἀπό τή βελόνα, σχηματίζεται μιά ἰνώδης οὐρά μήκους περίπου 6 mm. Σταγόνα ἀρθρικοῦ ὑγροῦ ἀνάμεσα στά δάκτυλα σχηματίζει νηματοειδή προέκταση, ὅταν τά δάκτυλα ἀπομακρύνονται. Στίς περισσότερες φλεγμονώδεις ἀρθροπάθειες ἡ γλοιότητα ἐξαφανίζεται ἤ μειώνεται σημαντικά λόγω ἀποπολυμερισμοῦ τοῦ ὑαλουρονικοῦ ὀξέος. Ἡ ἐξέταση γιά τή γλοιότητα πρέπει νά γίνει ἀμέσως, πρίν κρυώσει τό ὑγρό, γιατί ἡ γλοιότητα αὐξάνει ὅταν κατεβαίνει ἡ θερμοκρασία.

8.4.2 Χημική ἐξέταση.

1) Σάκχαρο.

Τό ποσό σακχάρου στό ἀρθρικό ὑγρό εἶναι κατά 10% ὡς 20% λιγότερο ἀπό τό ποσό τοῦ σακχάρου στό αἷμα.

Στίς λοιμώδεις ἀρθρίτιδες τό ποσό τοῦ σακχάρου ἐλαττώνεται ὡς τήν ἐξαφάνιση, ἐνῶ στίς μή λοιμώδεις φλεγμονώδεις ἀρθρίτιδες ἐλαττώνεται σέ μικρότερο ποσοστό. Δέν ἐλαττώνεται τό σάκχαρο στήν τραυματική, ἐκφυλιστική καί ρευματική ἀρθρίτιδα.

2) Πήξη μυκίνης.

Ἡ δοκιμή αὐτή χρησιμεύει γιά νά ἀνιχνεύσομε τήν παρουσία τοῦ ὑαλουρονικοῦ ὀξέος. Τό ὑαλουρονικό ὀξύ βρίσκεται μέσα στό ἀρθρικό ὑγρό συνδεμένο μέ μέρος τῶν σφαιρινῶν του.

Ἄν προστεθεῖ στό σύμπλεγμα αὐτό ὀξικό ὀξύ, τότε προκαλεῖται πήξη τοῦ ἀρθρικοῦ ὑγροῦ καί παραγωγή πήγματος σάν ζελατίνα. Ἡ σύσταση τῆς ζελατίνας ἐξαρτᾶται ἀπό τό ποσό τοῦ ὑαλουρονικοῦ ὀξέος, δηλαδή ὅσο λιγότερο ὑαλουρονικό ὀξύ ὑπάρχει τόσο ἡ ζελατίνα εἶναι πιό χαλαρή. Τό ἀποτέλεσμα ἐκφράζεται μέ σταυρούς. Ἡ δοκιμή αὐτή εἶναι θετική στή ρευματική, ἐκφυλιστική καί στήν τραυματική ἀρθρίτιδα, ἐνῶ ἀρνητική στίς λοιμώδεις ἀρθρίτιδες.

3) Δοκιμή R.A.

4) Δοκιμή προσδιορισμοῦ τοῦ ποσοῦ τοῦ συμπληρώματος.

8.4.3 Μικροσκοπική ἐξέταση.

Τό ἀρθρικό ὑγρό φυσιολογικά περιέχει 60 ὡς 200 κύτταρα κατά mm^3. Ἀπό αὐτά μόνο τά 5% εἶναι πολυμορφοπύρηνα. Τά ὑπόλοιπα εἶναι μονοπύρηνα κύτταρα τῆς λεμφικῆς σειρᾶς, πλασματοκύτταρα, ἱστιοκύτταρα κ.ἄ. Στίς διάφορες παθολογι-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

κές καταστάσεις τά κύτταρα τοῦ ἀρθρικοῦ ὑγροῦ αὐξάνουν καί μεταβάλλεται ἡ ποσοστιαία ἀναλογία τους.

Μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση μπορεῖ ἀκόμα νά βρεθοῦν:

α) Κύτταρα μέ ἔγκλειστα. Ἐμφανίζονται στή ρευματοειδή ἀρθρίτιδα καί γιά νά γίνουν ὁρατά χρωματίζονται μέ τή χρώση Sternheimer-Malbin.

β) Κύτταρα λύκου ἤ L.E. Ἐμφανίζονται σέ ἀσθένειες τοῦ κολλαγόνου.

γ) Κρύσταλλοι. Οἱ πιό χαρακτηριστικοί εἶναι οἱ κρύσταλλοι τοῦ πυροφωσφορικοῦ διασβεστίου. Ἄλλοι κρύσταλλοι πού ἀνευρίσκονται εἶναι οἱ κρύσταλλοι τοῦ οὐρικοῦ ὀξέος καί οἱ κρύσταλλοι τῆς χοληστερίνης.

δ) Χονδρική σκόνη. Φυσιολογικά στό ἀρθρικό ὑγρό δέν ὑπάρχουν μικρότατα τεμάχια χόνδρου. Στήν ἐκφυλιστική ἀρθροπάθεια, τή χονδρασβέστωση καί τήν τραυματική ἀρθρίτιδα βρίσκονται μέσα στό ἀρθρικό ὑγρό τέτοια τεμάχια χόνδρου.

8.5 Παθολογικά ὑγρά τοῦ σώματος.

Διιδρώματα — Ἐξιδρώματα.

Διιδρώματα καί ἐξιδρώματα χαρακτηρίζομε παθολογικά ὑγρά τοῦ σώματος, πού συλλέγονται σέ διάφορες κοιλότητές του. Τά διιδρώματα δέν ἔχουν φλεγμονώδης προέλευση, ἐνῶ τά ἐξιδρώματα ἔχουν καί ὀφείλονται συνήθως σέ μικροβιακή λοίμωξη.

8.5.1 Διιδρώματα.

α) Γενικοί χαρακτῆρες.

- ***Ὄψη:*** Διαυγής.
- ***Χροιά:*** Ἀχυρόχρωμη ὥς κιτρινοπράσινη.
- ***Ὀσμή:*** Ἄοσμα.
- ***Εἰδικό Βάρος:*** 1006-1016. Πάντοτε κατώτερο ἀπό 1018.
- ***Ἀντίδραση:*** Ἀλκαλική.
- ***Ἀντίδραση Rivalta:*** Ἀρνητική.

Τά διιδρώματα ***δέν πήζουν στό δοκιμαστικό σωλήνα*** καί περιέχουν μικρό ἀριθμό κυττάρων πού τά περισσότερά τους εἶναι λεμφοκύτταρα.

β) Χημική σύσταση.

α) Λευκώματα. Τό ποσό τῶν λευκωμάτων δέν ὑπερβαίνει τά 30 g‰. Οἱ πρωτεΐνες πού περιέχουν εἶναι κυρίως λευκωματίνες καί ἐλάχιστο ποσό σφαιρινῶν. Ἰνωδογόνο οὐδέποτε περιέχεται στά διιδρώματα.

β) Λίπη-Λιποειδή. Περιέχουν κυρίως λεκιθίνη 20-100 mg%.

γ) Γλυκόζη, Οὐρικό ὀξύ, Κρεατινίνη. Τά συστατικά αὐτά περιέχονται σέ ἀναλογία ἴση μέ τήν ἀναλογία πού βρίσκονται στό αἷμα.

δ) Χλωριοῦχα. Περιέχονται σέ ἀναλογία 720-750 mg%.

ε) Ἀσβέστιο. 4,5-5,5 mg%.

στ) Φωσφορικά ἅλατα, μαγνήσιο, κάλιο καί νάτριο. Περιέχονται σέ πολύ μικρή ἀναλογία.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

8.5.2 Ἐξιδρώματα.

α) Γενικοί χαρακτῆρες.

- ***Ὄψη:*** Διαυγής ὡς ἐλαφρά θολή. Ἀνάλογα μέ τήν ὄψη τους διακρίνονται σέ ὀρώδη, ὀροϊνώδη, αἱμορραγικά, ὀροπυώδη, πυώδη κλπ.
- ***Χροιά:*** Εἶναι συνήθως κίτρινη. Μπορεῖ ὅμως νά ποικίλλει ἀπό ἀχυρόχρωμη ὡς κιτρινοπράσινη.
- ***Ὀσμή:*** Τά ἐξιδρώματα μπορεῖ νά εἶναι ἄοσμα ἤ νά ἐμφανίζουν δυσάρεστη ὀσμή λόγω σήψεως.
- ***Εἰδικό Βάρος:*** Εἶναι μεγαλύτερο ἀπό 1018.
- ***Rivalta:*** Ἡ ἀντίδραση Rivalta εἶναι θετική.

Τά ἐξιδρώματα μέσα στό δοκιμαστικό σωλήνα ***μποροῦν νά ὑποστοῦν πήξη.*** Περιέχουν πολλά κύτταρα, στά ὁποῖα κυριαρχοῦν τά πολυμορφοπύρηνα.

β) Χημική σύσταση.

α) Λευκώματα. Τό ποσό τῶν λευκωμάτων εἶναι πάνω ἀπό 30 g‰. Περιέχουν λευκωματίνες, σφαιρίνες, ἰνωδογόνο καί νουκλεοπρωτεΐδια.

β) Λίπη-Λιποειδή. Περιέχουν χοληστερίνη.

γ) Γλυκόζη. Αὐτή ὑπάρχει σέ μικρότερη ἀναλογία ἀπό ὅ,τι στά διιδρώματα.

δ) Οὐρία, Οὐρικό ὀξύ, Κρεατινίνη. Τά συστατικά αὐτά βρίσκονται σέ ἀναλογία ἴση μέ τήν ἀναλογία πού ὑπάρχουν στό αἷμα.

ε) Χλωριοῦχα. Περιέχουν μικρότερη ἀναλογία ἀπό ὅ,τι τά διιδρώματα.

στ) Ἀσβέστιο, Μαγνήσιο. Αὐτά ὑπάρχουν σέ μεγαλύτερη ἀναλογία ἀπό ὅ,τι στά διιδρώματα.

8.5.3 Διαφορές διιδρωμάτων — ἐξιδρωμάτων.

1. Τά διιδρώματα δημιουργοῦνται ἀπό κυκλοφορικές διαταραχές, (ὑδροθώρακας, ἀσκίτης, οἴδημα ἀνά σάρκα).
   Ἀντίθετα τά ἐξιδρώματα προέρχονται ἀπό φλεγμονώδεις ἐξεργασίες (πλευριτικό ὑγρό, περιτοναϊκό ὑγρό κλπ.).
2. Τό εἰδικό βάρος τῶν διιδρωμάτων σπανίως ξεπερνᾶ τό 1018, ἐνῶ ἀντίθετα τῶν ἐξιδρωμάτων εἶναι μεγαλύτερο ἀπό 1018.
3. Τά διιδρώματα δέν περιέχουν ἰωδογόνο καί ἔτσι δέν πήζουν, ἐνῶ τά ἐξιδρώματα λόγω ἰνωδογόνου πήζουν.
4. Τά διιδρώματα περιέχουν μικρότερο ποσό πρωτεϊνῶν.
5. Τά διιδρώματα κατά κανόνα ἐμφανίζουν ἀρνητική τήν ἀντίδραση Rivalta, ἐνῶ τά ἐξιδρώματα τήν ἐμφανίζουν θετική.
6. Τά διιδρώματα περιέχουν ἐνδοθηλιακά κύτταρα καί ἐρυθροκύτταρα καί μερικές φορές ἀνευρίσκονται καί μικρά λευμφοκύτταρα. Τά ἐξιδρώματα περιέχουν πολυμορφοπύρηνα ἤ ἠωσινόφιλα καί κατά κανόνα ἀνευρίσκονται ἐρυθρά αἱμοσφαίρια.
7. Τά διιδρώματα εἶναι κατά κανόνα στεῖρα μικροβίων, ἐνῶ τά ἐξιδρώματα μπορεῖ νά δίνουν θετικές καλλιέργειες γιά πνευμονιόκοκκο, στρεπτόκοκκο, ἐνῶ τό βακτηρίδιο τοῦ Κώχ μπορεῖ νά ἀνευρεθεῖ ὕστερα ἀπό ἐνοφθαλμισμό σέ ἰνδοχοίρους.

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

8.5.4 Ἀντίδραση Rivalta.

Ἡ δοκιμασία αὐτή γίνεται προκειμένου νά διαπιστώσομε ἄν παθολογικό ὑγρό εἶναι διίδρωμα ἤ ἐξίδρωμα.

Σέ ἕνα κωνικό ποτήρι πού περιέχει 100 cm^3 νερό καί δύο σταγόνες ὀξικό ὀξύ, ἀφήνομε νά πέσει μία σταγόνα ἀπό τό ἐξεταζόμενο ὑγρό. Ἄν τό ὑγρό εἶναι ἐξίδρωμα ἡ ἀντίδραση εἶναι θετική ἐπειδή πήζουν ἡ πρωτεΐνες. Συγκεκριμένα ἡ σταγόνα τοῦ ὑγροῦ πού ἀφήνομε νά πέσει μέσα στό κωνικό ποτήρι διαγράφει μία λευκή τροχιά.

8.5.5 Πλευριτικό ὑγρό.

Πλευριτικό ὑγρό ὀνομάζομε τό ὑγρό πού ἀθροίζεται σέ παθολογικές καταστάσεις μεταξύ τῶν πετάλων τοῦ ὑπεζοκότα.

Τό ποσό τοῦ ὑγροῦ ποικίλλει ἀπό 200 cm^3 ὥς τό σημεῖο νά καταλάβει ὁλόκληρο τό ἡμιθωράκιο. Συνήθως πρόκειται γιά ἐξίδρωμα, μπορεῖ ὅμως νά εἶναι καί διίδρωμα ὁπότε ἔχομε ὑδροθώρακα.

Ἡ ὄψη καί τό χρῶμα του ἐξαρτῶνται ἀπό τή σύστασή του. Ἐκεῖνο πού συναντᾶμε συχνότερα εἶναι τό ὀροϊνῶδες, πού τό χρῶμα του εἶναι ἀσθενῶς κίτρινο καί ἡ διαύγειά του ἐξαρτᾶται ἀπό τήν ποσότητα τοῦ λευκώματος καί τόν ἀριθμό τῶν κυττάρων.

Ἡ μεγάλη περιεκτικότητα σέ πυοσφαίρια κάνει τό ὑγρό πυῶδες μέ ὄψη θολή. Τό πυῶδες πλευριτικό ὑγρό ὅταν τό ἀφήσομε σέ ἠρεμία χωρίζεται σέ δύο στιβάδες, μία ἐπάνω ὀρώδη καί μία κάτω πυώδη.

Ὅταν τό ὑγρό περιέχει ἐρυθρά αἱμοσφαίρια παίρνει χρῶμα κόκκινο ἤ ρόδινο ἀνάλογα μέ τόν ἀριθμό τῶν ἐρυθρῶν πού περιέχει. Ἡ πρόσμιξη λέμφου κάνει τό ὑγρό χυλῶδες.

Οἱ διάφοροι χαρακτῆρες τοῦ πλευριτικοῦ ὑγροῦ ἐξαρτῶνται ἀπό τό ἄν αὐτό εἶναι ἐξίδρωμα ἤ διίδρωμα. Ἡ λήψη τοῦ ὑγροῦ γίνεται μέ παρακέντηση τῆς θωρακικῆς κοιλότητας (σχ. 8.5).

8.5.6 Περιτοναϊκό ὑγρό.

Περιτοναϊκό ὑγρό ἤ ἀσκίτη καλοῦμε τή συλλογή ὑγροῦ μέσα στήν περιτοναϊκή κοιλότητα. Ὑγρό μπορεῖ νά ἀθροισθεῖ μέσα στήν περιτοναϊκή κοιλότητα εἴτε λόγω διιδρώσεως εἴτε λόγω ἐξιδρώσεως.

Ἐξιδρωματικό ὑγρό ἀθροίζεται στή φυματιώδη περιτονίτιδα, στίς νόσους τοῦ κολλαγόνου καί στήν καρκινωματώδη διήθησή του.

Σέ ὅλες τίς ἄλλες παθολογικές καταστάσεις ἔχομε ἄθροιση διιδρωματικοῦ ὑγροῦ μέσα στήν περιτοναϊκή κοιλότητα. Τό διιδρωματικό ὑγρό εἶναι διαυγές, ἀχυρόχρωμο ἤ ἀσθενῶς κίτρινο καί δέν πήζει μέσα στό δοκιμαστικό σωλήνα. Δέν περιέχει κύτταρα ἤ περιέχει λίγα λεμφοκύτταρα καί ἐνδοθηλιακά κύτταρα. Ἐμφανίζει τούς γενικούς χαρακτῆρες καί τή χημική σύσταση τῶν διιδρωμάτων.

Τό ἐξιδρωματικό ὑγρό εἶναι διαυγές ἤ ἐλαφρῶς θολερό ἤ αἱμορραγικό ἐπί νεοπλασματικῆς διηθήσεως. Ἐμφανίζει τούς γενικούς χαρακτῆρες καί τή χημική σύσταση τῶν ἐξιδρωμάτων.

Σπάνια τό περιτοναϊκό ὑγρό εἶναι χυλῶδες λόγω διαφυγῆς λέμφου στήν ἐλεύ-

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΘΕΡΑΠΕΥΤΗΡΙΟΝ "Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ,,
ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΟΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΝ

ΚΛΙΝΙΚΗ _____ Ν. Μ. _____ ΘΑΛ. _____

ΟΝΟΜΑ _____

ΑΡ. ΙΣΤΟΡΙΚΟΥ _____

Γενικοὶ Χαρακτῆρες

Ὄψις: πρὸ φυγοκεντρήσεως — Μετὰ φυγοκέντρησιν

Ἴζημα: — Ἰνικὴ

Χημικὴ ἐξέτασις:

Ἀντίδρασις RIVALTA — Ποσὸν λευκώματος γρ. °/oo

Μικροσκοπικῶς:

Κύτταρα: — ἐξ ὧν: Λεμφοκύττ. — Πολυμορφ. — Ἐνδοθηλ.

Ἐρυθρὰ αἱμοσφαίρια: _____ β. Koch:

Καλλιέργεια:

Ἡμερομηνία _____

Ὑπογραφὴ

Ὑπόδ. Ε - 3/3

31. ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΝ ΥΓΡΟΝ - ΑΣΚΗΤΙΚΟΝ ΥΓΡΟΝ

Σχ. 8.5.
Ἔντυπο ἀπαντήσεως πλευριτικοῦ καί ἀσκιτικοῦ ὑγροῦ.

θερη περιτοναϊκή κοιλότητα. Τό ποσό τοῦ περιτοναϊκοῦ ὑγροῦ μπορεῖ νά φθάσει τά 15-20 λίτρα καί ἡ λήψη του γίνεται μέ παρακέντηση τῆς κοιλίας.

Ἐρωτήσεις.

1) Ποιοί εἶναι οἱ φυσικοί χαρακτῆρες τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
2) Πῶς γίνεται ἡ μέτρηση κυττάρων στό ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό;
3) Τί προσδιορίζομε μέ τή χημική ἐξέταση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ;
4) Ἀναφέρετε τήν ἀντίδραση Nonne-Apelt.
5) Ἀναφέρετε τήν ἀντίδραση Pandy.
6) Τί περιλαμβάνει ἡ γενική ἐξέταση κοπράνων;
7) Ποιοί εἶναι οἱ γενικοί χαρακτῆρες τῶν κοπράνων;
8) Τί διαπιστώνομε μέ τή μακροσκοπική ἐξέταση τῶν κοπράνων;
9) Ποιά παράσιτα βρίσκομε στά κόπρανα;
10) Πῶς γίνεται ἡ ἀναζήτηση τῆς αἱμοσφαιρίνης στά κόπρανα;
11) Ποιά εἶναι ἡ σύσταση καί ἡ χροιά τῶν πτυέλων;
12) Ποιά στοιχεῖα προσδιορίζομε μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση τῶν πτυέλων;
13) Μακροσκοπικῶς ποιά ὄψη καί ποιό χρῶμα ἐμφανίζει τό ἀρθρικό ὑγρό;
14) Τί γνωρίζετε γιά τή γλοιότητα τοῦ ἀρθρικοῦ ὑγροῦ;
15) Τί διαπιστώνετε μέ τή μικροσκοπική ἐξέταση τοῦ ἀρθρικοῦ ὑγροῦ;
16) Τί εἶναι διίδρωμα καί τί ἐξίδρωμα;
17) Ποιές εἶναι οἱ διαφορές διιδρώματος καί ἐξιδρώματος;
18) Ἀναφέρετε τήν ἀντίδραση Rivalta.
19) Τί γνωρίζετε γιά τό πλευριτικό ὑγρό;
20) Τί γνωρίζετε γιά τό περιτοναϊκό ὑγρό;

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

Μέτρηση καί ἀναφορά ἀποτελεσμάτων

1.1 Γενικά περί διαλυμάτων 1
1.2 Ἰοντική ἰσχύς – Ἐνεργός ὀξύτητα (pH) 2
1.3 Ὠσμωτική πίεση 4
1.4 Μονάδες μετρήσεως 4
1.5 Μονάδες προσδιορισμοῦ ἐνζύμων 8

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Ἀποφυγή λάθους
Ἔντυπα ἀπαντήσεων καί ἀρχεῖο ἐργαστηρίου

2.1 Παραγγελία ἐξετάσεως 10
2.2 Λήψη δειγμάτων 11
2.3 Ἐκτέλεση ἐξετάσεως 12
2.4 Ἐγγραφή ἀποτελεσμάτων 13

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Ἡ ἐξέταση τῶν οὔρων

3.1 Γενική οὔρων 15
3.2 Γενικοί χαρακτῆρες τῶν οὔρων 17
3.3 Συστατικά τῶν οὔρων 17
3.4 Ποιοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων 18
3.4.1 Λεύκωμα 18
3.4.2 Σάκχαρο 20
3.4.3 Κετονικά ἤ ὀξονικά σώματα 22
3.4.4 Αἱμοσφαιρίνη (HB). 22
3.4.5 Χολοχρωστικές 23
3.5 Ποσοτική ἀνάλυση τῶν οὔρων 24
3.5.1 Σάκχαρο 24
3.5.2 Οὐροχολινογόνο 25

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

3.5.3 Λεύκωμα 25
3.5.4 Ἠλεκτροφόρηση λευκωμάτων 26
3.5.5 Μέθοδος ταινιῶν μέ πολλαπλές ἀντιδράσεις 26
3.6 Μικροσκοπική ἐξέταση τῶν οὔρων 26
3.6.1 Ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά 27
3.6.2 Μή ὀργανωμένα μικροσκοπικά συστατικά 29
3.7 Δοκιμές νεφρικῆς λειτουργίας 30
3.7.1 Δοκιμές τοῦ ρυθμοῦ τῆς σπειραματικῆς διηθήσεως 30

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

Βασικές βιοχημικές ἐξετάσεις

4.1 Λήψη δειγμάτων αἵματος 33
4.2 Τρόποι λήψεως αἵματος 33
4.3 Προφυλάξεις καί προετοιμασία γιά τή λήψη αἵματος 34
4.4 Προετοιμασία τοῦ πρός ἐξέταση δείγματος αἵματος 35
4.5 Φύλαξη τῶν δειγμάτων 35
4.6 Ἀντιπηκτικά 35
4.7 Τί χρειάζεται γιά κάθε ἐξέταση 36
4.8 Ὀργανικές ἑνώσεις — Ἐξετάσεις 39
4.8.1 Οὐρία 39
4.8.2 Χοληστερίνη 40
4.8.3 Σάκχαρο 40
4.8.4 Κρεατινίνη 41
4.8.5 Οὐρικό ὀξύ 42
4.8.6 Χολερυθρίνη 42
4.9 Ἔνζυμα 44
4.9.1 Ἀλκαλική φωσφατάση 45
4.9.2 Ὄξινη φωσφατάση 45
4.9.3 Τρανσαμινάσες 46
4.10 Λευκώματα καί ἠλεκτροφόρηση λευκωμάτων 47
4.10.1 Λευκώματα 47
4.10.2 Ἠλεκτροφόρηση λευκωμάτων 48
4.10.3 Τεχνική ἠλεκτροφορήσεως 49
4.11 Ἠλεκτρολύτες 51
4.11.1 Γενικά 51
4.11.2 Φλογοφωτόμετρο — Φλογοφωτομετρία 51
4.11.3 Προσδιορισμός νατρίου καί καλίου 52
4.11.4 Προσδιορισμός χλωρίου 54
4.11.5 Προσδιορισμός ἀσβεστίου 54
4.12 Δοκιμασίες ἐλέγχου τῆς ἡπατικῆς λειτουργίας 55
4.12.1 Δοκιμασίες κροκυδώσεως καί θολερότητας 55
4.12.2 Δοκιμασία κροκυδώσεως κεφαλίνης-χοληστερίνης ἤ δοκιμασία Hanger 56
4.12.3 Δοκιμασία θολερότητας καί κροκυδώσεως θυμόλης ἤ δοκιμασία Maclagan. 57
4.12.4 Δοκιμασία θολερότητας θειϊκοῦ ψευδαργύρου ἤ δοκιμασία Kunkel. 58
4.12.5 Δοκιμασία βρωμοσουλφονοφθαλεΐνης στόν ὀρό ἤ δοκιμασία B.S.P. 58
4.13 Αὐτοαναλυτής 59

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

Γενικά περί αἱματολογικῶν ἐξετάσεων

5.1 Προετοιμασία τοῦ δείγματος 62
5.2 Ἔκπλυση ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων 62

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

5.3 Ἐναιώρημα ἐρυθρῶν 62
5.4 Ἀδρανοποίηση τοῦ ὁροῦ 62
5.5 Παρασκευή ἐπιχρίσματος 63
5.6 Ξήρανση τοῦ ἐπιχρίσματος 63
5.7 Μονιμοποίηση τοῦ ἐπιχρίσματος 63
5.8 Γενική αἵματος 63
5.8.1 Μέτρηση ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων 64
5.8.2 Ἐρυθρά ἀπό τόν αἱματοκρίτη 65
5.8.3 Αἱματοκρίτης (Ht) 65
5.8.4 Μικροαιματοκρίτης 65
5.8.5 Μέτρηση ποσοῦ αἱμοσφαιρίνης (HB) 66
5.9 Σχέσεις ἐρυθρῶν αἱμοσφαιρίων-αἱμοσφαιρίνης καί αἱματοκρίτη 66
5.10 Ταχύτητα καθιζήσεως ἐρυθρῶν (Τ.Κ.Ε.) 67
5.11 Μορφολογικές παρατηρήσεις 68
5.12 Χρώσεις αἵματος 69
5.13 Μέτρηση λευκῶν αἱμοσφαιρίων 70
5.14 Λευκοκυτταρικός τύπος 71
5.15 Ἔκφραση σέ ἀπόλυτους ἀριθμούς 71
5.16 Μέτρηση αἱμοπεταλίων 72
5.17 Μυελόγραμμα 73
5.18 Βιοχημεία αἱμοσφαιρίνης (Hb) 75
5.19 Δοκιμασίες πήξεως αἵματος 78
5.19.1 Χρόνος ροῆς 78
5.19.2 Χρόνος πήξεως 79
5.19.3 Συστολή τοῦ θρόμβου 80
5.19.4 Χρόνος θρομβίνης 81
5.19.5 Χρόνος προθρομβίνης τοῦ πλάσματος ἤ χρόνος Quik 81

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

Ὀρολογικές ἐξετάσεις

6.1 Γενικά περί ἀντιγόνων-ἀντισωμάτων καί ὀρολογικῶν ἐξετάσεων 82
6.2 Διαδοχικές ἀραιώσεις ὁροῦ 83
6.2.1 Ἀραιώσεις ὑποδιπλάσιες 84
6.2.2 Ἀραιώσεις ὑποδεκαπλάσιες 86
6.3 Προετοιμασμένες δοκιμασίες 86
6.4 Ὀροαντίδραση Wassermann 87
6.5 Ἀντίδραση Kahn 90
6.6 Ἀντίδραση VDRL 91
6.7 Ἀντίδραση Wright 92
6.8 Ὀροαντίδραση Widal 93
6.9 Προσδιορισμός τίτλου ἀντιστρεπτολυσίνης «Ο» 94
6.10 Ρευματοειδής παράγοντας 96
6.10.1 Δοκιμασία Waaler-Rose 96
6.11 Ra-test 96

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

Βασικές μικροβιολογικές ἐξετάσεις

7.1 Ἀποστείρωση γυάλινων σκευῶν – Ὑλικῶν καλλιεργειῶν – Διαλυμάτων καί ἀποκομιδή ἀχρήστων ὑλικῶν 98
7.2 Ἐπιχρίσματα 99
7.3 Χρώσεις 101

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

7.3.1 Χρώση κατά Gram 101
7.3.2 Χρώση κατά Ziehl-Neelsen 102
7.4 Ἀναζήτηση μικροβίων σέ διάφορα ὑλικά 103
7.4.1 Αἱμοκαλλιέργεια 103
7.4.2 Ἐγκεφαλονωτιαῖο ὑγρό 103
7.4.3 Πύον 104
7.4.4 Ὑγρά παρακεντήσεων 104
7.4.5 Ἀρθρικό ὑγρό 104
7.4.6 Φαρυγγικό ἐπίχρισμα 105
7.4.7 Πτύελα 105
7.4.8 Κολπικό ἔκκριμα 105
7.4.9 Ἔκκριμα οὐρήθρας 106
7.4.10 Δερματικές βλάβες 106
7.4.11 Τραύματα 106
7.5 Θρεπτικά ὑλικά 107
7.5.1 Διαίρεση θρεπτικῶν ὑλικῶν 108
7.5.2 Ρύθμιση τοῦ pH τῶν θρεπτικῶν ὑλικῶν 108
7.5.3 Παρασκευή θρεπτικῶν ὑλικῶν 108
7.6 Καλλιέργειες μικροβίων 109
7.6.1 Τρόποι ἐμβολιασμοῦ ἢ ἐνοφθαλμισμοῦ μικροβίων 110
7.7 Τρόποι ἐπωάσεως καλλιεργειῶν 114
7.8 Μορφολογία καλλιεργειῶν 115
7.9 Μορφολογία ἀποικιῶν διαφόρων μικροβίων 116
7.10 Ἀπομόνωση καί ταυτοποίηση μικροβίων 118
7.11 Δοκιμή εὐαισθησίας στά ἀντιβιοτικά. Μέθοδος τῶν δισκίων 118
7.12 Καλλιέργειες μικροβίων ἀπό διάφορα ὑλικά 121
7.12.1 Αἱμοκαλλιέργεια 121
7.12.2 Καλλιέργεια ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ 122
7.12.3 Καλλιέργεια πύου 122
7.12.4 Καλλιέργεια σέ ὑγρά παρακεντήσεων 122
7.12.5 Καλλιέργεια φαρυγγικοῦ ἐπιχρίσματος 123
7.12.6 Καλλιέργεια πτυέλων 123
7.12.7 Καλλιέργεια κοπράνων 123
7.12.8 Καλλιέργεια κολπικοῦ ἐκκρίματος 124
7.12.9 Καλλιέργεια ἐκκρίματος οὐρήθρας 125
7.12.10 Καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό δερματική βλάβη 125
7.12.11 Καλλιέργεια ὑλικοῦ ἀπό μολυσμένα τραύματα 126
7.12.12 Καλλιέργεια οὔρων 126
7.13 Ἀναζήτηση μικροβίων σέ πειραματόζωα 127

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

Εἰδικές ἐξετάσεις

8.1 Ἐγκεφαλωνιαῖο ὑγρό 129
8.1.1 Φυσικοί χαρακτῆρες τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ 129
8.1.2 Κυτταρολογική ἐξέταση τοῦ ἐγκεφαλονωτιαίου ὑγροῦ 129
8.1.3 Χημική ἐξέταση 130
8.2 Κόπρανα 132
8.2.1 Γενικοί χαρακτῆρες κοπράνων 132
8.2.2 Μακροσκοπική ἐξέταση 133
8.2.3 Μικροσκοπική ἐξέταση 133
8.2.4 Χημική ἐξέταση 135
8.3 Πτύελα 135
8.3.1 Μακροσκοπική ἐξέταση πτυέλων 136

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

8.3.2 Μικροσκοπική ἐξέταση πτυέλων 137
8.3.3 Κυτταρολογική ἐξέταση πτυέλων 137
8.3.4 Παρασιτολογική ἐξέταση πτυέλων 137
8.3.5 Μυκητολογική ἐξέταση πτυέλων 137
8.4 Ἀρθρικό ὑγρό 137
8.4.1 Μακροσκοπική ἐξέταση 137
8.4.2 Χημική ἐξέταση 138
8.4.3 Μικροσκοπική ἐξέταση 138
8.5 Παθολογικά ὑγρά τοῦ σώματος 139
8.5.1 Διιδρώματα 139
8.5.2 Ἐξιδρώματα 140
8.5.3 Διαφορές διιδρωμάτων – ἐξιδρωμάτων 140
8.5.4 Ἀντίδραση Rivalta 141
8.5.5 Πλευριτικό ὑγρό 141
8.5.6 Περιτοναϊκό ὑγρό 141

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

COPYRIGHT ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

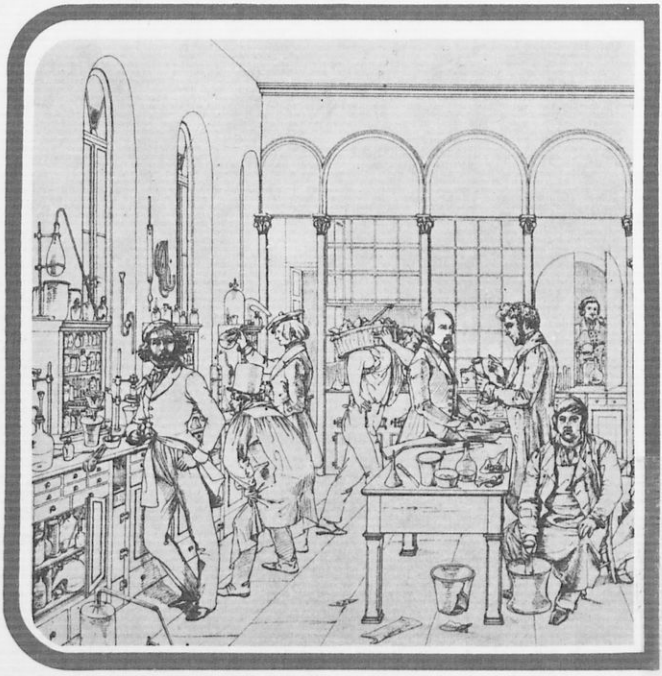
Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

0020558279
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ ΒΟΥΛΗΣ

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής

ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ



Ψηφιοποιήθηκε από το Ινστιτούτο Εκπαιδευτικής Πολιτικής