

Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky



Mikrobiologie a imunologie – BSKM021p + c

Téma 1A (pro PA)

Ondřej Zahradníček

Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu

- Špatně provedený odběr či transport materiálu
 - zbytečné **trápení pacienta**
 - zbytečně **vyhozené prostředky** na vyšetření

Lapidárně řečeno: Lépe pacientovi zastrčit výtěrovku jednou hluboko do řiti, než ji opakovaně zbytečně „šmrdolit“ v ústí otvoru.

„Odečítání“ bakteriologie



Přehled procesu vyšetření

Proces mikrobiologického vyšetřování – na všem záleží!!!

PACIENT/LÉKAŘ

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Vlastní provedení odběru

Transport materiálu

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Interpretace v kontextu ostat. výsledků a stavu pacienta (léčit vždy pacienta, ne nález)

1A Indikace – ZDA provést

- Lékař, ke kterému přišel pacient k vyšetření, by se měl zeptat sám sebe: „**Co udělám jinak v závislosti na výsledku vyšetření?**“
- Pokud zjistí, že ať vyjde vyšetření jakkoli, **bude jeho další postup ve vztahu k pacientovi stejný**, je vyšetření pravděpodobně **zbytečné**
- Toto ale neplatí u **epidemiologických indikací** (třeba začátek epidemie chřipky) a také u **profylaktických indikací** (jako je screening mikrobiálního osídlení pacientů v těžkém stavu)

1A Indikace – CO provést

- Rozhodnutím, že lékař chce provést vyšetření, to zdaleka nekončí. Musí se ještě rozmyslet, **jaké vyšetření se rozhodne provést.**
- Musí znát **spektrum patogenů a možnosti jejich vyšetření**
- Součástí je také **rozhodnutí o tom, jak** technicky se odběr provede, do jaké nádobky či odběrové soupravy a podobně

Tři typy patogenů (1)

- **Patogen typu *Streptococcus pyogenes*.** Nemusí se vědět, že se myslí zrovna na tohoto patogena, ale musí se přesně vědět, kde je jeho předpokládaná lokalizace.
- **Patogen typu *Mycobacterium tuberculosis*.** Musí se vědět, kde patogena hledat, a zároveň i to, že se hledá právě tato skupina patogenů.
- **Patogen typu *Toxoplasma gondii*.** Nemusí se vědět, kde se patogen v těle nachází, ale musí se vědět, že se hledá právě on.

Tři typy patogenů (2)

- **Patogen typu *Streptococcus pyogenes*.** Týká se kultivovatelných bakterií a kvasinek
- **Patogen typu *Mycobacterium tuberculosis*.** Stále je to přímý průkaz, ale speciální postupy, při běžné kultivaci se nezachytí. Mykobakteria, gonokoky, legionely, plísně, paraziti apod.
- **Patogen typu *Toxoplasma gondii*.** Nepřímý průkaz, event. přímý průkaz virového antigenu. Spirochety, viry, chlamydie, mykoplasmata aj.



Foto: O. Z.

2 Vlastní odběr vzorku

3 Transport vzorku do laboratoře

- Tyto fáze nelze oddělit – **odběr je nutno činit již se zřetelem na transport materiálu** do laboratoře
- Jednotlivé typy vzorků budou probrány dále
- **Nelze zapomenout na správné vyplnění průvodky**

Průvodka

- **Správně vyplněná průvodka** je základ dobré diagnostiky – je vodítkem, jaké vyšetření se má provést a jak
- **Průvodka není jen úřední dokument.** Sestry se často mylně domnívají, že např. diagnóza je jen formální záležitost pro pojišťovnu. Přitom mikrobiolog často pomocí diagnózy rozhoduje o svém dalším postupu diagnostiky.
- Laboratoř má **nejen právo, ale i povinnost žádat doplnění špatně vyplněné průvodky.**

Průvodka 1

- **Správně vyplněná průvodka je velice důležitá!**
- **Osobní údaje:** podstatné kvůli pojišťovně, ale i kvůli identifikaci, komu poslat výsledek apod.
- **Přesný popis materiálu a požadovaného vyšetření**
 - **nepsat pouze „výtěr“**, když není jasné, odkud
 - ani „stěr z rány“ nestačí (jaká rána, kde lokalizována)
 - Katetrizovaná moč ✗ moč z permanentního katetru
 - uvést, **zda je požadováno např. anaerobní vyšetření**
 - **nepožadovat vyšetření, které nelze provést nebo nemá smysl** (např. serologické vyšetření TBC)

Průvodka 2 – co uvést

- **skutečnou diagnózu**, je-li více, napsat tu, která souvisí s vyšetřením, popř. všechny /např. (1) diabetes mellitus, (2) poševní výtok/
- **akutní / chronický stav / kontrola po léčbě**
- uvést stávající nebo uvažovanou **antibiotickou terapii**, případně i alergii na antibiotika

Průvodka 3 – co ještě uvést

- **cestovatelská anamnéza** – návrat z tropů
- **pracovní anamnéza** – práce v zemědělství aj.
- u **serologických vyšetření** datum prvních příznaků, první / druhý vzorek
- u **gynekologických materiálů** fázi menstruačního cyklu (a při menses raději neodebírat)
- v případě **mimořádných vzorků** se dohodnout, telefonicky

4 Rozhodnutí, jak zpracovat

- **Je dáno standardními operačními postupy (SOP).** Pro každý typ vzorku je dáno v SOP, jak má být vzorek zpracován a jaké metody na něj mají být aplikovány
- Ne vždy je ovšem vše dáno SOP. Zvláště ve vzácných a mimořádných případech je na **rozhodnutí zkušeného laboranta či VŠ mikrobiologa**, jak vzorek zpracovat
- V důležitých případech **není naprosto chybou zatelefonovat do laboratoře a domluvit se.**

5 Vlastní zpracování (1)

- **Vlastní zpracování zpravidla zajišťují laboranti**, dříve se SŠ vzděláním, nyní s VOŠ nebo Bc. stupněm vysoké školy

- **Postupuje se vždy přísně asepticky**, aby se omezilo riziko laboratorní kontaminace. Práce v biohazard boxu je zároveň i dobrou prevencí profesionálních nákaz



Foto: archiv MÚ

5 Vlastní zpracování (2)

Zpracování **bakteriologických kultivačních vzorků** obvykle zahrnuje následující

- před vlastním zpracováním se některé vzorky homogenizují, centrifugují či jinak **upravují**
- u některých typů vzorků **rychlé postupy** – mikroskopie, popř. přímý průkaz antigenu
- téměř vždy je základem **kultivace na několika pevných půdách** (KA + Endo + popř. další)
- někdy též **pomnožení v tekuté půdě** (v případě výtěrů ze spojivky **POUZE** tento bod)

- Zpracování **jiných vzorků** (serologie, PCR, mykologie, parazitologie) je speciální a je dána typem vyšetření a povahou vzorku

Laboratoř klinické bakteriologie



Laborant 2 „dělá opáčka“: u pozitivních vzorků připravuje testy citlivosti a testy bližšího určení mikroba

Mikrobiolog (VŠ) „odečítá laboratoř“ – prohlíží výsledky kultivací

Laborant 1 zapisuje výsledky

6 Zaslání výsledku

- Výsledek je zaslán poté, co je dokončen **diagnostický proces**. Někdy je poslán **předběžný výsledek („mezivýsledek“)** po ukončení aerobní kultivace s tím, že to, co trvá delší dobu (kultivace kvasinek, anaerobů apod.) bude případně zasláno dodatečně
- Výsledek **už v sobě zahrnuje kus interpretace**: mikrobiolog se vyjadřuje k evidentním kontaminacím, náhodným nálezům, běžné flóře, komentuje nález v poznámce

Zaslání výsledku – organizace

- zorganizovat tak, aby nedocházelo ke zbytečným prodlevám
- dnes zpravidla možnost využít zasílání vzorků elektronicky (v rámci zdravotnického zařízení i mezi zařízeními navzájem)
- lékař dohodne s mikrobiologem (nebo napíše na průvodku), zda má být zaslán až konečný výsledek nebo i mezivýsledek
- dohodnout, kam má být výsledek poslán, je-li při odběru známo, že bude pacient přeložen

7 Interpretace

- **Definitivní interpretace nálezu v rukou lékaře.** Pouze on, nikoli mikrobiolog, totiž drží v rukou vedle mikrobiologického nálezu také biochemický, rentgenový, ultrazvukový, a především zná pacienta – vypáčil z něj anamnézu, vyšetřil jej, popřípadě (u obvodních lékařů) jej zná dlouhodobě.
- Samozřejmě, **konzultace klinika a mikrobiologa je u závažných případů velice vhodná.** Na druhou stranu nelze konzultovat každý nálezu.

Interpretace – příklady

- Laboratoř odfiltruje evidentní kontaminace. To, že výsledek není označen jako kontaminace, ovšem ještě neznamena, že o ni nemůže jít.
- **Poznámka ke kvantitě** („ojediněle“, „masivně“) je užitečná, ale nesmí se ale přecenit
- **U vzorků z dutin normálně osídlených běžnou flórou** je nezbytné chápat ekosystém mikrobů jako celek, nemoc je často porušením rovnováhy mezi mikroby a léčba antibiotiky nemusí být nutná
- **Interpretace serologických vyšetření**
 - samotná přítomnost protilátek není zpravidla významná
 - důležitější je titr a jeho změny v čase
 - u moderních reakcí (ELISA) poměr IgM × IgG; na indexu positivity zase tolik nezáleží

Pozitivní výsledek – ale co znamená?

- Nalezený mikrob může být
 - skutečný patogen
 - součást běžné flóry – trvalé či přechodné
 - náhodný nález (např. z potravy u výtěrů z krku)
 - kontaminace
- Lékaři jsou rádi, když má „jejich laboratoř“ hodně pozitivních výsledků.
 - Mohou to ale být náhodné kontaminace, kolonizace apod.
 - Lepší je laboratoř, která nevydává za „nález patogena“ to, co patogenem s největší pravděpodobností není
 - Léčit neexistující infekci je chyba

Průběžná spolupráce mezi klinickým pracovištěm a laboratoří

- Nejde jen o domluvu o konkrétních vzorcích!
Spolupráce může mít nejrůznější formy
- od občasných konzultací až po součinnost při
výzkumné práci
- je oboustranně užitečná
- klinikovi pomáhá při rozhodování
- mikrobiologovi zase dává konkrétnější
představu o pacientech, jejichž vzorky mu
procházejí rukama.

Typy vzorků

Typy vzorků v klinické mikrobiologii

Tekuté a kusové vzorky představují odebrané tkáně, tělní tekutiny, tekutiny, kterými bylo vyplachováno, umělé materiály vyňaté z těla a podobně

Stěry a výtěry jsou odběry vatovým tamponem na špejli či drátku

Ostatní vzorky: otisky, urikulty, sklíčka apod.

Každý typ vzorku vyžaduje jiný přístup, jiné zpracování, jiné hodnocení výsledku.

Jak různé typy vzorků ovlivňují vyšetření

Vzorky typu výtěr ze spojivkového vaku. U zdravého člověka mikroby nejsou, i malá množství mohou být významná. Není vhodné nebo možné přímo očkovat na pevné půdy, proto se nejprve pomnoží v půdách tekutých

Vzorky typu rána. Opět u zdravého člověka mikroby nejsou, i malá množství mohou být významná, zároveň je však třeba rychle zachytit případná velká množství. Očkuje se zároveň na tekuté i pevné půdy, často různorodé pevné půdy.

Vzorky typu výtěr z krku. U zdravého člověka obsahují běžnou flóru. Pomnožení v tekuté půdě nemá smysl, dává se na různé pevné půdy.

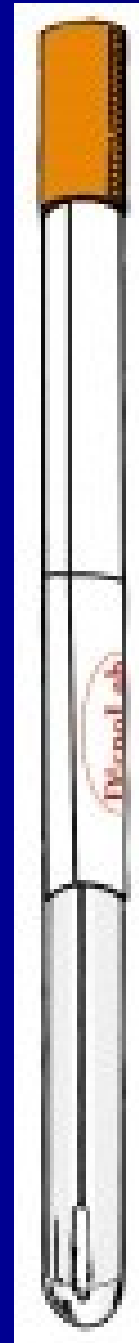
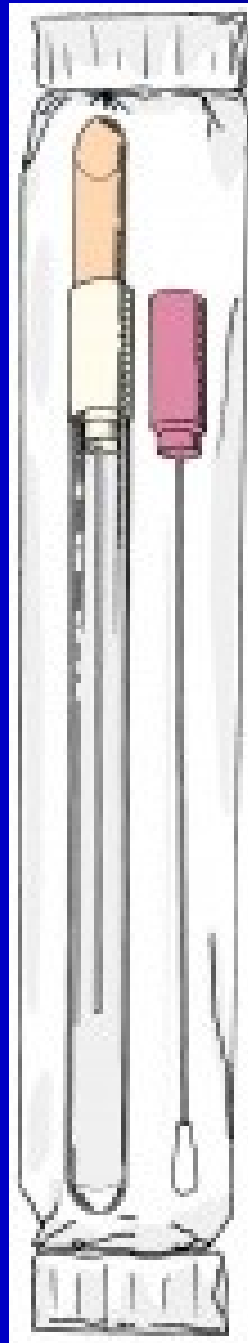
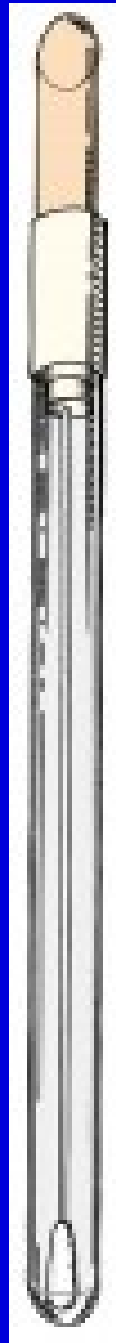
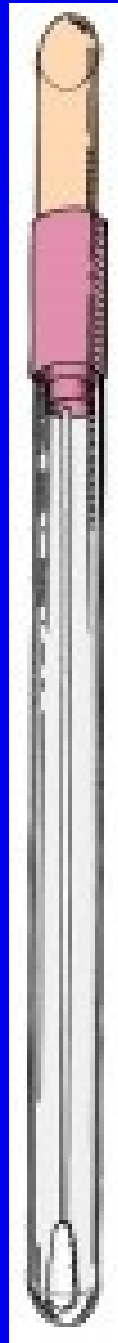
Výtěry a stěry



- Dnes již prakticky **neexistuje kultivační indikace suchého tamponu** bez transportního média. Tento tampon je indikován prakticky výhradně pro vyšetření metodou PCR a některé průkazy antigenů
- Používají se tedy **transportní média**. Na bakteriologii je to zpravidla médium Amiesovo (na obrázku)
- **Speciální média** vyžadují houby (Fungiquick), houby + trichomonády z genitálií (C. A. T.), viry, chlamydie
- Potřebují-li se dostat „za roh“, použijí **tampon na drátu a nikoli na špejli**.

Některé odběrové soustavy

- zleva:
 - CAT
 - FungiQuick
 - souprava
na
chlamydie
 - suchý
tampon
s drátem



Reprofoto z propagačních
materiálů dodavatele

Odběrové soupravy ještě jednou

Foto: O. Z.



Přehled „výtěrovek“

Suchý tampon na špejli:
průkaz antigenu a DNA

Suchý tampon na
drátku: totéž, potřebuji-li
se dostat na jinak
nedostupné místo

Tampon v Amiesu na
špejli: univerzální pro
bakteriologickou
kultivaci (vč. anaerobů,
kapavky, kampylobakt.)

Tampon v Amiesu na
drátku: totéž, potřebuji-li
se dostat na jinak
nedostupné místo

Fungiquick – houby

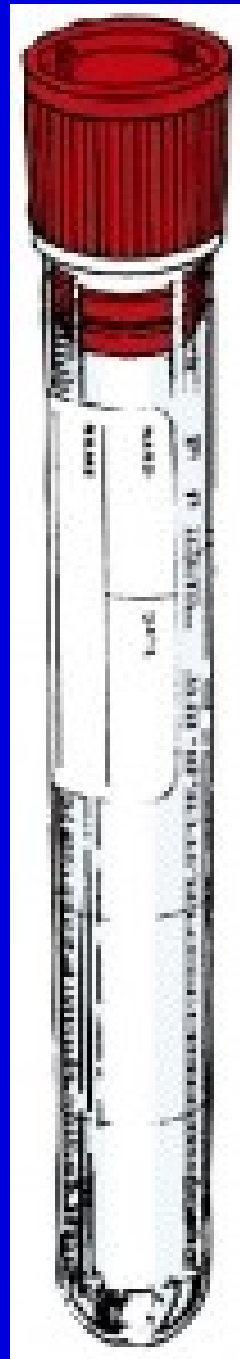
C. A. T. – houby a trichomonády (stěry z pohlaví)

Soupravy s médiem na viry, popř. chlamydie

Odběrové nádoby

- Odběrové nádoby se používají **na kusové a tekuté vzorky**. Na rozměrech fakticky příliš nezáleží, stejně tak barva uzávěru nemá samozřejmě reálný dopad. Má však někdy význam organizační – záleží na dohodě v rámci konkrétní laboratoře
- **U anaerobní kultivace je lépe zaslat přímo stříkačku s jehlou zabodnutou do sterilní gumové zátky**
- Vzorky se snažíme vždy **dopřít do laboratoře co nejdříve**, zásadní je to však u moče – do dvou hodin

- Vlevo klasická zkumavka, např. na sérum, vpravo nádobka na střevní parazity (nemusí být sterilní)



Příklady nádobek



Reprofoto z propagačních materiálů dodavatele

Co se například posílá, a jak rychle se to musí dopravit

- **Moč** – do dvou hodin, pokud nelze, nutno dát do ledničky (výjimka!!!)
- **Sérum (srážlivá krev)** – na čase tolik nezáleží, ani na teplotě (ale lépe nechat v ledničce)
- **Punktáty, exsudáty, různé podobné tekuté materiály** – co nejrychleji, ale není dán přímo časový limit. Nelze-li zpracovat hned, je lépe nechat při pokojové teplotě, ne do ledničky!
- **Odstřižené katétry** – vhodné zalít bujonem či fyziologickým roztokem, aby nevyschly. I zde je vhodné rychlé zaslání event. pokojová teplota.

Jiné typy odběrů než „výtěrovky“ a odběrové nádoby

- **nátěr na podložní sklíčko:** kapavka, aktinomykóza, přímo zasláná tlustá a tenká kapka apod.
- **v kožním lékařství otisky** přímo na kultivační půdu, která je pro tento účel nalita až po okraj Petriho misky
- **urikult** – zvláštní způsob zasílání moče na půdu; z různých důvodů se příliš neujalo.
- **rychlé diagnostické soupravy**, většinou založené na přímém průkazu antigenu; jednoduchá manipulace, dostupná i pro nemikrobiologický personál. Při pochybách o výsledku použít klasické zaslání do laboratoře.

Diagnostika
infekcí v oblasti
pohlavních
orgánů

Odběry z genitálií

- Ke kultivaci se používá transportně kultivační **souprava C. A. T.** (kvasinky a trichomonády) a **Amies** (bakterie včetně gardnerel, mykoplasmát a anaerobů). Z CATu se provádí mikroskopie ve formě nativního preparátu
- Doporučuje se také poslat **sklíčko nebo dvě sklíčka** (podle situace) na barvení. Klasické zaslání dvou sklíček je MOP – mikrobiální obraz poševní
- V případě průkazu kapavky, syfilis, chlamydií, papilomavirů se užívají zvláštní postupy

Odečítání kultivací z pohlavních orgánů

- Den 0 – odběr a zaslání vzorku, případná mikroskopie zaslání sklíčka
- Den 1 – odečet KA, EA, popř. ČA + GC (kapavka)
- Den 1 – 2 – odečet C. A. T. (trichomonády)
- Den 2 – odečet NaCl, gardnerel, anaerobní kultivace, popř. ČA + GC (definitivně)
- Den 1, 2, 3, 4 – odečet kultivace kvasinek
- Den 6 – odečet kultivace mykoplasm

MOP – mikrobiální obraz poševní

- Posílají se **dvě sklíčka**. Jedno se obarví dle Grama, druhé dle Giemsy (hlavně kvůli trichomonádám)
- Hodnotí se jednak **kvantita jednotlivých útvarů**, jednak **celkový vzhled** preparátu. Dosud se používá dělení na šest typů, ale postupně se přehodnocuje
 - MOP I – tzv. normální obraz zdravé ženy
 - MOP II – bakteriální nehnisavý (i fyziologický)
 - MOP III – bakteriální hnisavý
 - MOP IV – kapavka
 - MOP V – trichomonóza
 - MOP VI – kvasinková infekce

MOP I (Giemsa)

<http://en.microdigitalworld.ru>

Lactobacillus vaginalis - 1
epithelial cell - 2

x500



Hemokultury – odběr krve

V gynekologii a porodnictví se také vyskytují, například u puerperální sepse

- Jedná se o **nesrážlivou krev**, principiálně zcela odlišné vyšetření než vyšetření serologická
- Dnes zpravidla odběr do **speciálních lahviček** pro automatickou kultivaci
- Nutno odebrat **dvě, ale ještě lépe tři hemokultury** při vzestupu teploty
- Ideálně **pokaždé z nového vpichu**, nebo aspoň jedna venepunkce + centrální žíla + periferní žíla (odlišení bakteriémie od kolonizace vstupu)

Odběry u hnisavých infekcí a infekcí ran

- V diagnostice hnisavých infekcí má vždy **větší význam tekutý materiál** (hnis) než pouhý výtěr z hnisavého ložiska
- U podezření na **anaerobních infekci** je nutno zajistit přežití anaerobů (viz dále)
- Je nezbytné pečlivě **vyplnit průvodku**, nestačí „stěr z rány“, ale specifikovat původ rány i její lokalizaci na těle
- Také důležité **anamnestické údaje** (návrat ze zahraničí, práce v zemědělství) je užitečné na průvodku uvést

Závěr

- Jak je vidět, u různých typů infekcí se posílají různé vzorky, a jsou tu různé požadavky na průvodky
- Nemůžeme chtít po klinických lékařích ani po zdravotnických sestrách, aby se ve všem neomylně vyznali. **Mikrobiologové i laboranti v mikrobiologických laboratořích jsou povinni být nápomocni, posloužit spíše dobrou radou než nadáváním „zase jste to odebrali blbě“.**

Nashledanou příště!

www.medmicro.info

