

Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky



Mikrobiologie a imunologie
BSKM021p + c + BZMI021p + c
Téma 1A (pro PA a ZACH)
Ondřej Zahradníček

Obsah prezentace

Proces vyšetření vzorku

Typy vzorků

Vzorky v gynekologické oblasti (pro PA)

Proces vyšetřování vzorku

Proces vyšetření v laboratoři klinické mikrobiologie

- Praktickou podobou klinické mikrobiologie je **vyšetření v laboratoři klinické mikrobiologie**. Spousta zdravotníků má pocit že je to jen „záležitost laboratoře“. Ve skutečnosti velmi důležité jsou i ty části procesu, které probíhají u lůžka pacienta: na začátku odběr, transport, a na konci interpretace výsledku
- Špatně provedený odběr či transport materiálu
 - zbytečné **trápení pacienta**
 - zbytečně **vyhozené prostředky** na vyšetření

Proces mikrobiologického vyšetřování – na všem záleží!!!

PACIENT/LÉKAŘ

LABORATOŘ

Má vyšetření smysl? Jaké?

Jak vzorek odebrat?

Jak vzorek poslat?

Jak vzorek zpracovat?

Jak provést vlastní diagnostiku?

Jak vzorek zaslat?

Jak výsledek vyhodnotit mezi ostatními výsledky pacienta?
Léčit vždy pacienta, ne nález

1A Má smysl provést vyšetření?

- Ten, kdo tzv. indikuje vyšetření (= rozhoduje o jeho provedení), tedy v současnosti zpravidla lékař, by se měl sám sebe zeptat: „**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**
- Z tohoto pravidla jsou některé výjimky:
 - Pacienti v těžkém stavu, kde se dlouhodobě hlídá jejich osídlení
 - Výsledek nemá význam pro pacienta, ale například pro orgány veřejného zdraví apod.

1A Vyšetření provedeme. Ale jaké?

- Když se rozhodneme vyšetřovat, není to ještě konec. Musíme se ještě rozmyslet, **jaké vyšetření vybereme.**
- Jde hlavně o rozhodnutí, jestli zvolit přímý průkaz (mikroskopický, kultivační) nebo nepřímý (hledáme protilátky), ale i rozhodování typu „moč, nebo výtěr z močové trubice?“
- 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 – **odebíráme už s ohledem na to, jak bude vzorek cestovat** do laboratoře
- V případě **mimořádných vzorků** se dohodnout telefonicky (lépe volat předem, než aby musel mikrobiolog volat zpátky, že bylo špatně odebráno)
- Jednotlivé typy vzorků budou probrány dále
- **Zároveň s odběrem vzorku je nutno vyplnit žádanku o vyšetření („průvodku“)** – i správné vyplnění žádanky je velmi důležité

Žádanka o vyšetření („průvodka“)

- **Správně vyplněná průvodka** je základ dobré diagnostiky – je vodítkem, jaké vyšetření se má provést a jak
- **Průvodka není jen úřední dokument.** Osoby vyplňující průvodku 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 (je potřeba uvést typ rány a kde se na těle nachází)
 - Pokud má pacient permanentní močový katetr (PMK, cévku) a moč je odebrána z něj, je to potřeba uvést („moč z PMK“)
 - uvést, **zda je požadováno nějaké speciální vyšetření (na kvasinky, na anaerobní bakterie apod.)**

Průvodka 2 – co uvést

- **skutečnou diagnózu**, je-li diagnóz více, napsat tu, která souvisí s vyšetřením, popř. všechny (např. (1) cukrovka, (2) poševní výtok)
- **akutní / chronický stav / kontrola po léčbě**
- uvést stávající nebo uvažovanou **antibiotickou terapii**, případně i alergii na antibiotika
- **pobyt v exotické cizině** – v které zemi
- **pracovní anamnéza** – práce v zemědělství aj.
- u **gynekologických materiálů** fázi menstruačního cyklu (+ někdy je lepší počkat s vyšetřením až po skončení menstruace)

4 Rozhodnutí, jak vzorek zpracovat

- Tato část již probíhá v laboratoři. Rozhodnutí je v zásadě dáno tzv. **standardními operačními postupy (SOP)**. Pro každý typ vzorku je stanoven určitý postup. To ale neznamená, že by nebyla nutná zkušenost: **zkušený laborant** musí často rozhodnout, do které kategorie vzorků spadá ten který „hraniční vzorek“
- Důležitá je opět **komunikace** mezi laboratoří a klinickým pracovištěm (upřesnění toho, co není jasné z žádanky apod.)

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 tzv. *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, odstřeďují 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

„Odečítání“ bakteriologie



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

- Zaslání je nutno zorganizovat tak, **aby nedocházelo ke zbytečným prodlevám.**
- Dnes je 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 („jak rozumět výsledku“)

- **Definitivní interpretaci nálezu většinou dělá ošetřující lékař.** 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 nález.

Interpretace – příklady

- Laboratoř **odfiltruje evidentní kontaminace**. To jsou mikroby, které určitě nejsou v těle nemocného a do vzorku se musely nějak „připlést“.
- **Poznámka k množství** („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. Posílají se ve sterilní zkumavce.

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.

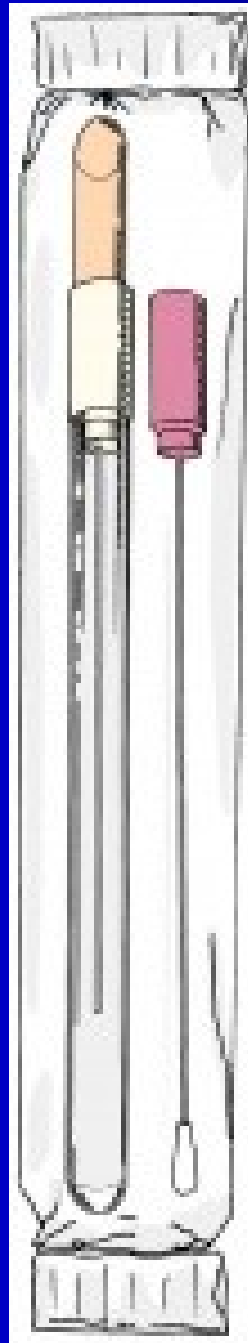
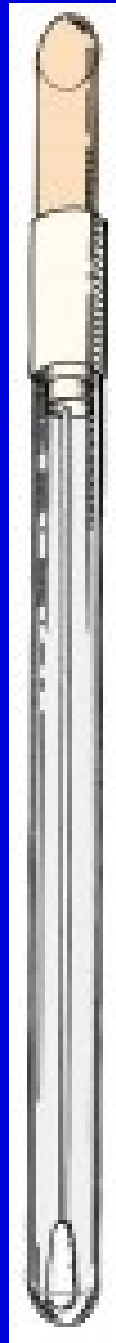
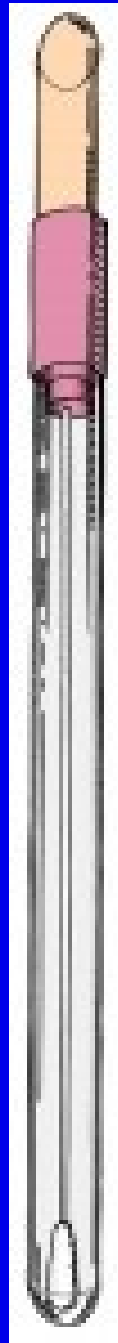
Výtěry a stěry



- 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
- Potřebuji-li se dostat „za roh“, použiji **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

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

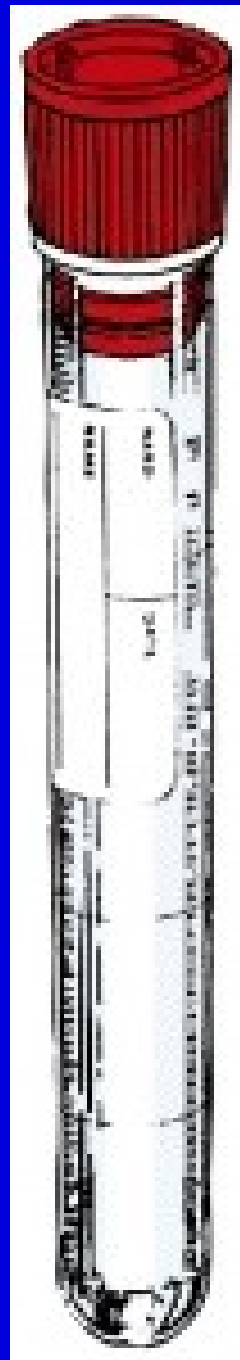
C. A. T. – houby a trichomonády (stěry z pohlaví)

Soupravy s médiem na viry, popř. chlamydie

Odběrové nádoby

- Odběrové nádoby se používají **na kusové a tekuté vzorky**. Musí být vždy **sterilní**. 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 uzavřenou speciální zátkou**
- 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 (ta jediná má výjimku: nemusí být sterilní)



Příklady nádobek

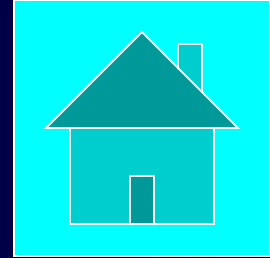


Reprofoto z propagačních materiálů dodavatele

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** – i zde je vhodné rychlé zaslání, případně 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



Konec prezentace



www.medmicro.info

