

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

Laboratorní vyšetření: proč ho vlastně provádíme?

Laboratorní vyšetření je **proces**. Jeho cílem je **získat informaci, použitelnou pro léčení pacienta** (buď bezprostředně nyní, nebo v budoucnu), případně pro ochranu populace (zjištění, zda má významnou chorobu)

Proces **začíná** v okamžiku, kdy se někdo rozhodne vyšetření provést.

Proces **končí** v okamžiku, kdy někdo (dost často tentýž člověk) vyhodnotí výsledek v kontextu ostatních informací a využije ho pro zacházení s pacientem

Proces laboratorního vyšetřování

PACIENT/LÉKAŘ/
SESTRA

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Vlastní provedení odběru

Transport materiálu

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Interpretace výsledku (nikdy
jednotlivě, vždy společně
s ostatními výsledky)

Při provedení odběru v laboratoři

PACIENT/LÉKAŘ/
SESTRA

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Odeslání pacienta k odběru

Vlastní provedení odběru

Transport v rámci laboratoře

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Interpretace výsledku (nikdy
jednotlivě, vždy společně
s ostatními výsledky)

Proč na odběru tolik záleží

- Odběr a transport vzorku je na začátku celého vyšetřovacího procesu. To znamená, že **je-li odběr špatný, je špatná celá další diagnostika**
- Špatně provedený odběr či transport materiálu
 - zbytečné **trápení pacienta**
 - zbytečně **vyhozené prostředky** na vyšetření
 - riziko **chybného výsledku**, který vede léčbu pacienta nesprávným směrem (často k dalším nákladům, např. při zbytečné léčbě antibiotiky)

Odběr s ohledem na vyšetření

- Odběr samozřejmě není oddělená část celého procesu. **To, co a jak se má odebrat, závisí na tom, co bylo požadováno**, a zároveň také na tom, co a jak bude vyšetřeno
- I v případě odběru stejného materiálu (třeba krve či moče) mohou platit **různá pravidla podle toho, co se se vzorkem bude dále dít**

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.

1B 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, odstředí či jinak **upravují**
- u některých typů vzorků **rychlé postupy** – mikroskopie, popř. přímý průkaz antigenu
- téměř vždy je základem **kultivace na několika pevných půdách** (bližší vysvětlení v kapitole o diagnostice)
- 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 prodávám.**
- 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 nálezu.

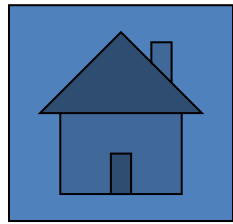
Interpretace – příklady

- Laboratoř **odfiltruje evidentní kontaminace**. To jsou mikroby, které určitě nejsou v těle nemocného a do vzorku se musely nějak „příplést“.
- **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 nálezn (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 „nálezn 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, tzv. urikulty, sklíčka apod.

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

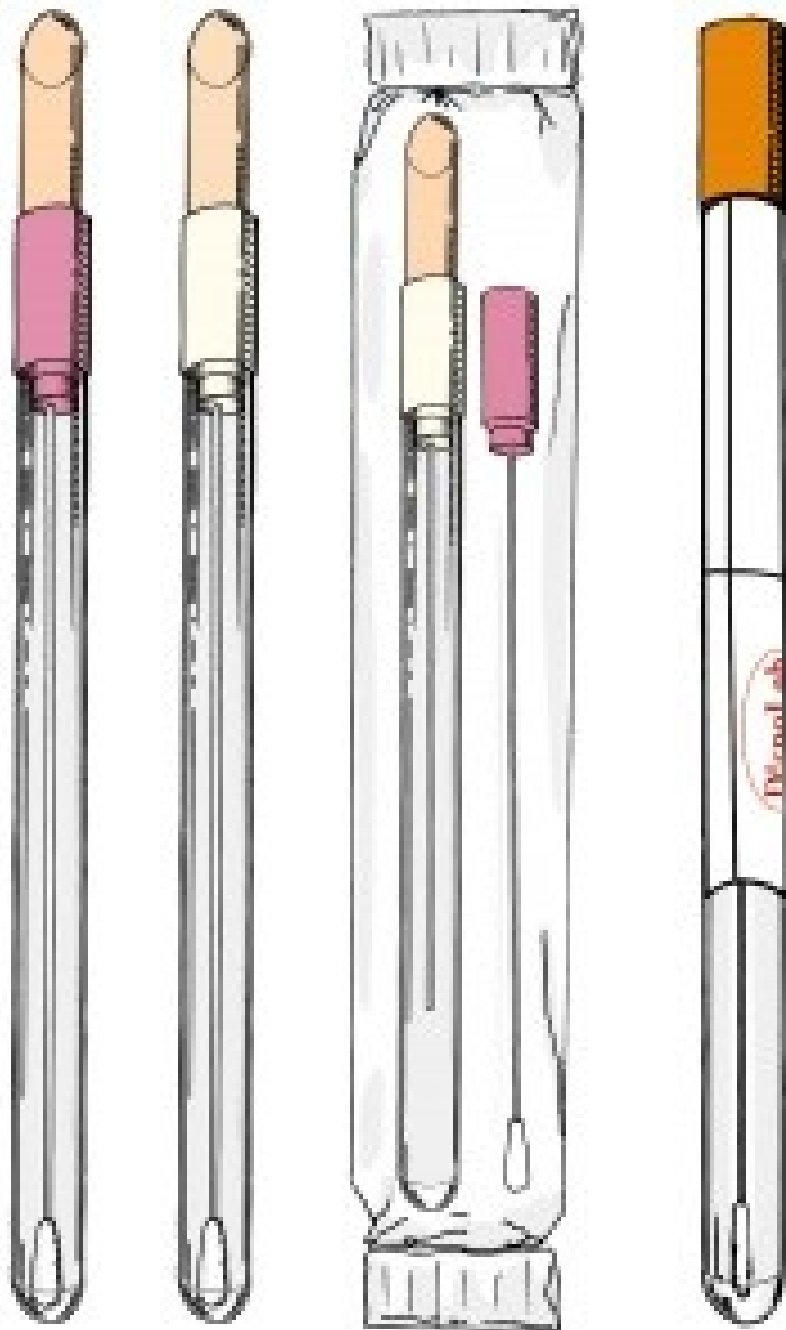
Výtěry a stěry



- Dnes již prakticky **neexistuje kultivační indikace suchého tamponu** bez transportního média. Tento tampon je indikován praktický 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 soupravy

- 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

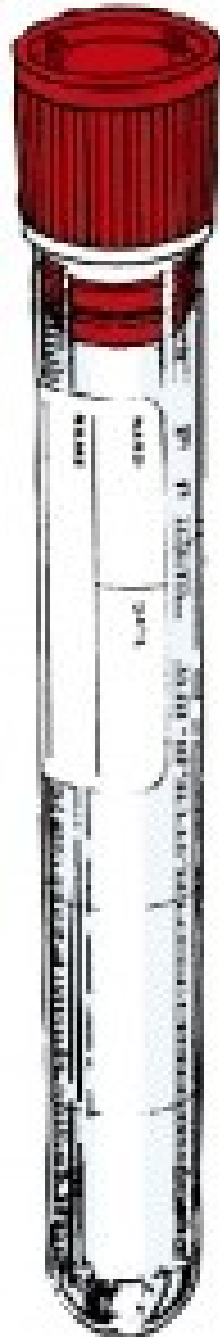
C. A. T. – houby a trichomonády (stěry z pohlaví)

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

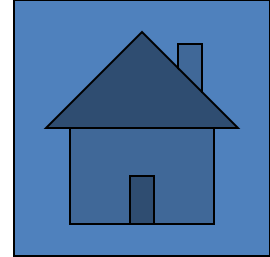


Reprofoto z propagačních materiálů dodavatele

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 nádobky



- **nátěr na podložní sklíčko:** kapavka, aktinomykóza, přímo zaslaná 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, mykolplasmát 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 zasláního 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 mykoplasmat

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

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“.**

Konec prezentace

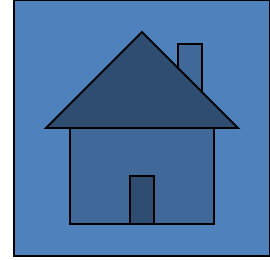


Foto: Archiv MÚ

