

Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky



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

Proces laboratorního vyšetřování

PACIENT/LÉKAŘ/
SESTRA

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Vlastní provedení odběru

preanalytická fáze

Transport materiálu

vlastní analýza

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

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

postanalytická fáze

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 v některých výjimečných případech** (má pacient X skutečně pravou chřipku? Jestli ano, bude léčen stejně, ale pomůže to upravit strategii očkování. Je pacient Y osídlen určitým mikroblem? Zatím s tím nic nebudeme dělat, ale při infekci už odhadneme vhodnou léčbu – řadu infekcí způsobují mikroby, které tělo už dříve osídlily)

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**

Žádanka o vyšetření („průvodka“) 1

- **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.**

Žádanka o vyšetření („průvodka“) 2

- Dnes je často elektronická, ale i u té je potřeba správně vybrat z nabídky. Na řadě míst (hlavně u soukromých lékařů) se stále používá klasická žádanka – je důležité ji správně vyplnit!
- **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 **x** moč z permanentního katetru
 - uvést, **zda je požadováno např. anaerobní vyšetření**
 - **nepožadovat vyšetření, které nelze provést nebo nemá smysl** (např. serologické vyšetření TBC)

Co dále 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

Ještě další důležité údaje

- **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



5 Vlastní zpracování (2)

Zpracování **běžných bakteriologických vzorků** obvykle zahrnuje, to že se

- některé vzorky **upraví** (rozmělní, rozbijí, centrifugují...)
- u některých vzorků se provedou **rychlé přímé postupy** – například se mikroskopují nebo se přímo v nich hledá nějaká složka mikroba (antigen, nukleová kyselina)
- skoro vždycky se **pěstují na pevných půdách** (více jindy)
- někdy se také **pomnoží v tekuté půdě** (a případně pak znovu zkoušejí pěstovat na pevných půdách)

- Zpracování **jiných vzorků** (serologie, 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 základní 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 ruce lékaře.**
Pouze on, nikoli mikrobiolog, totiž drží v ruce 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, 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 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

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.

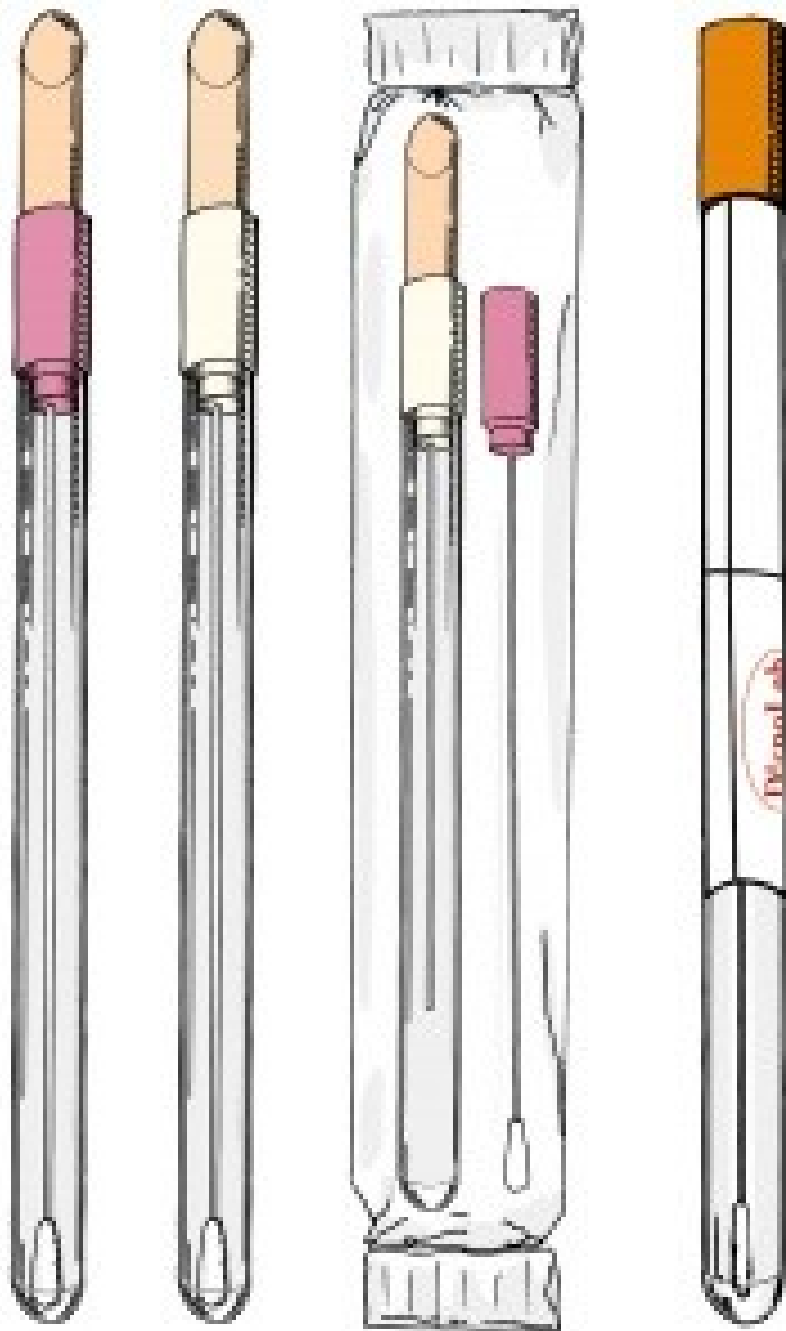
Výtěry a stěry



- *(Někdy se zbytečně rozlišuje mezi výtěrem a stěrem.)*
- **Suchý tampon** (bez transportního média) je nepoužívá při kultivaci, ale jen při vyšetření metodou PCR nebo průkazem antigenů (někdy)
- **Tampon obsahující transportní médium** se používá pro kultivaci, 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 soupravy

- 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

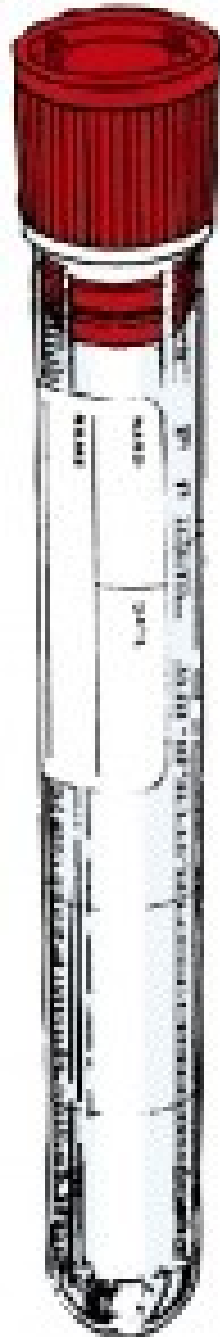
C. A. T. – houby a trichomonády (stěry z pohlaví)

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
- **Pokud chceme ze vzorku vypěstovat i bakterie nesnášející kyslík, je lépe zaslat přímo stříkačku se speciálním uzávěrem**
- 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)
- **Většinu ostatních materiálů** je lépe nechat při pokojové teplotě. Čas nehraje tak velkou roli, ale doporučuje se, aby byly doručeny do laboratoře nejpozději do 24 hodin

Jiné typy odběrů než „výtěrovky“ a odběrové nádoby

- **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; v chirurgii jiný typ otisků – do rány se otiskne sterilní filtrační papír a pak se přenese na Petriho misku
- **urikult** – zvláštní způsob zasílání moče na půdu; z různých důvodů se příliš neujalo.

V případě použití rychlé diagnostické soupravy, většinou založené na přímém průkazu antigenu se nejen odběr, ale i celá analýza provede přímo u pacienta. Je potřeba dbát na to, aby souprava nebyla prošlá, byla správně uskladněna a aby výsledek byl vhodně interpretován. Laboratoř může pomoci.

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

Významné jsou v akutní péči o pacienta se sepsí

- 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**
- Samozřejmě nikdo nechce po sestrách, natož po porodních asistentkách a záchranářích, aby přesně znali všechny náležitosti odběru a vypsání průvodky.
- **Je ale potřeba nebát se zavolat do laboratoře a zeptat se – je to vždycky lepší, než špatně provedený odběr**

Nashledanou příště!

