# Téma 13 Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky, proces vyšetření

## 13.1 Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu

Při odběru a transportu infekčního materiálu je potřeba dbát určitých pravidel, aby vyšetření mělo co největší smysl. Špatně provedený odběr či transport materiálu představuje zbytečné trápení pacienta a zbytečně vyhozené prostředky na vyšetření. Proto je nutno nepodceňovat tuto problematiku.

### 13.1.1 Indikace mikrobiologického vyšetření.

Často se provádí mikrobiologické vyšetření zbytečně, a naopak, že se neprovede tam, kde by bylo účelné. Při úvaze o mikrobiologickém vyšetření (stejně jako třeba vyšetření biochemickém) by se měl lékař zamyslet nad tím, jak bude postupovat v případě různých výsledků vyšetření. Dojde-li k závěru, že bez ohledu na výsledek bude léčit pacienta stejným způsobem, je vyšetření pravděpodobně zbytečné. Výjimky ale existují:

1. u pacientů v těžkém stavu je zpravidla nutný **dlouhodobý screening osídlení pacienta**, protože kolonizující bakterie mohou být do budoucna zdrojem infekce
2. vedle indikací ze strany pacienta existují také **indikace ze strany populace**, to jest indikace epidemiologické. Příkladem je průkaz viru chřipky (přímý či nepřímý). Pro léčbu daného pacienta je jeho význam pochybný, zato je cílem je příprava co nejkvalitnější vakcíny pro další rok; jinak řečeno, i tady jde nakonec o zdraví lidí.

V  některých případech si musí klinik ujasnit nejen **zda** se rozhodne pro vyšetření, ale také **pro jaké konkrétní vyšetření**. To se týká hlavně serologických a virologických vyšetření (protilátky proti kterému mikrobovi?), ale často také bakteriologických vyšetření (například požadavek anaerobní kultivace, vyšetření na TBC, popřípadě současného vyšetření bakteriologického a mykologického).

### 13.1.2 Odběr vzorku

Problém má několik částí:

#### 13.1.2.1 Volba vhodného vzorku

Příklady:

* u infekcí DCD není vhodný výtěr z krku, daleko lepší je vzorek sputa (ne sliny)
* nevhodný je roztok borové vody u výplachu dutin, neumožňuje přežití patogenů

#### 13.1.2.2 Správné načasování:

* odebrat vzorek před zahájením antibiotické léčby
* u serologických vyšetření je nutno provést nejméně dva odběry, druhý za dva až tři týdny
* u některých parazitóz je vhodné načasování prodiskutovat s mikrobiologem

#### 13.1.2.3 Správné provedení odběru

Tady bývá často zakopaný pes neúspěchu vyšetření – například

* jestliže se odebere moč nesterilně, zachytí se místo patogenů kontaminanta
* jestliže je odebrán výtěr z kořene jazyka namísto z  tonzil, je výsledek značně zkreslený.

#### 13.1.2.4 Použití správné odběrové soupravy

Je podrobně popsáno ve zvláštní kapitole

**Nelze omlouvat vzorek odebraný non lege artis snahou "šetřit pacienta", protože nesprávný odběr může často znamenat nesprávný výsledek, tím i nesprávné léčení a mnohem větší zlo pro pacienta než důkladné provedení odběru.**

### 13.1.3 Vyplnění žádanky o vyšetření.

Správné vyplnění žádanky o vyšetření (někdy také „průvodky“) je uvedeno ve zvláštní kapitole.

### 13.1.4 Zaslání materiálu do laboratoře

* materiál je vždy třeba dopravit do laboratoře **co nejdříve**
* **u močí** ještě více než u ostatních – nutno do dvou hodin, jinak hrozí pomnožení kontaminant
* nelze-li materiál dodat ihned, uchovat s tím, že citlivé mikroby nemusí být zachyceny
* když už se materiál uchovává, je zpravidla **je lepší nechat vzorek při pokojové teplotě** na místě chráněném před sluncem, než uchovávat jej v chladničce; důvodem je tepelný šok, který může citlivější organismy postihnout. Výjimkou je moč, která se má uchovat v ledničce (pomnožení kontaminujících mikrobů je „větší zlo“ než riziko uhynutí patogenů)
* v některých případech je nutná speciální teplota (okolo 0 °C v případě požadavku na izolaci virů)

### 13.1.5 Vlastní zpracování materiálu v laboratoři

I tuto fázi může klinické pracoviště ovlivnit, např.:

* dohodnout s mikrobiologem některé **detaily zpracování**
* telefonicky zjistit **předběžné výsledky vyšetření** (celé vyšetření trvá v případě bakteriologie zpravidla dva až sedm dní, předběžný výsledek ovšem může být k dispozici už za 24 h, výsledek mikroskopie i za několik desítek minut)

### 13.1.6 Zaslání výsledku

* zorganizovat tak, aby **nedocházelo ke zbytečným prodlevám**
* dnes zpravidla možnost využít **zasílání vzorků elektronicky** (v rámci zdravotnického zařízení i mezi zařízeními navzájem)
* dohodnout s mikrobiologem, 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, nebo je-li odběr na operačním sále; nejde tu jen o zaslání výsledku, ale např. i kam má mikrobiolog zavolat při nutnosti upřesnění apod.

### 13.1.7 Interpretace výsledku a použití při terapii

* laboratoř zpravidla odfiltruje zcela **evidentní kontaminanty** z  prostředí a náhodné nálezy
* v méně jednoznačných případech ovšem v každém případě **konečné rozhodnutí leží na klinickém pracovišti**
* vodítkem může být **poznámka ke kvantitě** („ojediněle“, „masivně“), 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 zejména jeho dynamika.

Obecně je třeba upozornit, že **není nejlepší laboratoř, která má hodně pozitivních nálezů**, ale taková laboratoř, která dokáže odlišit skutečnou pozitivitu od náhodné kontaminace. Léčit neexistující infekci je totiž jen o málo menší chyba než neléčit infekci existující, a to z  mnoha důvodů, narušením přirozené mikroflóry pacienta počínaje a zvyšováním rezistence mezi populací mikroorganismů konče.

### 13.1.8 Průběžná spolupráce mezi klinickým pracovištěm a laboratoří

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.

## 13.2 Přehled základních odběrových souprav a nádobek

Pro **nepřímý průkaz** používáme prakticky vždy zkumavku na sérum, neboť vzorkem je v tomto případě vždy srážlivá krev.

Pro **přímý průkaz** naopak můžeme použít nejrůznější typy odběrů. Zpravidla se jedná buďto o různé typy odběrových souprav („výtěrovek“) pro výtěry a stěry, nebo o různé nádobky, ve kterých se posílají tekuté a kusové materiály (moč, hnis, exsudát, mozkomíšní mok apod.)

Přednost má zpravidla zaslání tekutého/kusového materiálu před pouhým zasláním stěru/výtěru. Existují ale i četné výjimky: v bakteriologii se zpravidla používá výtěr z řitního kanálu namísto kusové stolice (i když zaslání kusové stolice v zásadě není chyba), stěr z urethry je u kapavky doporučován spíše než zaslání vzorku moče, apod.

### 13.2.1 Zásady pro použití odběrových souprav („výtěrovek“)

(v případě výtěrů a stěrů)

* **suchý tampon je zpravidla nevhodný**, s výjimkou PCR a některých průkazů virových (případně chlamydiových) antigenů
* používá se **transportních půd**, univerzální (pro bakteriologii) je půda Amiesova.
* pro **mykologii** se doporučuje souprava FungiQuick, zvláštní soupravy se používají také u **izolace virů a chlamydií**
* u **poševních a urethrálních výtěrů** je nejlepší kombinace Amies + C. A. T., kde Amies je na bakterie a C. A. T. na kvasinky a trichomonády

### 13.2.2 Zásady pro použití odběrových nádobek

(v případě tekutých a kusových materiálů)

* ve většině případů **nezáleží na typu nádobky**, ale jen na tom, aby nádobka byla sterilní
* je ovšem nutno respektovat požadavek případný požadavek na označení z důvodu usnadnění třídění vzorků
* nesterilní nádobky jsou přípustné jen u parazitologického vyšetření stolice
* u materiálů, kde je nutné též **anaerobní vyšetření**, je ideální zaslání **přímo v injekční stříkačce bez vzduchu** s jehlou nahrazenou speciálním uzávěrem
* u **hemokultur** se dnes používají speciální transportně-kultivační lahvičky pro automatickou kultivaci; lze je použít i pro některá další vyšetření
* u **dermatomykóz** se zasílají nehty, vlasy, šupiny a podobně
* u **izolace virů** nutno nádobku vložit do systému udržujícího teplotu kolem 0 °C

### 13.2.3 Jednotlivé typy odběrových souprav a nádobek

**Souprava s bakteriologickou transportní půdou (nejčastěji Amiesovou)** je základem všeho. Hodí se prakticky k jakémukoli bakteriologickému kultivačnímu vyšetření, nemáme-li k dispozici tekutý či kusový vzorek. Nejběžnější použití: výtěry z krku, nosu, ústní dutiny, ucha, spojivkového vaku, vaginy, děložního čípku, ústí urethry, předkožkového vaku, řitního kanálu, stěry z kůže, různých typů ran, dekubitů, vředů, abscesů a jiných afekcí.

**Suchý tampon** jen výjimečně: PCR nebo některé průkazy antigenu, kde nepotřebujeme živého patogena, ale jen jeho antigen či DNA, a transportní půda by byla spíše na škodu.

**FungiQuick** je souprava na vyšetření kvasinek. Většinou ale kvasinky vyrostou i z Amiesovy půdy.

**Soupravy pro viry a pro chlamydie** se používají výjimečně (jen pro izolaci agens), u virů a chlamydií totiž výrazně převažuje nepřímý průkaz (zasílání séra) anebo když už přímý průkaz, tak přímá detekce antigenu nebo nukleové kyseliny

**C. A. T.** je souprava pouze pro gynekologické (popř. andrologické) vyšetření. Transportní půda je zároveň i půdou kultivační. Slouží jen k průkazu kvasinek a trichomonád, pro bakterie se nehodí, proto je zpravidla potřeba poslat kromě C. A. T. i klasický Amies. Souprava je zajímavá tím, že slouží nejen k transportu, ale i ke kultivaci. Po kultivaci přes noc se tekutina prohlíží mikroskopicky jako nativní preparát. Hledají se především trichomonády, ale i kvasinky a jiné mikroby, epitelie, leukocyty, popřípadě spermie.

**Zkumavky** mohou mít různé rozměry a označení uzávěrů. Širší samostojací zkumavce říkáme **sputovka,** ale zdaleka nemusí sloužit jen k zaslání sputa.

**Hemokultivační nádobka** dnes obsahuje nejen protisrážlivou látku, ale i transportně-kultivační médium. Slouží pro automatickou kultivaci krví. Existují různé typy – pro aerobní či anaerobní kultivaci, některé typy obsahují aktivní uhlí k adsorpci látek toxických pro bakterie. Důležité je zbytečně nekombinovat více typů nádobek. Anaerobní nádobky mají být používány pouze je-li k tomu zvláštní důvod.

Je potřeba rozlišovat mezi odběrem krve na serologii (srážlivá krev, nepřímý průkaz nebo průkaz některých antigenů, např. HBsAg) a odběrem krve na hemokultivaci (nesrážlivá krev, kultivační průkaz živých bakterií a kvasinek).

Odběrové nádobky podobné hemokultivačním, rovněž sloužící pro automatickou kultivaci, se používají také u **vyšetření na tuberkulózu**.

### 13.2.4 Jiné typy odběrů než „výtěrovky“ a odběrové nádobky

V některých případech se doporučuje přímo v ordinaci **nátěr na podložní sklíčko** a to poslat. Týká se to zejména případů, kdy je obava, že by patogen nemusel být kultivačně zachycen, takže je užitečné, je-li spatřen alespoň v mikroskopu. Například **u kapavky** je bohužel velké riziko, že případný patogen navzdory veškeré snaze nepřežije transport. Kultivace nemusí být úspěšná ani **u aktinomykosy**. – Další zpracování (fixace, barvení) sklíčka si už provede laboratoř.

V kožním lékařství se používají **otisky přímo na kultivační půdu**, která je pro tento účel nalita až po okraj Petriho misky (zpravidla se používá menších Petriho misek).

**Urikult** je zvláštním způsobem zasílání moče. Moč se přímo na klinickém pracovišti nalije do nádobky s pevnou kultivační půdou a zase vylije. Neposílá se tedy už moč, ale rovnou kultivační půda. Vyšetření má zkrátit dobu mezi vymočením pacienta a nasazením na půdu prakticky na nulu. V některých regionech se používá zřídka, jinde naopak často. Viz též Kapitola 8.

### 13.2.4 Rychlé diagnostické soupravy

**Rychlé diagnostické soupravy k použití přímo v ordinaci**, na rozdíl od všeho dosud uvedeného, znamenají, že odběr je přímo spojen se zpracováním a vyhodnocením a vše probíhá přímo v ordinaci. Odběr v tomto případě může být speciální a je potřeba se řídit návodem k výrobku.

Tyto soupravy mohou značně urychlit proces nalezení vhodné léčby. Jsou většinou založeny na přímém průkazu antigenu (často imunochromatografickém, tj. na stejném principu jako například těhotenský test).

Vyráběny jsou tak, aby s nimi byla jednoduchá manipulace, dostupná i pro nemikrobiologický personál. Znamená to ovšem zpravidla menší citlivost a vyšší cenu. Při pochybách o výsledku je v každém případě na místě použít klasické zaslání do laboratoře.

## 13.3 Správně vyplněná žádanka o vyšetření a její význam

Správně vyplněná průvodka (neboli **žádanka o vyšetření**) je podceňovanou, ale neobyčejně důležitou součástí vyšetření. Není-li materiál správně označen, dochází k nedorozumění, není vyšetřeno vše, co má být, nebo je naopak něco vyšetřeno zbytečně. Mikrobiolog nemyslí na tropické patogeny, není-li na průvodce uvedeno příslušné upozornění.

Průvodka má především tyto významy:

* **Ekonomický** – plátce vyšetření (zdravotní pojišťovna, u samoplátců sám pacient) odmítne proplatit vyšetření, pokud žádanka není správně vyplněna
* **Právní** – může nabýt na významu, pokud pacient například podá stížnost na postup, pak je potřeba, aby byla v pořádku veškerá dokumentace včetně žádanek
* **Medicínský** – žádanka obsahuje údaje nezbytné pro správné vyhodnocení, jak má být vzorek zpracován. Medicínský význam je důležitý právě u mikrobiologických žádanek (více než například u biochemických), protože v uzlových bodech vyšetřovacího algoritmu se mikrobiolog rozhoduje nejen podle již zjištěných nálezů, ale právě i podle údajů na žádance.

### 13.3.1 Osobní údaje

Precizní vyplnění **osobních údajů** (jméno, číslo pojištěnce, číslo odesílajícího zařízení, pojišťovna aj.) je velmi důležité. V případě chyb může dojít nejen ke zpoždění platby za vyšetření, ale může se také stát, že výsledek je omylem zaslán na jiné oddělení nebo přiřazen k jinému pacientovi.

### 13.3.2 Přesný popis materiálu a požadovaného vyšetření

#### 13.3.2.1 Příklady častých chyb:

* **označeno pouze „výtěr“,** aniž by bylo zřejmé, zda se jedná o výtěr z krku, pochvy či odjinud; přitom v laboratoři se každý typ materiálu zpracovává poněkud odlišně
* **ani označení „stěr z rány“ nestačí** (je rozdíl, jde-li o ránu operační, traumatickou, zhnisanou, zda je lokalizována na břiše, na končetině či třeba perianálně).
* u „katetrizované moče“ rozlišit **katetrizaci kvůli odběru** (citlivější než moč běžně odebraná) od **moče z  permanentního katetru** (naopak vyšší pravděpodobnost kontaminace)
* není uvedeno, zda je požadováno např. **anaerobní vyšetření** apod.

### 13.3.3 Diagnóza

Naprosto nezbytné je vyplnění skutečné diagnózy. Na průvodce není „jen tak pro pojišťovnu“. Mikrobiologovi může hodně napovědět, urychlit či zpřesnit diagnostiku, ovlivnit volbu, na která antibiotika bude testována citlivost případného patogena apod. Má-li pacient více diagnóz, je třeba uvést tu, která má vztah k předpokládané infekci (což nemusí být pacientova „hlavní“ diagnóza“), popřípadě zmínit všechny.

O tom, že správnému vypsání diagnózy často pohříchu není věnována dostatečná pozornost, svědčí občasné požadavky na vyšetření vzorku od pacientky s hyperplazií prostaty či pacienta s rizikovým těhotenstvím.

### 13.3.4 Další údaje

* uvést, zda jde o **akutní či déletrvající stav či kontrolu po léčbě**
* upozornit na **komplikovaný zdravotní stav pacienta**
* uvést **stávající nebo uvažovanou antibiotickou terapii**, případně i alergii na antibiotika
* **cestovatelská anamnéza** – návrat z tropů (která oblast, případný známý kontakt s exotickým patogenem)
* **pracovní anamnéza**: práce v zemědělství, v lese, v kanalizaci apod.
* **u serologických vyšetření datum prvních příznaků** a zda se jedná o **první či druhý vzorek**
* **u hemokultur** přesný **čas odběru a způsob odběru** (odpich, CVK, arterie)
* u gynekologických materiálů není od věci **uvést fázi menstruačního cyklu** či upozornit na to, že jde o **gravidní pacientku** (např. pro výběr testovaných antibiotik)

V případě mimořádných vzorků nebo jakýchkoli pochyb je vždy dobré upozornit laboratoř i telefonicky, případně se dohodnout, co na průvodku vypsat (a zároveň také, jak odebrat vzorek)