

Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky



Mikrobiologie a imunologie – BOMI021p + c

Týden 13

Ondřej Zahradníček

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/S

ESTRA

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)

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**



<http://www.childrenshospital.org>

<http://www.stronghealth.com>



Otázka: Je vůbec odběr nutný?

- Tuto otázku si musí položit **lékař**. Na něm je zodpovědnost, on bude případně postižen, když se rozhodne špatně.
- *Do budoucna ovšem není vyloučeno rozšíření kompetencí dalších bakalářsky vzdělaných odborníků, navíc v konkrétních případech často například sestry rozhodují o vyšetření, zejména pokud jde o ně samotné nebo jejich blízké.*

Někdy je lépe nevyšetřovat

- V řadě případů je vyšetření zbytečně zatěžující, a pacientovi nepomůžeme
 - Pacient byl nemocný, nyní však se již jeho stav zlepšil. **Má smysl provést „kontrolní vyšetření“?** Většinou ne. Klinický stav samotný vypovídá o uzdravení zpravidla mnohem lépe, než laboratorní hodnoty. Navíc např. protilátková odpověď má často zpoždění za samotným průběhem nemoci.
(Výjimečně ale kontrolní vyšetření smysl má, zejména tam, kde hrozí relaps, tj. obnovení onemocnění)
 - Jsou také případy, kdy existuje **více možností**, čím mohou být potíže pacienta způsobeny. Přesto léčba je ve všech případech **symptomatická**. Proč tedy vyšetřovat, když se léčba nezmění?

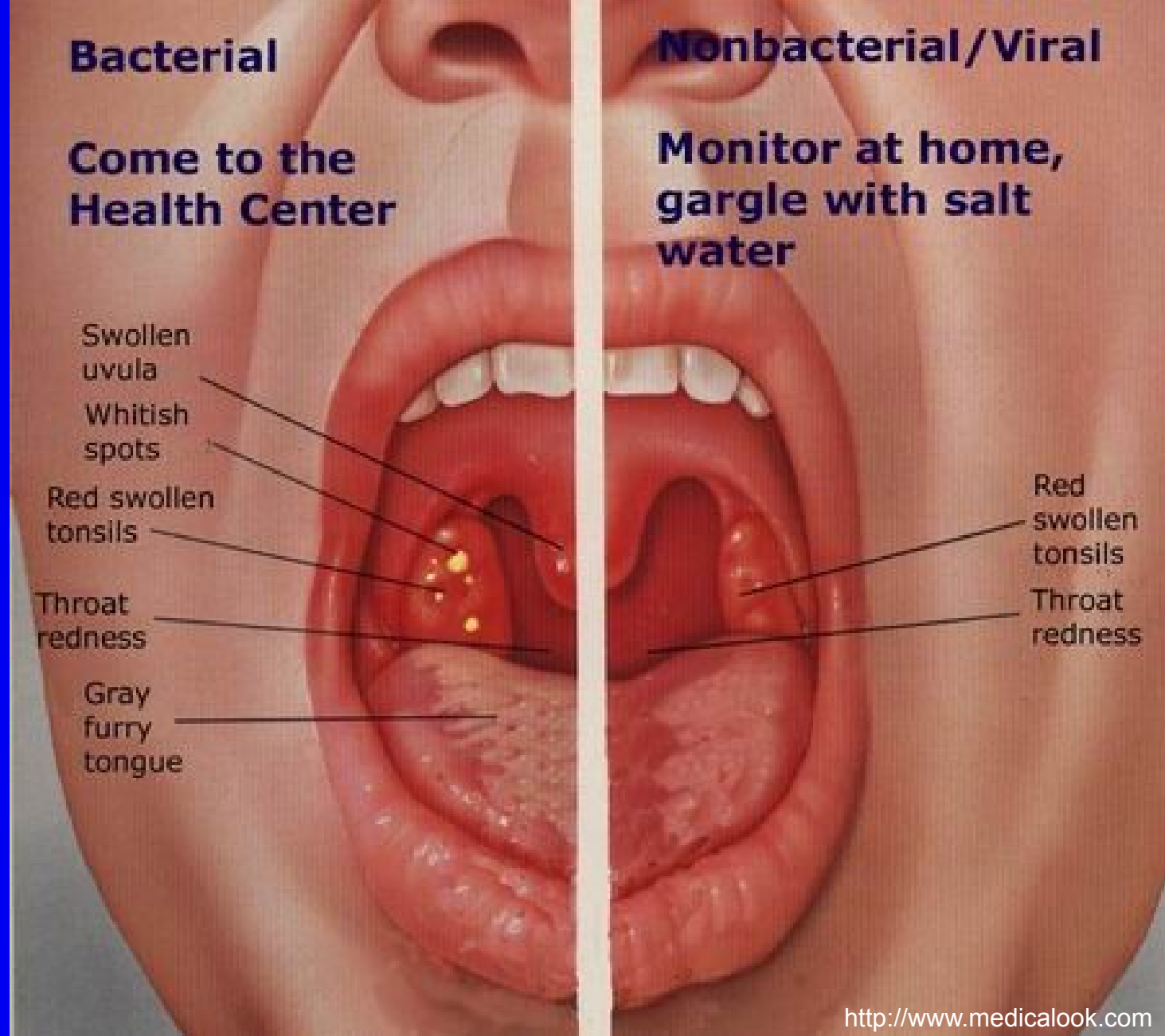
Příklad: Zánět středního ucha

- Máme pacienta se zánětem středního ucha. Bubínek není protržen. Co budeme vyšetřovat?
 - **Výtěr z vnějšího zvukovodu?** Špatně. Možná tam najdeme několik zlatých stafylokoků, které se sem tam vyskytují i na kůži. Budeme léčit oxacilinem, který je v daném případě nevhodný.
 - **Propíchneme bubínek a vyšetříme hnis ze středního ucha?** Špatně. Pokud není klinický důvod (příliš velký tlak ve středním uchu si vynutí paracentézu, aby hnis mohl vytéci ven), je nevhodné perforovat bubínek jen kvůli vyšetřování.
- **Nejlepší řešení je paradoxně nevyšetřovat nic a léčit empiricky, nejlépe amoxicilinem**

Na druhou stranu ale:

- Je řada případů, kdy se naopak často vyšetření opomíjí z důvodu že „je to přece jasné“, a přitom není
- Klasický případ: **tonsilitida („angína“)**. I řada lékařů je přesvědčena, že poznají bakteriální streptokokovou angínu. Studie však dokazují, že realita je jiná. **U tonsilitid a tonsilofaryngitid je tedy potřeba vyšetřovat vždy**, aby se zbytečně neléčila antibiotiky virová infekce hltanu.

Tonsillitis („angína“)



Rozdíly jsou, ale spoleh na ně bohužel není.

Druhá otázka: jaké vyšetření?

- Rozhodnutím, že lékař chce provést vyšetření, to zdaleka nekončí. Musí se ještě rozmyslet, **jaké vyšetření se rozhodne provést.**
- To není vždycky tak jednoduché. Příklady:
 - výtěr z krku není správným vzorkem u zánětu dolních cest dýchacích (tím je sputum)
 - výtěr z nosu není správným vzorkem u zánětů dutin
 - u břišního tyfu se v některých případech vyšetřuje moč, často krev, jen občas i stolice
 - u zánětů plic a ledvin má smysl kromě sputa/moče vyšetřit i krev (hemokultivaci)
 - a podobně

Tři typy mikrobiálních patogenů (1)

- **Patogen typu *Streptococcus pyogenes*.**
Stačí například „výtěr z krku na bakteriologii“
(odběr z místa zánětu, patogen nespecifikován)
- **Patogen typu *Mycobacterium tuberculosis*.**
Nutno například „sputum na průkaz TBC“
(odběr z místa zánětu, patogen specifikován)
- **Patogen typu *Toxoplasma gondii*.** Nutno poslat například „sérum na protilátky proti toxoplasmóze (krev na protilátky = nepřímý průkaz, patogen musí být specifikován!)

Tři typy mikrobiálních 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. Patří sem například mykobakteria, gonokoky, legionely, plísně, paraziti apod.
- **Patogen typu *Toxoplasma gondii*.** Nepřímý průkaz, event. přímý průkaz virového antigenu. Spirochety, viry, chlamydie, mykoplasmata aj.

Další otázka: Lze vyšetření provést teď?

- Je řada laboratorních vyšetření, která mohou být provedena **v podstatě kdykoli**, tj. mám-li zrovna v ambulanci pacienta, mohu vyšetření provést.
- Je ale také řada vyšetření, u kterých je nutná **příprava pacienta**, nebo je nutný odběr za spolupráce pacienta
- Je také nutno brát v úvahu **provozní dobu laboratoře**. Zdaleka ne všechna vyšetření se provádějí nepřetržitě. Přitom jen některé vzorky lze bez problémů uchovat, například moč by se měla doručit do laboratoře do dvou hodin (jinak se uchovává v ledničce, ale to je nouzové řešení)

Načasování odběru

- Řada vyšetření vyžaduje **doručení do laboratoře do určité doby** (např. do dvou hodin). Je tedy nutno mít zajištěno, že vzorek opravdu včas dorazí, a že laboratoř vzorek přijme a zpracuje.
- V některých případech lze s laboratoří **domluvit přednostní zpracování**
- Některé vzorky vyžadují specifický **čas odběru** ve vztahu k pacientovi a jeho chorobě. Např. odběr hemokultur na vzestupu teploty, či odběr ve dne/v noci u některých tropických parazitóz



Foto: O. Z.

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.

Výtěry a stěry

Foto: archiv MÚ

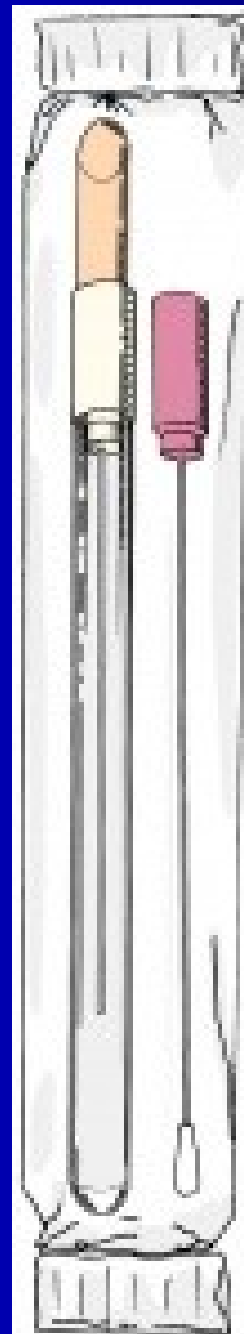
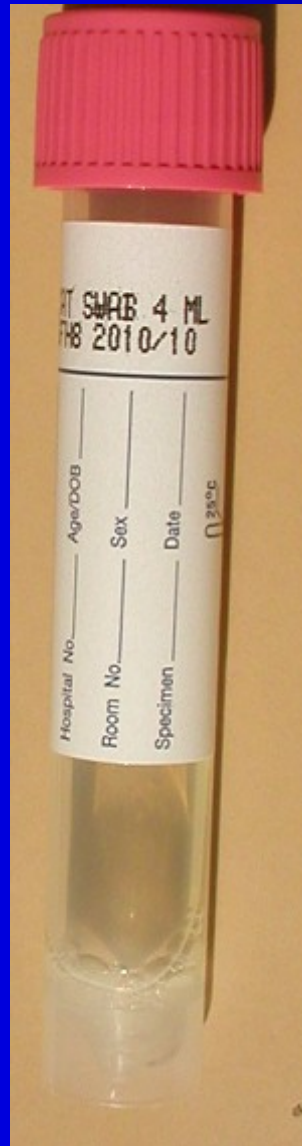


- Dnes již prakticky **neexistuje kultivační indikace suchého tamponu** bez transportního média. Tento tampon je indikován praktický výhradně pro vyšetření metodou PCR a některé průkazy antigenů
- Používají se tedy **transportní média**. Na bakteriologii je to zpravidla médium Amiesovo (na obrázku)
-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

Některé odběrové soupravy

- zleva:

- CAT (*Fungiquick* je stejný, ale s modrým vrškem)
- souprava na chlamydie
- suchý tampon s drátem



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

Vyšetření mikrobiální DNA a RNA

- Toto vyšetření mohou provádět **mikrobiologické laboratoře, ale i laboratoře genetické** (i tak je ale vhodné, aby interpretaci prováděl zkušený mikrobiolog).
- Zde se odebírá v podstatě **cokoli, kde lze předpokládat nález mikrobů**.
- Je dobré **konzultovat odběr s příslušnou laboratoří**. Požadavky na odběr se mění (ze začátku bylo nemyslitelné pátrat po DNA v krvi, která byla inhibítorem reakce, dnes již lze krev vyšetřovat)

Průkaz DNA: Riziko inhibice reakce

Důvodů, proč při genetických vyšetřeních je nutný větší důraz na sterilitu, je víc. Hrozí kontaminace DNA zvenčí, a zejména hrozí inhibice reakce

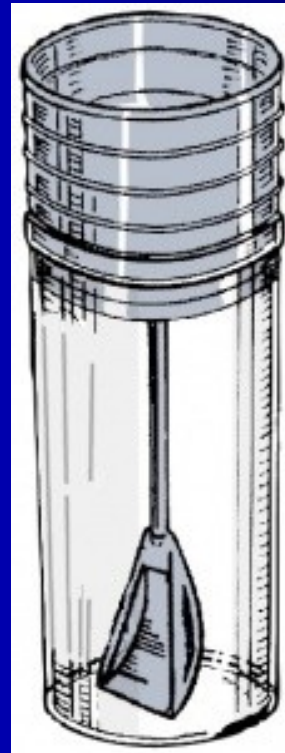
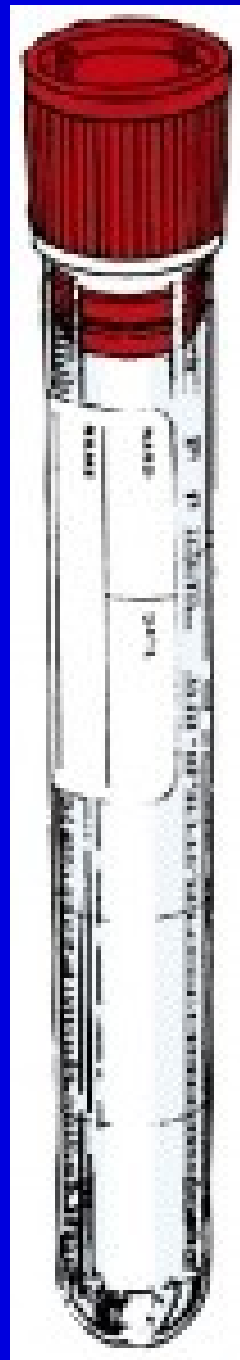
- **Inhibice reakce = vůbec k reakci nedojde.** Zpravidla se odhalí v rámci tzv. interní kontroly (při detekci produktu nejen že „nesvítí“ proužek reakce, ale ani proužek kontroly). To znamená, že reakci je nutno zopakovat, výsledek nelze použít.
- Inhibici mohou způsobit nejrůznější chemické látky, například **talek z rukavic**

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 stříkačku s kombi zátkou**
- Vzorky se snažíme vždy **dopřít do laboratoře co nejdříve**, zásadní je to však u moče – do dvou hodin

Příklady nádobek

- Vlevo klasická zkumavka, např. na sérum, vpravo kontejner na střevní parazity



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, v chirurgii otisky z ran pomocí sterilního čtverečku
- **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.

Žádanka o vyšetření

Žádanka o vyšetření je nezbytnou součástí zaslání vzorku. Význam žádanky je především

- **identifikační** – musíme vědět, ke kterému pacientovi vzorek patří, záměna může mít i závažné důsledky
- **ekonomický** – bez žádanky pojišťovna či jiný plátce vyšetření neproplatí
- **právní** – žádanka je doklad, že vyšetření bylo přinejmenším požadováno (proto se se žádankou musí zacházet jako s jinými doklady, například nic nepřechmrkávat)
- **medicínský** – zejména v mikrobiologii se podle údajů na žádance orientujeme při volbě dalších laboratorních postupů (příklad: otestovat jen základní × i rozšířenou sadu antibiotik?)

Co nesmí chybět na žádné žádance

- **Identifikace pacienta** (a když tam je, je nutno se žádankou vždy manipulovat tak, aby nedošlo k narušení ochrany osobních údajů pacienta)
- **Identifikace plátce vyšetření (ZP)**
- **Identifikace odesílajícího lékaře a zařízení**, včetně uvedení odbornosti, popř. nákladového střediska, JIP / standardního lůžkového oddělení / ambulance a podobně. Také identifikace osoby, provádějící odběr
- **Razítko a podpis**

Co ještě nesmí chybět

- **Diagnóza.** Je důležitá pro pojišťovnu, pro retrospektivní studie (výskyt zvýšených hodnot parametru X u pacientů s diagnózou Y nelze zkoumat, pokud diagnóza není správně uváděna). U mikrobiologických vyšetření je ještě mnohem důležitější, viz dále
- **Datum a čas odběru.** Zejména v některých případech velmi důležitý údaj.
- **Kontakt na objednavatele.** Zvláště u statimových vyšetření je zcela nezbytný telefon
- **Je-li pacient např. HBsAg +, HIV +, musí to být uvedeno**

Jak vypisovat žádanku

- Vyplňujeme-li žádanku textem, je nutno ji vyplnit **čitelně**. Zejména číslice (rodné číslo!) jsou důležité: škaredé písmenko ve slově si lze domyslet z kontextu, škaredou číslici v rodném čísle si nedomyšlíte
- Pokud na žádanku lepíme např. **štítek** se jménem pacienta a čárovým kódem, je nutno zabezpečit, že nemohlo dojít k záměně.
- Samozřejmě nesmí chybět **razítko a podpis**

Zaškrtávací a elektronické žádanky

- Tyto žádanky **urychlují zpracování vzorku**, zároveň také **nabízejí volbu** z relevantních vyšetření (takže odpadá možnost, že by omylem bylo požadováno vyšetření, které není relevantní, nebo byl zkomolen název vyšetření a podobně)
- Na druhou stranu **svádějí k indikaci zbytečných vyšetření** (zaškrtně se i to, co by jinak nikoho nenapadlo udělat)
- Je nutno **vyplnit vždy všechna požadovaná pole**, v opačném případě může laboratoř žádanku odmítnout

Zpracování vzorků v laboratoři

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)

● **Ostatní vzorky** se zpracovávají podle toho, jakými metodami budou analyzovány

„Odečet“ kultivace v laboratoři

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



Výsledek, předběžný výsledek

- Výsledek je **zaslán poté, co je dokončen diagnostický proces.**
- Někdy je poslán i **předběžný výsledek** (je hotova dílčí část a je nebezpečí z prodlení)
- Výsledek **už v sobě velmi často zahrnuje kus interpretace**: mikrobiolog se vyjadřuje k evidentním kontaminacím, náhodným nálezům, běžné flóře, komentuje nález v poznámce
- Je ovšem nutno brát v úvahu, že výsledek lze vez kontextu dalších zjištění o pacientovi (klinické vyšetření, jiné laboratoře apod.) interpretovat jen částečně, **definitivní interpretace je vždy na klinickém pracovišti** (konzultace s mikrobiologem je ale možná a často užitečná)

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

Nejčastější chyby na žádance

- **Chybí některý údaj** (odbornost, diagnóza, IČZ odesílajícího zařízení)
- Údaj je **neúplný nebo nečitelný**
- Údaje **vzájemně neodpovídají**, je evidentní, že některý z nich je špatně (např. pacientka je žena a diagnóza „hyperplazie prostaty“)
- **Není jasné, o jaký vzorek jde** (závažný problém především na mikrobiologii)
- Není jasné, **jaká vyšetření jsou požadována**

Nejčastější chyby při odběru

- Odběr je **nesprávně (zbytečně) indikován**
- Odběr je proveden **z nevhodného místa** (týká se hlavně bakteriologie, např. je zaslán výtěr z krku u podezření na infekci DCD)
- Odběr je **špatně technicky proveden**, není proveden asepticky a podobně
- Pacient **není správně připraven k odběru** (např. není lačný před odběrem krve)
- Vzorku **není dostatečné množství**, je vyschlý či jinak znehodnocený

Některé mikrobiologické chyby

- **Špatně odebrané sputum** (zaslány sliny)
- Zaslán **vzorek z HCD** u podezření na infekci DCD (*neplatí u chřipky, tam je to v pořádku*)
- Zaslán výtěr z řiti tam, kde je nutná kusová **stolice** (parazitologie, virologie, antigen *Clostridium difficile*)
- **Nedostatečně vyplněná žádanka** (chybí označení typu vzorku, místa na těle, chybí diagnóza, označení zda jde o akutní stav či o kontrolu po léčbě, cestovatelská anamnéza aj.)
- Zaslána **jen jedna hemokultura**

Závěrem

Správný odběr (a transport) vzorku je základem každého laboratorního vyšetření

Nashledanou příště! *(příště už naposled)*

www.medmicro.info

