

Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky



Klinická mikrobiologie – BZKM021p + c

Týden 12

Ondřej Zahradníček

Obecné zásady odběru a transportu infekčního materiálu

- Špatně provedený odběr či transport materiálu
 - zbytečné trápení pacienta
 - zbytečně vyhozené prostředky na vyšetření

Lapidárně řečeno: Lépe pacientovi zastrčit výtěrovku jednou hluboko do řiti, než ji opakovaně zbytečně „šmrdolit“ v ústí otvoru.

„Odečítání“ bakteriologie



Foto: archiv MÚ

Přehled procesu vyšetření

Proces mikrobiologického vyšetřování – na všem záleží!!!

PACIENT/LÉKAŘ

LABORATOŘ

Indikace vyšetření – zda, jaké

Vlastní provedení odběru

Transport materiálu

Rozhodnutí, jak zpracovat

Vlastní zpracování materiálu

Zaslání výsledku

Interpretace v kontextu ostat. výsledků a stavu pacienta (léčit vždy pacienta, ne nález)

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 u **epidemiologických indikací** (třeba začátek epidemie chřipky) a také u **profylaktických indikací** (jako je screening mikrobiálního osídlení pacientů v těžkém stavu)

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 nádoby 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

Průvodka

- **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.**

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 „výtěř“, když není jasné, odkud
 - ani „stěr z rány“ nestačí (jaká rána, kde lokalizována)
 - Katetrizovaná moč × moč z permanentního katetru
 - uvést, zda je požadováno např. anaerobní vyšetření
 - nepožadovat vyšetření, které nelze provést nebo nemá smysl (např. serologické vyšetření TBC)

Průvodka 2 – co 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**

Průvodka 3 – co ještě uvést

- 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 **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)
- 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



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

- 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 nálezů v rukou lékaře.** Pouze on, nikoli mikrobiolog, totiž drží v rukou vedle mikrobiologického nálezů 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, urikulty, sklíčka apod.

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

Jak různé typy vzorků ovlivňují vyšetření

Vzorky typu výtěr ze spojivkového vaku. U zdravého člověka mikroby nejsou, i malá množství mohou být významná. Není vhodné nebo možné přímo očkovat na pevné půdy, proto se nejprve pomnoží v půdách tekutých

Vzorky typu rána. Opět u zdravého člověka mikroby nejsou, i malá množství mohou být významná, zároveň je však třeba rychle zachytit případná velká množství. Očkuje se zároveň na tekuté i pevné půdy, často různorodé pevné půdy.

Vzorky typu výtěr z krku. U zdravého člověka obsahují běžnou flóru. Pomnožení v tekuté půdě nemá smysl, dává se na různé pevné půdy.

Výtěry a stěry

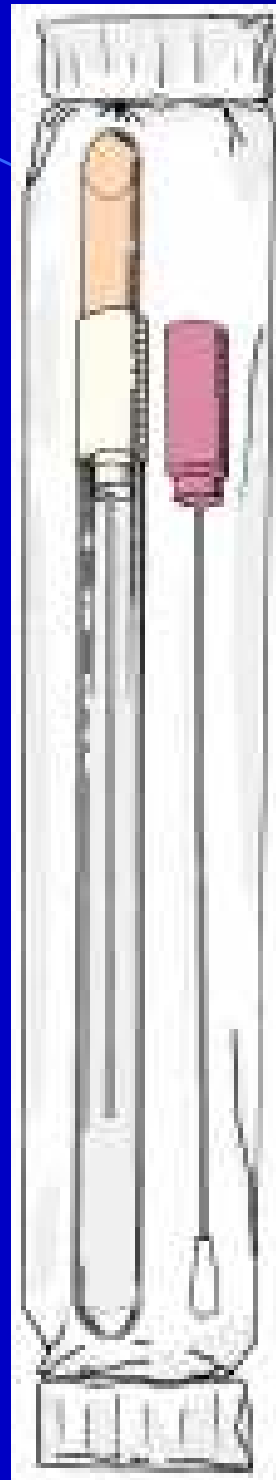
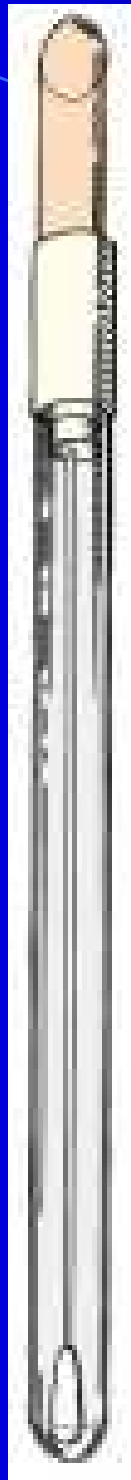
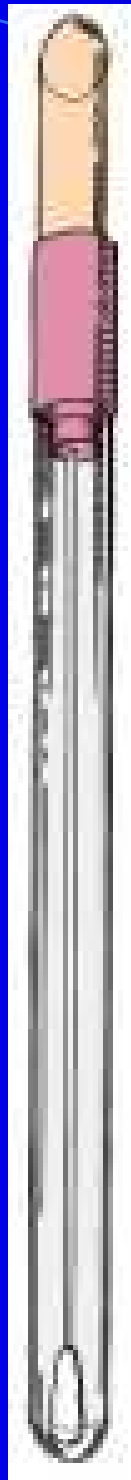
Foto: archiv MÚ



- 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
- Potřebují-li se dostat „za roh“, použijí **tampon na drátu a nikoli na špejli**.

Některé odběrové soustavy

- zleva:
 - CAT
 - FungiQuick
 - souprava
na
chlamydie
 - suchý
tampon
s drátem



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, kamylobakt.)

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)

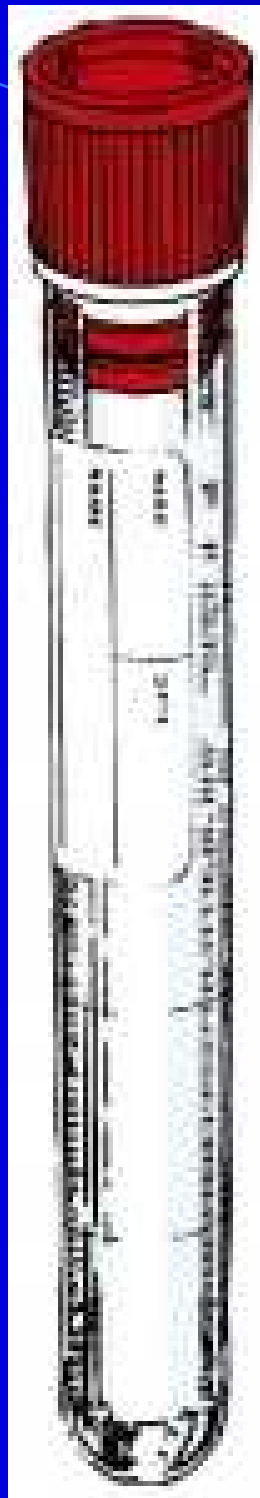
Soupravy s médiem na viry, popř. chlamydie

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
- U anaerobní kultivace je lépe zaslat přímo stříkačku s jehlou zabodnutou do sterilní gumové zátky
- Vzorky se snažíme vždy dopravit 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



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** – vhodné zalít bujonem či fyziologickým roztokem, aby nevyschly. I zde je vhodné rychlé zaslání event. 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.

Odběry a
zpracování
různých typů
vzorků (opakování,
shrnutí)

Dýchací cesty

A close-up photograph of a person's mouth during a throat swab procedure. The tongue is held down by a white plastic depressor. A white swab stick is being used to collect a sample from the back of the throat. The person's lips are slightly parted, and the throat area is visible. The background is dark, making the mouth and throat stand out.

Výtěr z krku

http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Labs/Microbiology/Strep_Detection/Throat_swab_P7251230.jpg

Odběr vzorků na vyšetření z dýchacích cest

- Na **bakteriologii** se posílají
 - **výtěry** – (z krku, tonzil, nosu apod.), vždy na tamponu v transportní půdě (např. Amiesově)
 - **sputum, tracheální aspirát či bronchoalveolární laváž** u bronchitid a pneumonií
 - **hemokultury** u pneumonií
- **Viroví** původci se většinou nevyšetřují. Je-li výjimečně potřeba je vyšetřit, volíme např. výplachy z nosohltanu a bronchoalveolární laváže speciálním médiem, či krev na serologii respiračních virů
- Na **mykologické vyšetření** volíme výtěr na tamponu v soupravě FungiQuick

<http://www.lumen.luc.edu/lumen/meded/mech/cases/case9/sputum1.jpg>

Vyšetření sputa



Vyšetření sputa

Diagnostické schéma (1)

- **Den 0:** mikroskopie (Gramovo barvení)
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA, EA a NaCl. Je-li přítomna jen běžná flóra, EA se vyhodí a KA a NaCl se prodlužuje do dalšího dne. Případný patogen se určuje a testuje se jeho citlivost; je-li ho málo dělá se jeho izolace (kolonie se opatrně nabere kličkou a naočkuje se na celou miskou křížovým roztěrem tak, aby se určitě získal čistý kmen

Vyšetření sputa

Diagnostické schéma (2)

- **Den 2:** expedice negativních výsledků (prohlížení „prodlužek“, jak říkáme u nás, či „dohřívek“, jak říkají v nemocnici na Homolce). Expedice většiny pozitivních výsledků, je-li bližší určení hotovo a test citlivosti uspokojivý. Není-li, nebo je-li hotova teprve izolace, „jede se dál“.
- **Den 3:** expedice většiny zbylých pozitivních výsledků (rezistentní, špatně určitelné, z izolací)
- **Den 4:** výjimečně expedice posledních výsledků

Výtěr z krku

Diagnostické schéma

- **Den 0:** pouze nasazení kultivací
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA a EA. NaCl se zde nepoužívá. I v tomto případě se KA s běžnou flórou prodlužují
- **Den 2:** expedice všech negativních a většiny pozitivních výsledků
- **Den 3:** expedice téměř všech zbylých pozitivních výsledků

Co je potřeba vědět

- Na průvodku je nutno uvést, o jaký vzorek jde, jaké vyšetření je požadováno, a případně další podstatné údaje
- Laboratoř má právo odmítnout špatně odebraný vzorek sputa (nehnisavý, neobsahuje leukocyty, jen epitelie → jsou to sliny!!!)
- Kultivace tuberkulózy musí být požadována zvlášť, i když se posílá stejný vzorek sputa
- U virologie a průkazů různých antigenů se případně posílají suché tampony, výplachy z nosohltanu (izolace viru) a podobně

Trávicí

cesty

Odběr a transport stolice na jednotlivá vyšetření

- **Bakterie** – v Amiesově transportní půdě
- **Kvasinky** – v půdě FungiQuick
- **Viry** – vzorek velikosti lískového oříšku; má-li být provedena izolace viru, je nutno chladit
- **Paraziti** – opět velikosti lískového oříšku, nemusí být sterilní. Označit cestovatelskou anamnézu! Zpravidla tři vzorky.
- **Roupi** – Grahamova metoda – perianální otisk na speciální lepicí pásku, mikroskopuje se
- **Otravy** – zvratky, zbytky jídel

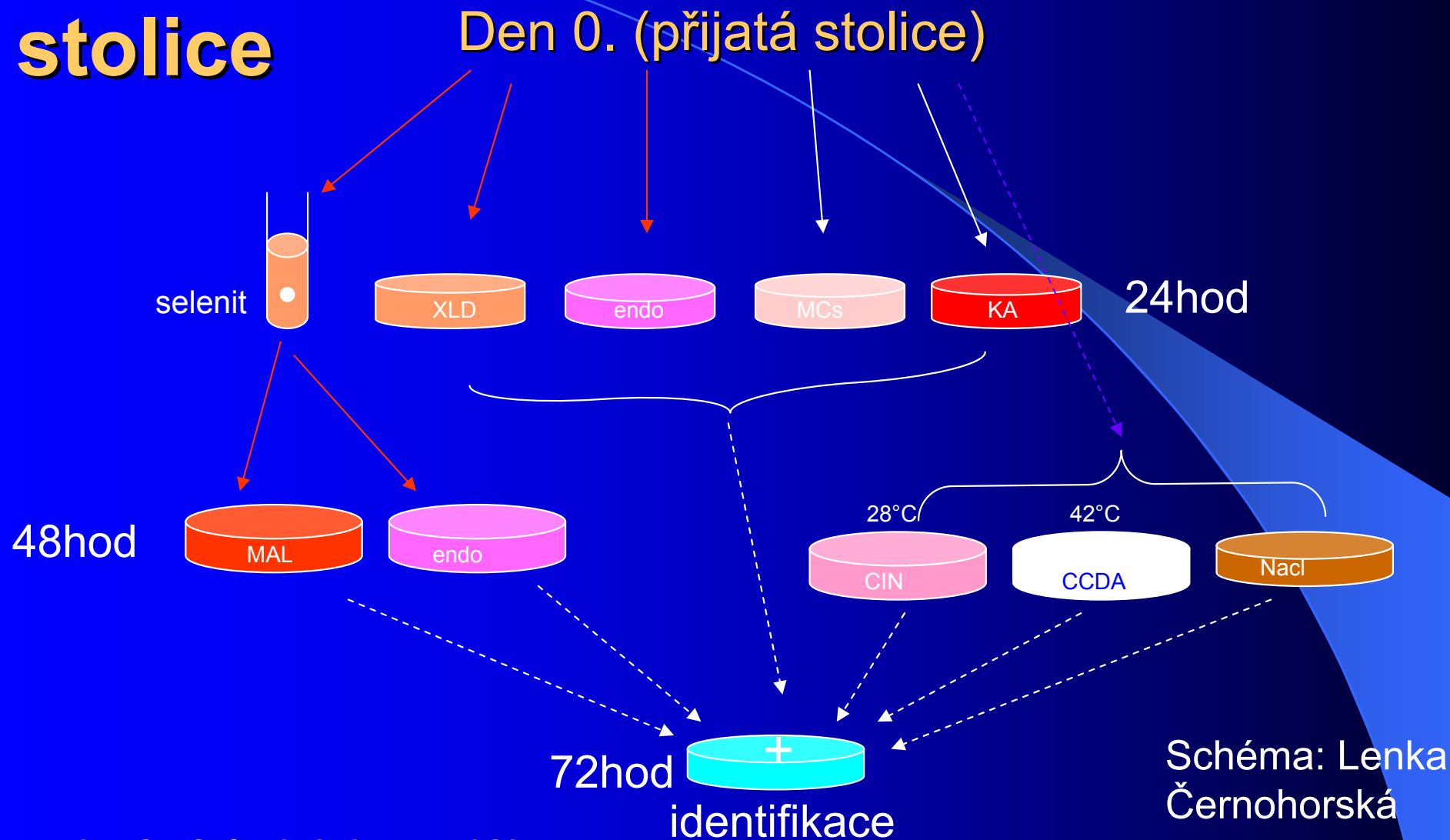
Diagnostika bakteriálních původců

- Přímý průkaz toxinu A (*Clostridium difficile*) jako antigenu. Průkaz toxinu je důležitější než samotný nálezn klostridia – to mohou mít i zdraví!
- Kultivace na různých půdách (výběr závisí na stáří pacienta a diagnóze)
- U cestovatelů přidáváme i méně obvyklé půdy



Průkaz toxinu A u *C. difficile*. Foto archiv MÚ

Kultivace stolice



Negativní výsledek je za 48h
Pozitivní za 72h a déle

*Není-li uvedeno jinak kultivace probíhá při 37°C

Průkaz enterotoxikóz

- **Nestačí kultivační průkaz mikroba**
- Vždy **nutný průkaz toxinu** (pokud není dostupný v nejbližší mikrobiologické laboratoři, lze požádat o spolupráci např. referenční laboratoři)
- Pokud možno vyšetřit i **vzorek jídla**

Moččóvė

cesty

Odběr a transport moče

- Nejspolehlivější je moč získaná **suprapubickou punkcí**. V praxi se ovšem používá málokdy
- Poměrně dobrá je také **katetrizovaná moč** (katetrizace provedená kvůli odběru)
- **Běžně odebraná moč** nemusí být špatným vzorkem, je-li správně odebrána a zaslána
- **Moč z permanentního katetru** je k ničemu, s výjimkou případu, kdy chceme zjistit osídlení katetru

Odběr moče spontánně vymočené

- ze středního proudu moči spontánně vymočené (*rutinní typ s rizikem sekundární kontaminace během odběru*)
- **postup:** nádoba pro odběr moči musí být sterilní, se širokým hrdlem (např. kádinka)*, poučený pacient si před odběrem důkladně omyje zevní genitálie vodou a mýdlem a otře si zevní ústí močové trubice tamponem smočeným v dezinfekčním roztoku (u dětí se použití dezinfekčního roztoku nedoporučuje).

**pokud ale pacient močí přímo ve sprše, může močit přímo do zkumavky, a poté se omyje pacient i zkumavka zvenku, a odpadá další manipulace*

Odběr moče u muže a ženy

- **Muži** jedním krouživým tahem
- **Ženy** zaujmou široký postoj nad klozetovou mísou, jednou rukou oddálí labia a druhou rukou tamponem otřou genitálie předozadním pohybem. Poté pacient odmočí první porci moče a **do sterilní nádoby bez přerušení močení zachytí střední proud**. Odebraná moč se přelije do sterilní nádobky určené k transportu.

(Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, DOPORUČENÉ POSTUPY PRO PRAKTICKÉ LÉKAŘE, Projekt MZ ČR zpracovaný ČLS JEP za podpory grantu IGA MZ ČR 5390-3)

Odběr moče u ženy

Důležité je prsty
odtáhnout malé stydké
pysky od proudu moče
tak, aby moč nebyla
kontaminována
mikroflórou vulvy



Transport moče

- Pro hodnocení močové infekce je důležitá **kvantita** – viz dále. Tu však lze hodnotit pouze v případě, že se mikroby v moči během transportu nepomnoží – pokud se pomnoží, kvantitativní poměry se změň
- Proto je moč bezpodmínečně nutno dopravit do laboratoře **do dvou hodin** po odběru (raději ještě rychleji)
- Pokud zcela výjimečně toto nelze dodržet, je potřeba moč dát **do ledničky** (u jiných vzorků se to naopak nedoporučuje)

Interpretace vyšetření moče I

- Při nálezu jednoho druhu mikroba platí:
- **Kvantita nad 10^5** mikrobů v 1 ml se považuje za pravděpodobnou močovou infekci. U starých lidí to ovšem může být kolonizace
- **Kvantita $10^4 - 10^5$** je hraniční. Jsou-li pochybnosti o kvalitě odběru (např. u kojenců), považuje se spíše za kontaminaci. Významná je spíše u mužů a u dětí.
- **Kvantita pod 10^4** se považuje za kontaminaci
- Neplatí u punktované a katetrizované moči.

Interpretace vyšetření moče II

- Při nálezu dvou mikrobů platí
- Kvantita do 10^5 je zřejmě kontaminace
- Kvantita nad 10^5 je sporná (hraniční)
- Při nálezu tří mikrobů platí
- V podstatě vždy se považuje za kontaminaci
- Výjimka: jeden mikrob v kvantitě nad 10^5 , ostatní dva naopak pod 10^4 → první mikrob se považuje za pravděpodobného původce
- V praxi se zohledňuje také o jaké mikroby jde apod. (stafylokoky se berou „méně vážně“)

Diagnostika infekcí pohlavních, kožních, očních

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

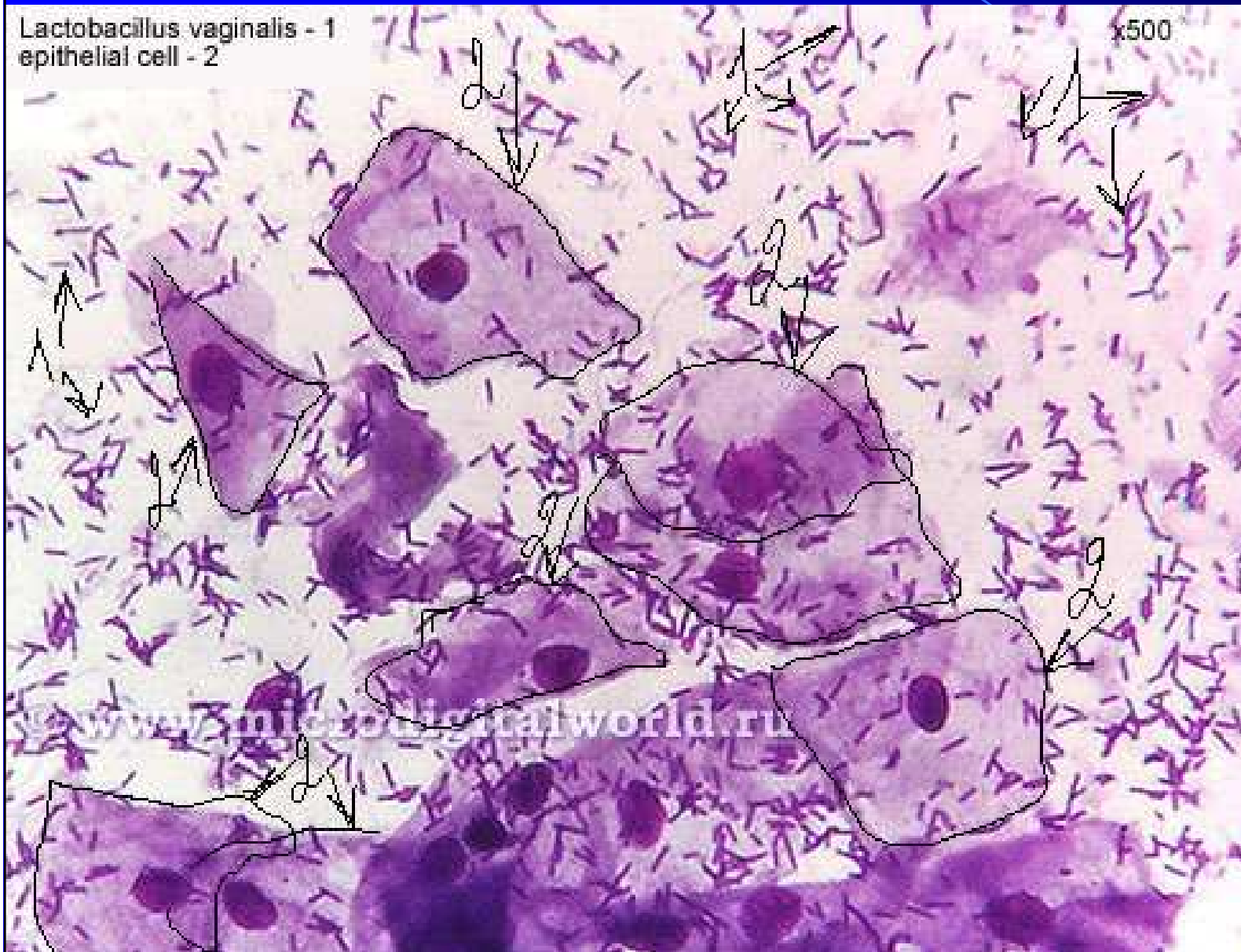
MOP – mikrobiální obraz poševní

- 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

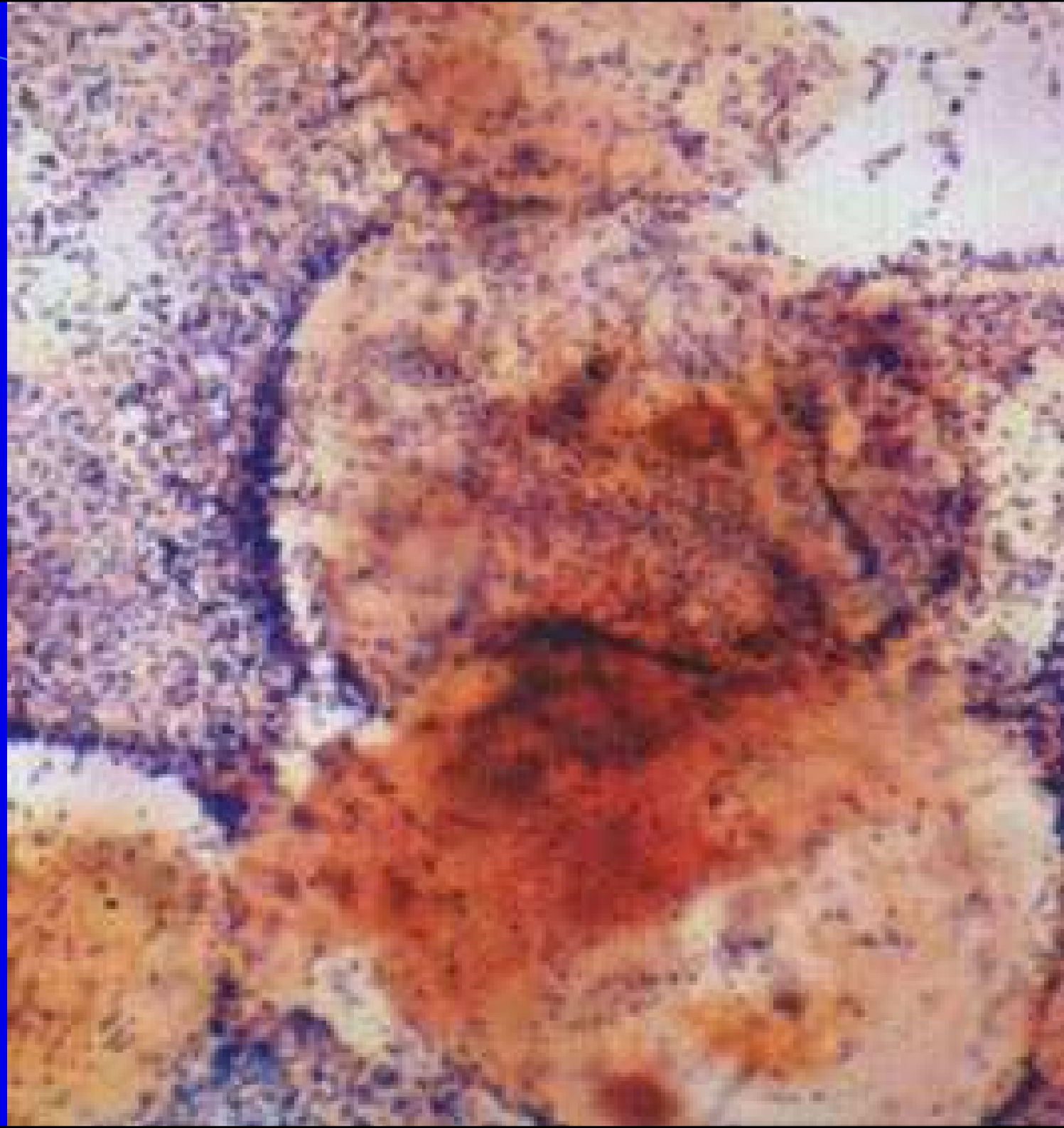
MOP I (Giemsa)

Lactobacillus vaginalis - 1
epithelial cell - 2

x500

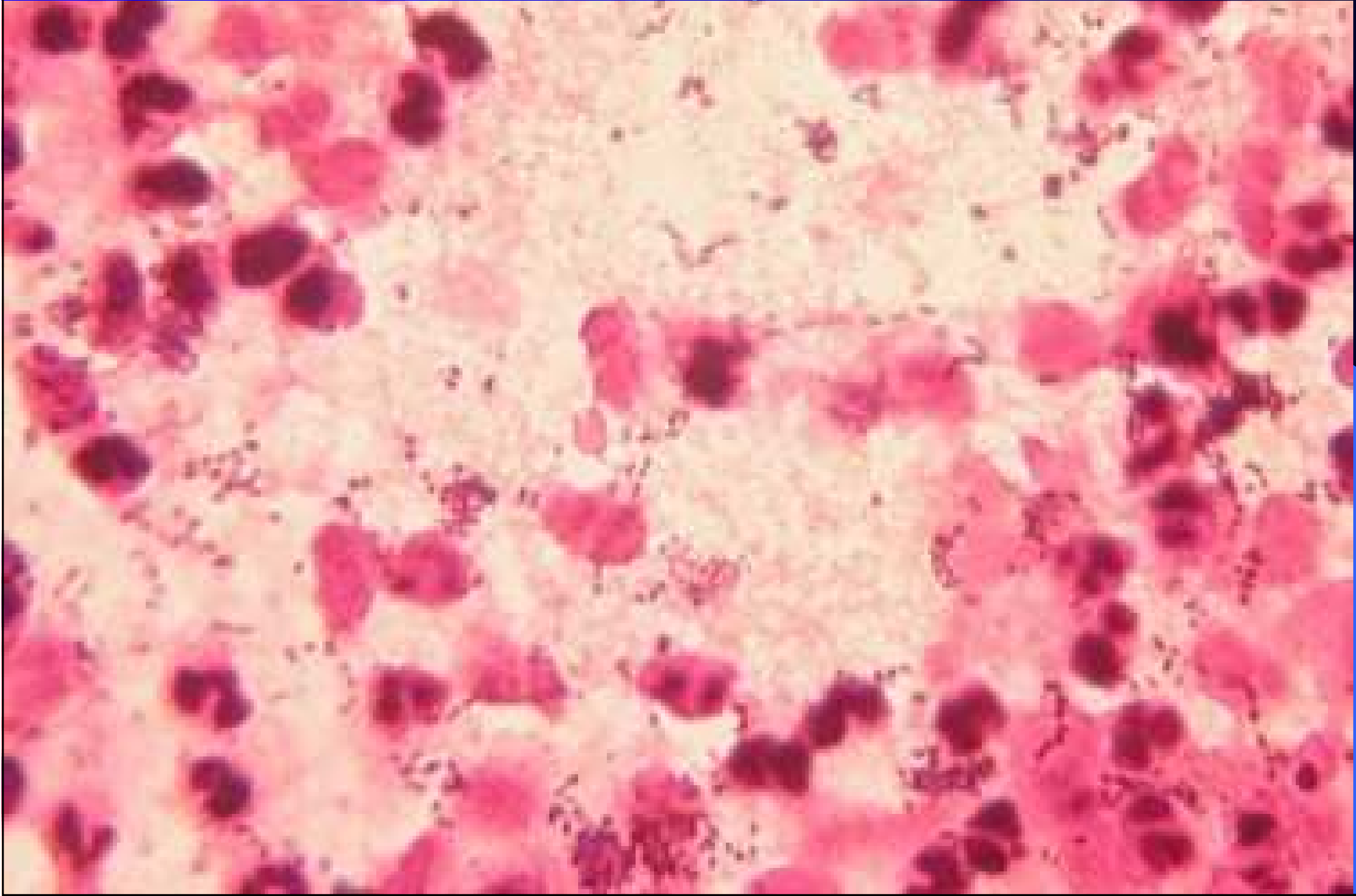


MOP II bakteriální vaginóza

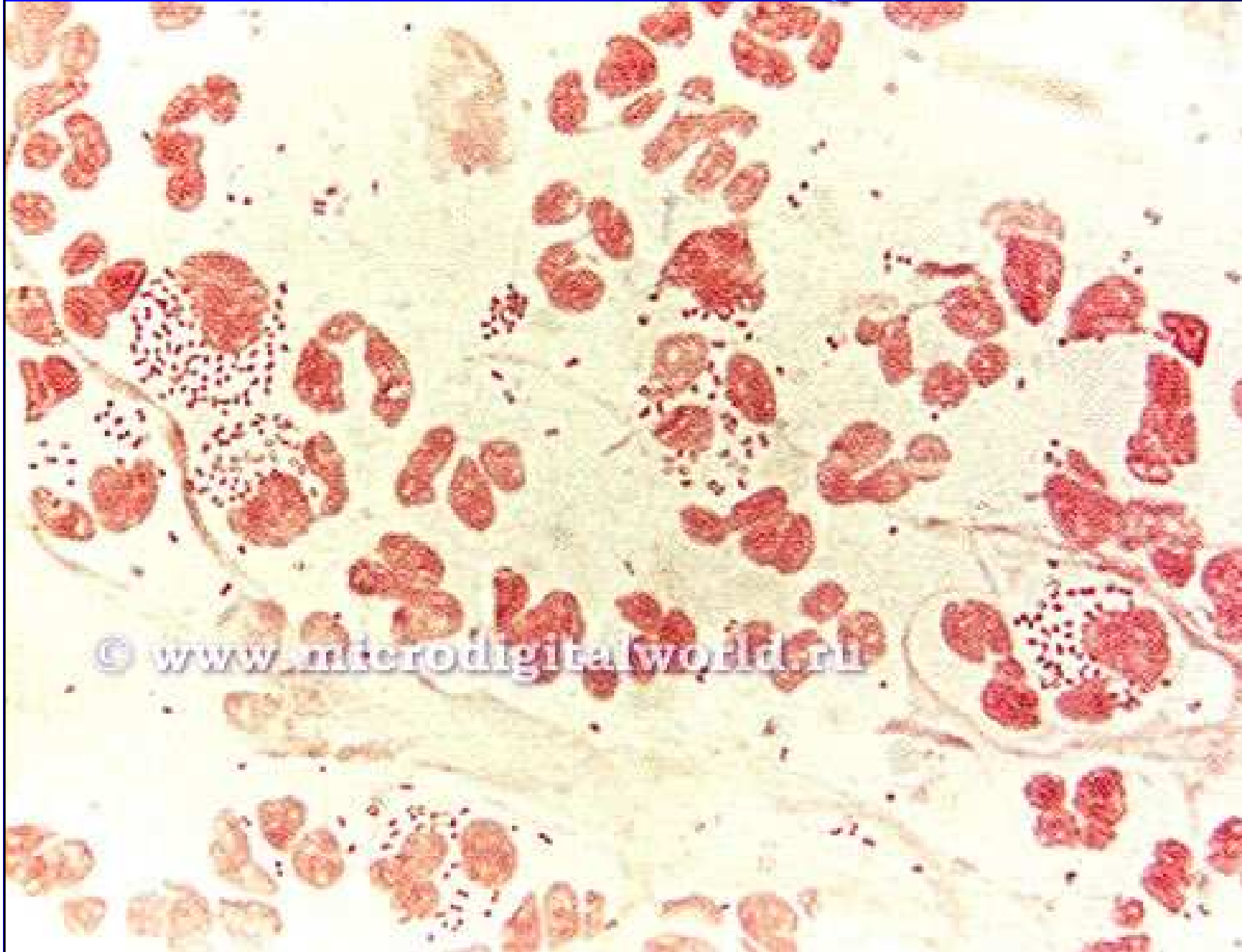


MOP III (bakteriální hnisavý)

www.medmicro.info



MOP IV (kapavka)



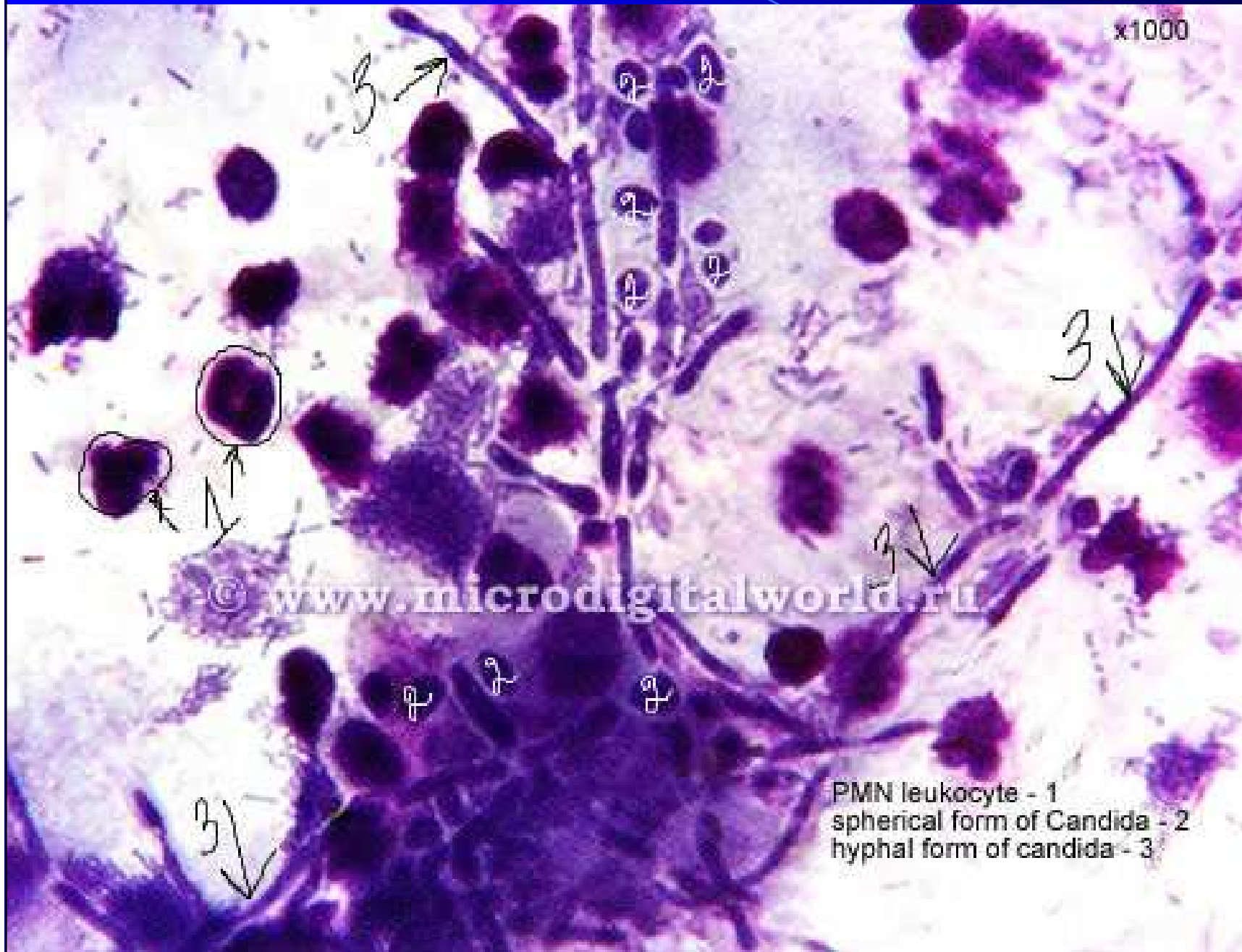
© www.microdigitalworld.ru

MOP V (trichomonóza)



Photo by: Dr S.M. Sadjjadi
parasito@sums.ac.ir

MOP VI (Giemsa)



MOP VI (Gram)



ASM MicrobeLibrary.org/Wiedbrauk

Diagnostika nemocí s kožními projevy

- U řady běžných dětských nemocí **není laboratorní diagnostika nutná**, nemoci jsou poznatelné klinicky
- **Pokud by se měly diagnostikovat**, dělá se to zpravidla serologicky
- U **spály** je podstatné vyšetření výtěru z krku, které odhalí streptokoka
- U **skutečných kožních infekcí** se provádějí stěry, otisky apod.; na mykologii se posílají šupiny aj. Kultivuje se běžným způsobem

Diagnostika očních infekcí

- V případě **povrchových infekcí** se posílají výtěry ze spojivkového vaku. V laboratoři se primokultivují pouze v bujónu
- Při **podezření na akantaméby** je k vyšetření je nutno poslat celé kontaktní čočky v jejich tekutině, popř. provést seškrab rohovky
- V případě **hlubších infekcí** se materiál na přímý průkaz odebírá jen tehdy, je-li to možné bez toho, abychom pacienta vyšetřením poškodili. V některých případech (toxoplasmosa) lze hledat protilátky.

Diagnostika sepsí

Hemokultury – odběr krve

- 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)

Zásady odběru krve

- Odebírat asepticky!!! Nejen kvůli pacientovi, ale i kvůli vzorku. Nestačí očistit kůži benzinem, nutná desinfekce
- Desinfekci nechat působit dostatečně dlouho, u alkoholových prostředků do zaschnutí (nechat skutečně zaschnout)
- Nejlépe použít tři stejné hemokultivační nádoby. Případně doplnit např. jednou anaerobní
- Hemokultury popsat, nezapomenout na čas odběru

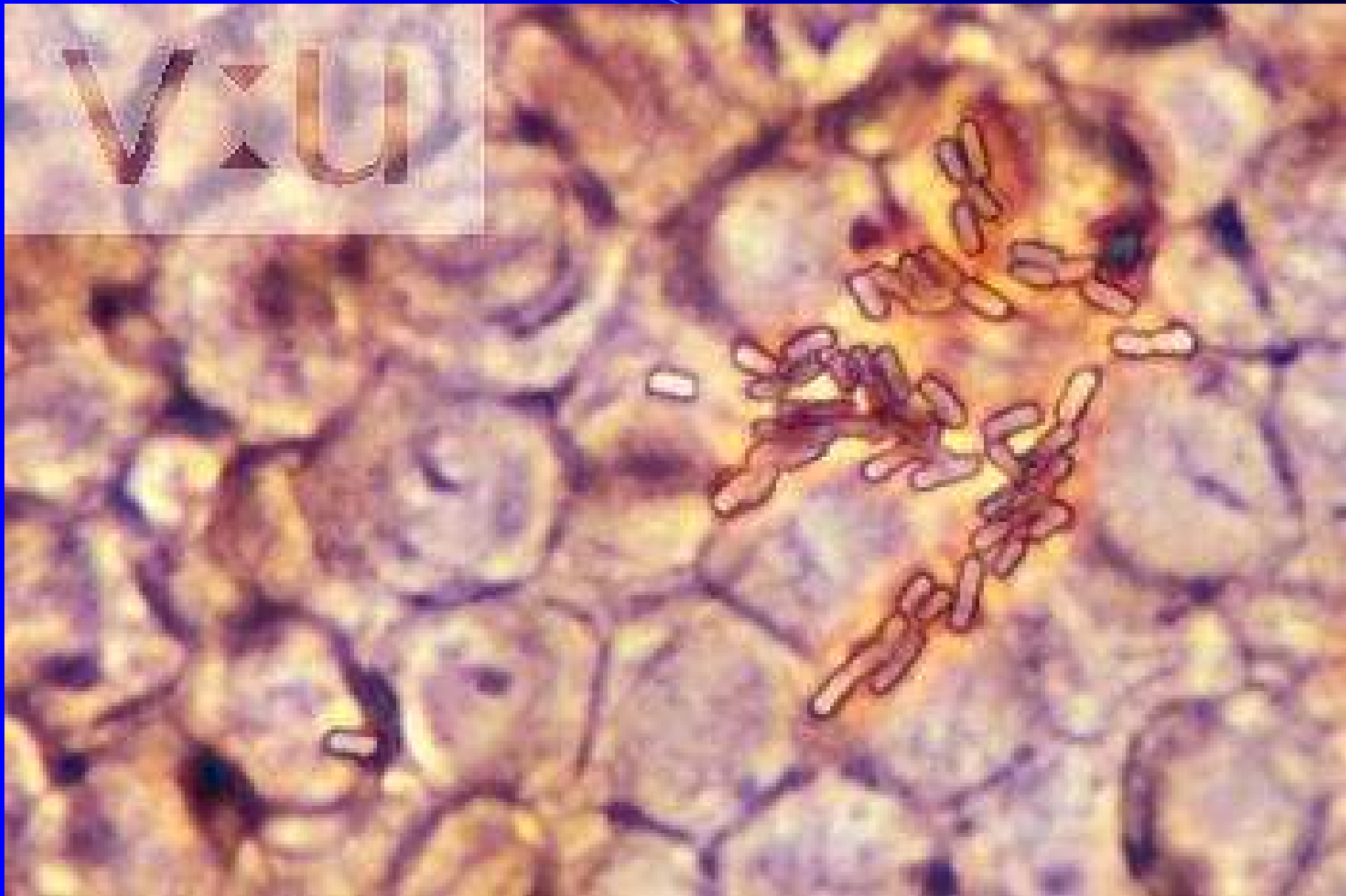
Když je hemokultura pozitivní...

- Lahvička je vyjmuta z přístroje
- Je nutno zaevidovat čas, resp. dobu od příjmu do positivity. Čím delší je tato doba, tím je pravděpodobnější, že jde o kontaminaci
- Provádí se vyočkování na pevné půdy, nátěr na sklo barvený Gramem a podle jeho výsledku zpravidla „napřímo“ orientační diskový test citlivosti; místo standardní suspenze se použije přímo tekutina z lahvičky → není spolehlivé

Kdy tedy očekávat výsledek

- **Negativní hemokultury** jsou v naší laboratoři (u jiných se může lišit) expedovány předběžně za 48 h, definitivně pak za 6 dnů
- **Pozitivní hemokultury** jsou zpravidla telefonicky hlášeny po zjištění positivity, a expedovány po dokončení diagnostického procesu

E. coli v hemokultuře, fázový kontrast



Cévní katetry

- V případě pacientů se zavedenými katetry je vždy podezření na katetrový původ sepse
- V takovém případě je nutno odebírat hemokultury jak z katetru, tak i ze zvláštních odpichů
- **Posílají se také odstřižené části katetrů, a je velmi důležité, jak budou vyšetřeny.**

Klasické zpracování cévních katetrů

- **Klasická kultivace v bujónu:** katetr se vloží do tekuté půdy a kultivuje 24 h. Je-li po této době bujón zakalený, je vyočkován na pevnou půdu a případné bakterie identifikovány.
- **Co se stane:** Uvolní se bakterie v planktonické formě. Bakterie ve formě biofilmu se uvolní málo nebo vůbec.
- Vzhledem k použití bujónu jako pomnožovací půdy **nevíme nic o kvantitě** (kontaminace × infekce).

Nové možnosti zpracování katetrů

- **Semikvantitativní metoda:** Bujon se oválí po povrchu pevné půdy. **Co se stane:** zmapujeme povrch katétru a semikvantitativně posoudit nález, nevypovídá však o bakteriích uvnitř a bakterie se nemusí uvolnit z biofilmu.
- **Sonifikace:** biofilm rozbijeme ultrazvukem. **Co se stane:** rozrušíme biofilm na povrchu i uvnitř katétru. Vyočkování určitého objemu vzorku je kvantitativní metoda, takže dává možnost posoudit množství mikrobů.

Diagnostika systémových viróz (hepatitid, infekce HIV apod.)

Systemové virózy

- Základem je **průkaz protilátek**, případně také průkaz antigenu a průkaz DNA
- Vyšetřuje se zpravidla **sérum**, a to nejen na průkaz protilátek, ale i virových antigenů
- Na průvodku je vždy nutno přesně uvést, **jaká vyšetření mají být provedena** (nejen který virus, ale i jakými postupy – už kvůli proplácení pojišťovnou)

Diagnostika neuroinfekcí

Bakteriologická diagnostika purulentních meningitid

- **Vzorek:** Mozkomíšní mok (Při odběru měřit tlak likvoru a prohlédnout jeho vzhled)
- **Po přijetí do laboratoře:**
 - mikroskopie (hledají se leukocyty a bakterie)
 - přímý průkaz antigenu ve vzorku likvoru
 - kultivace: obohacené půdy (čokoládový agar)
 - Identifikace kmenů, u meningokoků až na úroveň séroskupiny kvůli očkování
- **Interpretace:** pozor na kožní kontaminaci (koagulasa negativní stafylokoky)

Diagnostika ostatních neuroinfekcí

- **Ostatní bakteriální infekce**

- U abscesů je nutno získat vzorek z příslušného abscesu, protilátky nemusí být vytvořeny
- U borreliózy a neurolyues je diagnostika serologická

- **Virové neuroinfekce**

- Přímý průkaz: Kultivace virů na tkáňových kulturách a na sajících myšatech; PCR.
- Nepřímý průkaz: Dva vzorky krve na „serologii respiračních virů“ - provede se vyšetření protilátek proti nejběžnějším virovým, ale případně i bakteriálním agens.

Diagnostika ranných, poživových, hnisavých infekcí

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

Výtěr z rány



OCT 18 2004

Diagnostika hnisavých infekcí

- V laboratoři je provedena **mikroskopie vzorku**, dále jeho **kultivace**, **bližší určení** odhalených patogenů a vyšetření jejich **citlivosti na antibiotika**
- U mikroskopie se hodnotí **nejen mikroby**, **ale i množství leukocytů** apod.
- Při kultivaci je užitečné využívat **pomnožovací tekuté půdy** (kdyby bylo mikrobů málo) a také **selektivní půdy** (s NaCl na stafylokoky, s amikacinem na streptokoky), zejména u dekubitů apod.

Výtěr z rány: Základní diagnostické schéma (bez anaerobů, kvasinek aj.)

(Liší se dle lokalizace rány a dalších okolností)

- **Den 0:** pouze nasazení kultivací
- **Den 1:** výsledek primokultivace vzorku na KA, EA, NaCl a KA+AMI. V případě negativity všech pevných půd se prohlíží B, je-li zakalený, vyočkovává se (tzv. subkultivace)
- **Den 2:** expedice všech negativních a mnohých pozitivních výsledků – pro komplikace, rezistence apod. ovšem zdaleka ne všech
- **Den 3:** expedice dalších pozitivních výsledků

Výtěr z rány – interpretace

- **Běžná flóra:** žádná není, vše, co se najde, se považuje za patogena (pro jistotu i to, o čem máme pochybnosti, není-li to kontaminace)
- **Patogeny:** všechno možné, od stafylokoků přes streptokoky a pseudomonády až po anaeroby u břišních ran a pasterurely u ran po pokousání psem. Proto se doporučuje s atb léčbou vyčkat až po alespoň předběžném výsledku kultivace

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“.**

Nashledanou příště!

www.medmicro.info

