

# Zásady odběru a transportu materiálu k mikrobiologickému vyšetření, průvodky



Mikrobiologie a imunologie – BSKM021p + c

Téma 1A (pro PA)

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



# 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 „výtěr“, 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



Foto: archiv MÚ

# 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 nálezy 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 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**



# 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.

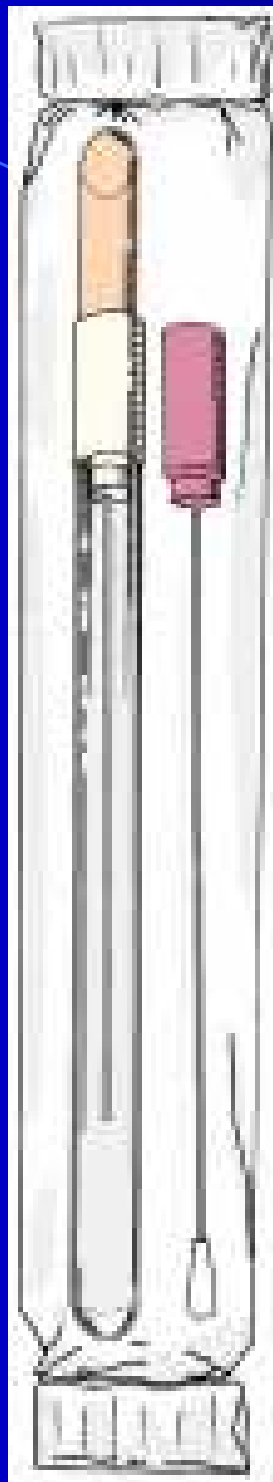
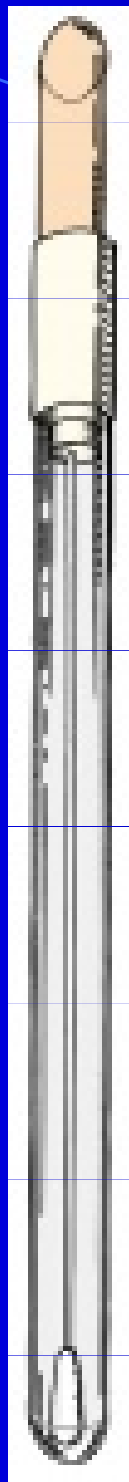
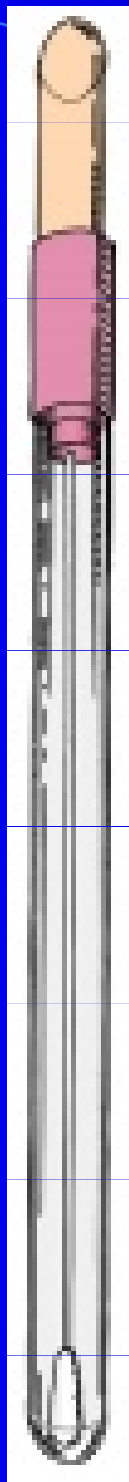
# Výtěry a stěry



- 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



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, 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)

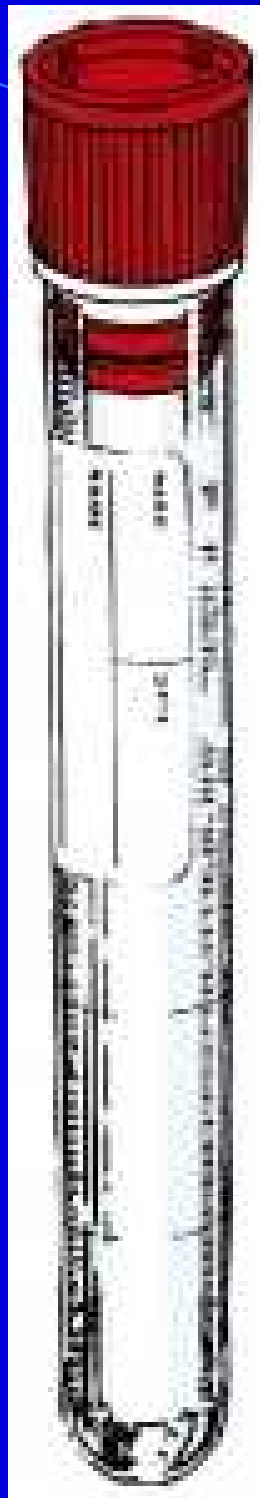
Soupravy s médiem na viry, popř. chlamydie



# 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

- Vlevo klasická zkumavka, např. na sérum, vpravo nádobka na střevní parazity (nemusí být sterilní)



## Příklady nádobek

# 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 časě 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.

# 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, 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

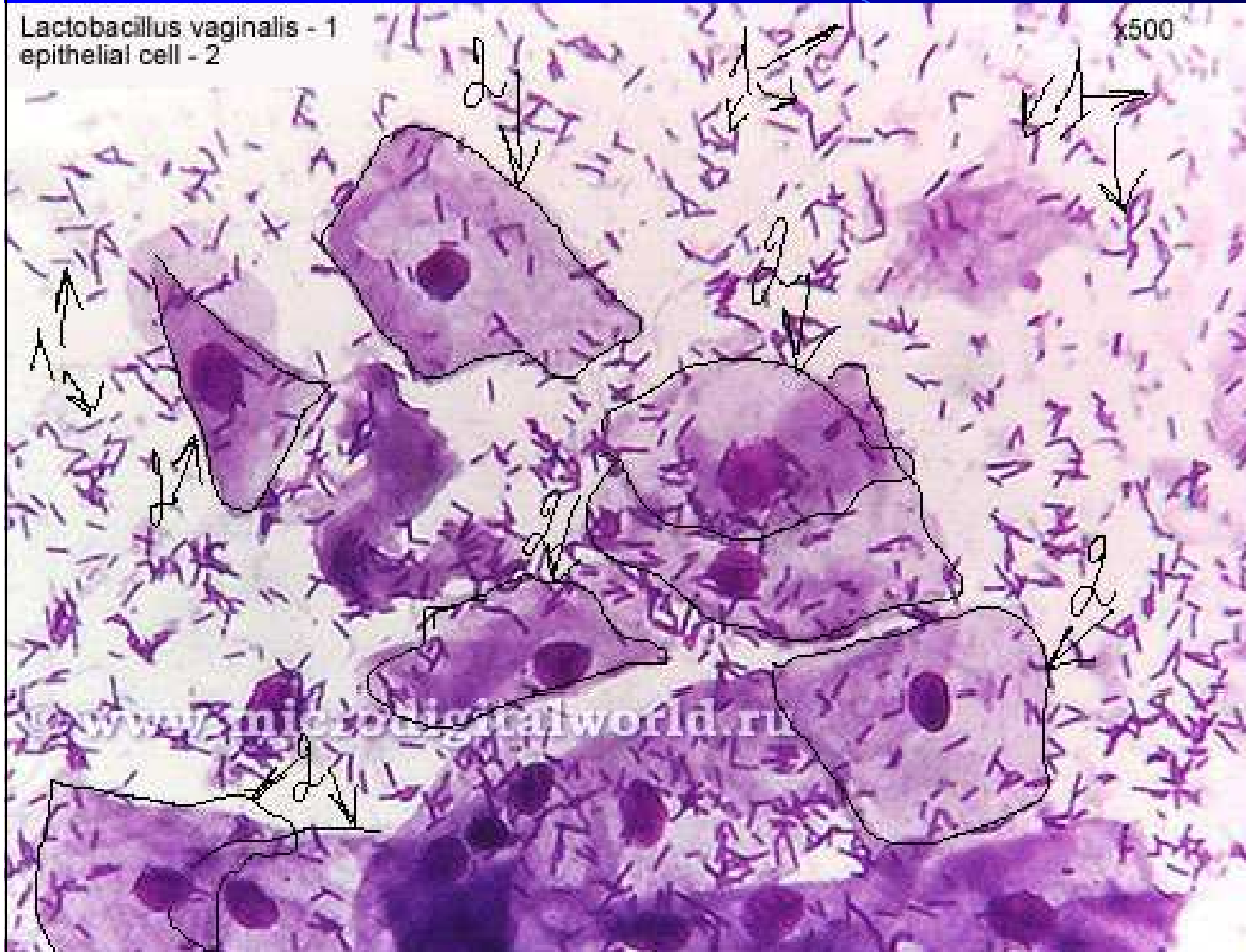


# MOP I (Giemsa)

<http://en.microdigitalworld.ru>

Lactobacillus vaginalis - 1  
epithelial cell - 2

x500



# 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“.**

# Nashledanou příště!

[www.medmicro.info](http://www.medmicro.info)

