

# ODDELENIE KLINICKEJ MIKROBIOLOGIE NAW PIEŠŤANY

## **ODBER, UCHOVÁVANIE A TRANSPORT BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU**

Úspešnosť a spoľahlivosť mikrobiologického vyšetrenia závisí popri iných faktoroch aj od správneho odberu, uchovávania a transportu biologického materiálu do laboratória. Zabezpečenie správneho odberu vzorky vyžaduje nielen znalosť etiopatogenézy ochorenia, ale i znalosť základných vlastností predpokladaného mikroorganizmu.

Na základe etiopatogenézy ochorenia sa určuje vhodné miesto odberu (t.j. druh tkaniva alebo lokalita tak, aby sa čo najviac zvýšila pravdepodobnosť záchytu mikroorganizmu), čas odberu (optimálne pred začatím ATB liečby, príp. kontrolný odber aspoň 3 dni po vysadení ATB liečby) a množstvo odobratého materiálu (z dôvodu možnosti využitia optimálneho počtu laboratórných postupov). Znalosť základných vlastností mikroorganizmu (najmä citlivosť ku kyslíku a teplote, prípadne odolnosť voči vyschnutiu) pomáha pri výbere vhodných odberových pomôcok, aby boli pri odbere vytvorené vyhovujúce podmienky, súčasne aj pre transport vzorky. Správny a komplexný mikrobiologický výsledok je predpokladom cielenej antimikrobiálnej liečby pacienta. Súčasťou bakteriologického výsledku môže byť citlivosť a rezistencia patogénnych baktérií na antibiotiká.

Zásady správneho odberu vzoriek:

- 1/ materiál odoberať vždy asepticky, sterilnými odberovými súpravami a do sterilných odberových nádob
- 2/ používať odberové súpravy vhodné pre požadované kultivačné vyšetrenia podľa odporúčaní laboratória
- 3/ vzorky biologického materiálu odoberať pred začatím antimikrobiálnej liečby
- 4/ odoberať vhodný typ vzorky zodpovedajúci patofyziológii predpokladaného infekčného procesu
- 5/ vzorky biologického materiálu odoberať z miesta infekcie, zabráni sa tak kontaminácii vzorky komenzálnou flórou kože a slizníc
- 6/ pri podozrení na infekciu spôsobenú anaeróbnymi baktériami odobrať vzorku s ohľadom na zachovanie anaeróbných podmienok počas transportu
- 7/ odobrať dostatočný objem vzorky – vo väčšom množstve vzorky sa zvyšuje pravdepodobnosť dôkazu pôvodcu infekcie
- 8/ odobraté vzorky chrániť pred priamym slnečným žiarením
- 9/ odobratú vzorku označiť menom pacienta, jeho rodným číslom a uviesť lokalizáciu odberu a zaslať do laboratória s úplne vyplnenou žiadankou

Za odber biologického materiálu je zodpovedný ordinujúci lekár!

## Respiračný systém

### Horné dýchacie cesty:

#### a) Výter z nosa

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Sterilný tampón zavedieme skrutkovitým pohybom do dolného nosového priechodu po spodine nosovej dutiny, po vytiahnutí zavedieme tampón nahor do prednej časti nosovej dutiny. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

#### b) Výter z tonzíl

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Sterilným tampónom čo najdôkladnejšie otrieme povrch jednej i druhej mandle. Vykonávame súčasne 3 pohyby: skrutkovite otáčame tampónom okolo jednej pozdĺžnej osi, tampón posunujeme dopredu a dozadu a zároveň zhora nadol po tonzile. Tampón sa nesmie dotknúť koreňa jazyka, preto je potrebné jazyk pritlačiť lopatkou. U pacientov po tonzilektómii vykonáme výter zo zadnej steny faryngu. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

#### c) Výter z nazofaryngu

Odberový materiál: sterilný detoxikovaný vatový tampón na mäkkom drôte

Odber: Tampón možno vytvarovať tak, aby sa dosiahli príslušné oblasti. Koniec tampónu po vytiahnutí ohneme o vnútorný okraj skúmavky v dĺžke 2 – 4 cm do 90° – 110° uhla. Po stlačení jazyka tampón zavedieme na zadný okraj mäkkého podnebia. Tampón otočíme nahor a vejárovitým pohybom otrieme sliznicu v klenbe nazofaryngu. Po vytiahnutí tampón opatrne zasunieme do skúmavky. Pre vyšší zachyt mikroorganizmov sa doporučuje použiť transportné médium. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

## Dolné dýchacie cesty:

### a) Spútum

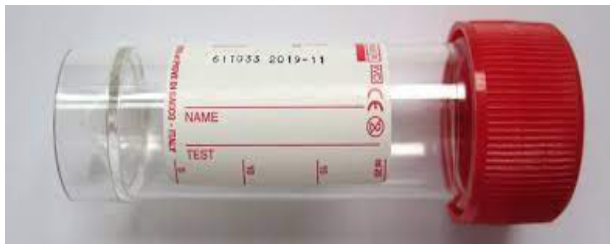
Odberový materiál: sterilná nádoba s uzáverom



Odber: Odoberá sa ranné spútum nalačno. Pred odberom si pacient dôkladne vypláchne ústa čistou pitnou vodou a následne zhlboka zakaše. Vykašľané spútum zachytí do sterilnej nádoby. Pred odberom je kľúčové poučiť pacienta ako správne odobrať spútum. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C pokiaľ bude transport do 30 minút alebo +4 až +10°C pokiaľ bude transport do 4 – 6 hodín

### b) Tracheálny aspirát

Odberový materiál: sterilná nádoba s uzáverom



Odber: Odoberá pomocou odsávačky pri bronchoskopii alebo tracheálnou aspiráciou z intubácie alebo tracheostómie. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C pokiaľ bude transport do 30 minút alebo +4 až +10°C pokiaľ bude transport do 4 – 6 hodín

### c) Bronchoalveolárna laváž (výplach)

Odberový materiál: sterilná skúmavka



Odber: Pomocou bronchoskopu sa vpraví asi 60 ml (u dospelého, primerane menej u dieťaťa) vlažného fyziologického roztoku (pre virologické vyšetrenie do transportného média) do príslušnej časti dýchacích ciest a vhodnou pumpou (alebo striekačkou) sa jemne pomaly odsaje. Potom sa podobne vpraví a odsaje ďalších 60 ml roztoku, ktorý sa dostáva viac do periférie (bronchioly, alveoly). Obe dávky, najlepšie v samostatných označených nádobkách, sa odošlú do laboratória, na virologické vždy v chlade. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C pokiaľ bude transport do 30 minút alebo +4 až +10°C pokiaľ bude transport do 4 – 6 hodín

#### **d) Pleurálny punktát a hnis**

Odberový materiál: striekačka alebo sterilná skúmavka



Odber: Z abscesu sa odoberá a zasiela s ohľadom na možnú anaeróbnú flóru pri zachovaní podmienok anaerobiózy. Z drénovaného empyému sa odoberá vzorka (po očistení ústia katétra) striekačkou, do laboratória sa zasiela obsah druhej striekačky (prvá striekačka obsahuje hnis z katétra). Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

#### **e) Vyšetrenie *Mycoplasma pneumoniae***

Odberový materiál: dakrónový tampón a transportné médium určené na mykoplazmy



Odber: Tampónom sa dôkladne pevným tlakom zotiera zadná stena nazofaryngu. Tampón s odobratým materiálom sa dôkladne vytrepe do tekutého transportného média dodávaného laboratóriom. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

#### **f) Vyšetrenie na priamy dôkaz *Chlamydia pneumoniae***

Odberový materiál: dakrónový tampón a podložné sklíčko pre chlamýdie



Odber: Lopatkou zatlačíme na koreň jazyka a dakrónovým tampónom zotrieme sliznicu epiglottis. Získaný materiál otrieme na podložné sklíčko určené na imunofluorescenčný dôkaz. Po zaschnutí sklíčko vkladáme do priloženého vrecúška a zasielame do laboratória.

## Gastrointestinálny trakt

### a) Výter z konečníka

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Odoberáme najlepšie po stolici. Tampón zavedieme skrutkovitým pohybom do konečníka tak ďaleko, aby sa povrch tampónu znečistil stolicou. Tampón z konečníka opatrným otáčaním vytiahneme. V prípade podozrenia na infekciu spôsobenú *Campylobacter* spp. používame na odber tampón s transportným médiom, príp. stolica v sterilnom odberovom kontajneri (v množstve 2–3 g, t.j. veľkosť lieskového orecha). Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

**b) Stolica na bakteriologické, virologické a parazitologické, príp. mykologické vyšetrenie (vyšetrenie na prítomnosť *H. pylori*, *Giardia*, *Clostridium difficile* toxín, *Campylobacter* Ag, Adenovírus, Rotavírus, Norovírus)**

Odberový materiál: sterilná nádoba so širokým hrdlom



Odber: Stolica sa odoberá v množstve najmenej 2-3 g (asi veľkosť lieskového orecha) alebo v objeme 1 - 3 ml. Zvyčajne nie je potrebné transportné médium (ani na virologické vyšetrenie). Toto vyšetrenie sa nevykonáva z tampónu rekta. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C.

V prípade, že sa stolica nezašle ihneď do laboratória, uskladní sa v chladničke pri +4 až +8°C max. 1 deň

### c) Bioptický materiál na dôkaz *Helicobacter pylori*

Odberový materiál: mikroskúmavka s glukózou



Odber: Materiál sa odoberá zo sliznice žalúdka pri gastroskopii do 20 % glukózy dodanej laboratóriom a okamžite sa transportuje do laboratória.

### d) Žalúdočný obsah

Odberový materiál: sterilná skúmavka



Odber: Odoberieme obsah žalúdka do sterilnej skúmavky. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

## Moč

Odberový materiál: sterilná skúmavka



Odber: Moč odoberáme pri prvom rannom močení. Pred odberom je potrebné očistiť vonkajšie ústie močovej rúry a jej širšie okolie mydlovou vodou (u mužov po stiahnutí predkožky a u žien po oddialení lábií) a následne opláchnuť vodou. Do sterilnej skúmavky zachytíme stredný prúd moču v objeme 5 - 10 ml. U veľmi malých detí je na odber možné

použiť sterilné plastické vrecko, ktoré pripevníme na genitálie po ich predchádzajúcom umytí mydlom a vodou. Vrecko treba ihneď po vymočení odstrániť. Ak nedôjde k vymočeniu do 30 minút celý postup je potrebné zopakovať s novým vreckom.

Cievkovaný moč odoberáme pri jednorazovom cievkovaní močového mechúra za aseptických podmienok po dezinfekcii vonkajšieho ústia uretry. Moč zachytíme do sterilnej nádoby po vyprázdnení asi jednej tretiny predpokladaného objemu močového mechúra (imitujeme stredný prúd moču). Pri zavedenom permanentnom katétri je najvhodnejšie odoberať moč po výmene permanentného katétra. Odber sa robí ako pri jednorazovom cievkovaní. Transport moča a jeho spracovanie je max. do 2 hodín po odbere. Uskladnenie vzorky: +2 až +8°C

## **Infekcie reprodukčného systému**

### **a) Výtery z pošvy, cervixu vonkajších pohlavných orgánov**

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Vykonáva sa tampónom za kontroly pošvovým zrkadlom, odoberá sa materiál zo zadnej pošvovej klenby alebo vonkajšieho ústia krčka matrice. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C. Pre dôkaz *Neisseria gonorrhoeae* je potrebný okamžitý transport do laboratória.

### **b) Výter z uretry**

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Vykonávame ho po očistení ústia uretry sterilnou gázou alebo tampónom a sterilným detoxikovaným tampónom na drôte pomalým zasúvaním a otáčaním tampónu do hĺbky v distálnej časti. Pomalým otáčavým pohybom tampón vyberieme a vložíme do transportného média. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

### **c) Vyšetrenie na priamy dôkaz *Chlamydia trachomatis***

Odberový materiál: dakrónový tampón a podložné sklíčko pre chlamýdie



Odber vzoriek u žien: Pri odbere sterilným tampónom odstránime hlienovú zátku z cervixu. Následne dakrónovým tampónom robíme výter z cervixu rotáciou 10 až 20 sekúnd. Pri odbere sa tampón nemá dotknúť vaginálnej steny. Po odbere otrieme tampón do okienka podložného sklíčka určeného na imunofluorescenčný dôkaz. Po zaschnutí sklíčko vkladáme do priloženého vrecúška a zasielame do laboratória.

Odber vzoriek u mužov: Pacient by nemal pred odberom močiť aspoň 2 hodiny. Odber uretrálneho výteru robíme zasunutím dakrónového tampónu do hĺbky 2 - 4 cm a jeho rotáciou 10 až 20 sekúnd. Po odbere otrieme tampón do okienka podložného sklíčka určeného na imunofluorescenčný dôkaz. Po zaschnutí sklíčko vkladáme do priloženého vrecúška a zasielame do laboratória. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

#### **d) Výter *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum***

Odberový materiál: komerčná odberová súprava určená na toto vyšetrenie



Odber: Tampónom dôkladne zotrieme pevným tlakom sliznicu, pretože mykoplazmy silne adherujú na mukózne bunky. Tampón s odobratou vzorkou dôkladne vytrepeme do tekutého transportného média vo fľaštičke určenej na transport *Mycoplasma/Ureaplasma*, ktoré dodáva laboratórium. Tampón po vytrepaní vyhodíme a do laboratória zasielame transportné médium. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C naočkované transportné médium do 8 hodín alebo najviac do 48 hodín pri +2 až +8°C

#### **e) Sekrét prostaty, hnis (abscesy), plodová voda, ejakulát, operačný materiál**

Odberový materiál: sterilná skúmavka





Odber: Odoberá sa v množstve 1-2 ml. Na bakteriologické vyšetrenie sa zasiela v podmienkach zachovania anaerobiózy, na virologické vyšetrenie bez transportného média a v chlade. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

## **Infekcie kože a podkožia**

### **a) Ster z rán, kožných lézií a povrchových defektov kože**

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Sterilným vatovým tampónom otrieme zápalom zmeneného tkaniva alebo spodinu rany po odstránení nekrotického tkaniva (rozhranie zdravého a zápalového tkaniva). Pri rozsiahlejších ranách vykonávame niekoľko odberov súčasne na rôznych miestach. Pri hnisavých léziách odber do sterilnej injekčnej striekačky – tampón nie je vhodný! Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

### **b) Hnis, punktát, exsudát, transudát**

Odberový materiál: striekačka alebo sterilná skúmavka



Odber: Miesto punkcie alebo incízie treba pred odberom dezinfikovať. Pri odbere z drénu dezinfikujeme koniec drénu 70% alkoholom. Prvú porciu hnisu necháme odtečť alebo odsajeme injekčnou striekačkou. Na vyšetrenie sa zasiela druhá časť hnisu na tampóne v transportnom médiu alebo v sterilnej skúmavke. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

## **Infekcie oka**

### **a) Výter zo spojivkového vaku**

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Po odtiahnutí viečka od očnej gule vytrieme spojivkový vak skrutkovitým pohybom sterilným vatovým tampónom. Vzorky odoberáme separátne z ľavého a pravého oka samostatnými tampónmi. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

## **Infekcie ucha**

### **a) Výter, zoškrab a hnis z vonkajšieho zvukovodu**

Odberový materiál: tampón na tyčinke s transportným médiom alebo bez transportného média



Odber: Robí sa opatrným skrutkovitým zavádzaním tenkého sterilného tampónu do vonkajšieho zvukovodu. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

## **Primárne sterilné telesné tekutiny**

### **a) Ascites, plodová voda, peritoneálny dialyzát**

Odberový materiál: striekačka alebo sterilná skúmavka





Odber: Punktát a aspirát odoberáme po predchádzajúcej dezinfekcii kože nad pungovaným miestom injekčnou striekačkou v množstve cca 1-5 ml. Následne evakuujeme vzduch a koniec striekačky zatavíme. Ak je zavedená drenáž, odber vykonáme tak, že voľný koniec drénu pred odberom dezinfikujeme 70% alkoholom. Potom prvú časť obsahu necháme odtiecť, alebo odoberieme injekčnou striekačkou. Na vyšetrenie posielame až ďalšiu časť sekrétu v sterilnej skúmavke alebo v striekačke v množstve cca 1-5 ml. Zo striekačky evakuujeme vzduch a koniec zatavíme. Hnis, punktáty a aspiráty patologických dutín uprednostňujeme pred výtermi vzhľadom k možnosti mikroskopického vyšetrenia! Vyšetrenie primárne sterilných telesných tekutín v automatickom hemokultivačnom systéme BACTEC zvyšuje úspešnosť záchytu patogénnych mikroorganizmov. Pred odberom vydezinfikujeme gumenú zátku hemokultivačnej nádoby 70 % alkoholom a aspirované tekutiny vstrikneme po výmene ihly do hemokultivačnej nádoby. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

### **Cudzorodý materiál (cievne katétre, kanyly, drény, implantáty)**

Odberový materiál: sterilná skúmavka



Odber: Koniec katétra, či drénu sa asepticky odstrihne sterilnými nožnicami v dĺžke maximálne 5 cm a umiestni do sterilnej nádoby nasucho (nie do skúmavky s transportnou pôdou!). Pri podozrení na infikovaný katéter a možnú nozokomiálnu infekciu sa vždy pošle po odstránení odstrihnutý koniec kanyly, resp. katétra na kultivačné vyšetrenie. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

### **Vyšetrenie krvi**

Odberový materiál: špeciálne odberové hemokultivačné nádoby BACTEC na aeróbnú, anaeróbnú, pediatrické hemokultivačné nádoby BACTEC



Odber: Baktérie sa z ložiska vyplavujú asi 1 hodinu pred začiatkom triašky a zvyšovania teploty. Na odbery sú k dispozícii rôzne nádoby. Objem krvi pre Bactec: dospelí minimálne 10 ml, pre deti: podľa hmotnosti 2 – 5 ml. Nedostatočný objem znižuje pravdepodobnosť záchytu pôvodcu. V prípade podozrenia na bakterémiu vyvolanú anaeróbnymi mikroorganizmami použijeme nádobku na hemokultiváciu anaeróbných mikroorganizmov. Odbery vzoriek robíme podľa teplotnej krivky a pri triaške. Odoberajú sa minimálne 2 hemokultúry. Odber jednej hemokultúry je neštandardným postupom. Prvú vzorku odoberieme na začiatku stúpania teploty. Najvhodnejší je odber 1 hodinu pred očakávaným max. vzostupom teploty. Druhú vzorku krvi odoberieme po hodine. Ak bola zahájená ATB terapia, odoberáme krv pred podávaním antibakteriálneho lieku.

Technika odberu: Kožu v mieste vpichu dezinfikujeme 70% alkoholom. Po odtrhnutí krytu uzáveru na odberovej nádobke dezinfikujeme povrch gumovej zátky. Detoxikovaným tampónom urobíme po dezinfekcii kože ster v mieste vpichu, ktorý zašleme spolu s hemokultúrou do laboratória. Odoberieme vzorku krvi, vymeníme ihlu na striekačke a jej obsah inokulujeme do príslušných hemokultivačných nádobiek. Po odbere nádobku premiešavame asi 3 minúty aby sa krv nezrazila. Štítok s menom pacienta sa lepí na prázdne políčko, nie cez čiarový kód. Na žiadanku uvedieme aj čas odberu. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C, odoslať čo najskôr do laboratória. Hemokultúru nikdy nedávať do chladničky!

## **Infekcie centrálného nervového systému**

Odberový materiál: sterilná skúmavka



Odber: Likvor sa odoberáme lumbálnou alebo subokcipitálnou punkciou a z punkčnej ihly necháme samovoľne odkvapkať do sterilnej skúmavky bez transportného média, minimálne 1 ml až 5-10 ml. Nesmieme odoberať likvor podtlakom do sterilnej striekačky!

Do mikrobiologického laboratória sa transportujeme okamžite pri izbovej teplote (cca 22 °C!). Ak nie je možné zabezpečiť doručenie likvoru do 60 minút po odbere, je potrebné ho uskladniť pri izbovej teplote na tmavom mieste.

Nikdy nedávame odobratý likvor na bakteriologické vyšetrenie do chladničky!

### **Krv na sérologické vyšetrenie (stanovenie antimikrobiálnych protilátok alebo mikrobiálnych antigénov)**

Odberový materiál: krvná skúmavka so seraparačným gélom



Odber: Krv sa odoberá venepunkciou v množstve podľa počtu požadovaných vyšetrení, najčastejšie cca 5 ml (u detí po dohovore s príslušným laboratóriom aj menej), po zrazení pri izbovej teplote sa odošle do laboratória. Ak nie je možné doručiť vzorku krvi do laboratória v deň odberu, je potrebné po mechanickom uvoľnení koagula krv scentrifugovať a asepticky separované sérum odoslať do laboratória.

### **Odbery biologického materiálu na parazitologické vyšetrenia**

#### **a) Stolica na parazitologické vyšetrenie**

Odberový materiál: sterilná nádoba so širokým hrdlom



Odber: Čerstvú stolicu v objeme 3 - 5 ml (veľkosť lieskového orecha) odoberáme 3-krát za sebou (optimálne každý druhý deň). Pri suspektnej amebióze je potrebné doručiť stolicu do laboratória na vyšetrenie čo najrýchlejšie. Na žiadanku je dobré uviesť prípadnú cestovateľskú anamnézu. V prípade negatívneho laboratórneho nálezu alebo pretrvávajúcich príznakov svedčiacich o parazitóze, odoberáme materiál na vyšetrenie ešte 2-krát vždy po 4 až 7 dňoch. Uskladnenie vzorky: +2 až +8°C

#### **b) Perianálny zlepek**

Odberový materiál: podložné sklíčko s priehľadnou lepiacou páskou



Odber: Robí sa hneď ráno po prebudení (pred rannou toaletou). Perianálna oblasť sa neumýva pred odberom ani v predchádzajúci večer. Na dôkaz vajíčok *Enterobius vermicularis* metódou podľa Grahama sa používa priehľadná lepiaca páska dlhá asi 4 cm, ktorá sa pritlačí lepiacou stranou na perianálnu oblasť páska, opatrne sa stiahne a preniesie lepiacou stranou nadol na podložné sklíčko (bez vzduchových bublín!). Vzhľadom k nepravidelnému vylučovaniu vajíčok parazitujúcimi samičkami je na vyšetrenie potrebné odobrať minimálne 3 vzorky s odstupom aspoň 1 dňa. Štítok s menom pacienta sa lepí na okraj sklíčka, nie uprostred. Uskladnenie vzorky: +20 až +25°C

Vypracovala: RNDr. Silvia Jágerová, MPH