

MANIPULACE S BIOLOGICKÝM MATERIÁLEM

MUDr. Rastislav Mařar, Ph.D.¹, RNDr. Renata Podstatová²

¹Zdravotně sociální fakulta OU Ostrava

²Fakultní nemocnice Olomouc

Správná manipulace s biologickým materiálem je významným faktorem nejenom ve snaze o co nejpřesnější mikrobiologickou diagnostiku vedoucí k včasné a cílené terapii, ale i z hlediska prevence nozokomiálních a profesionálních nákaz. Krev i jiné druhy biologického materiálu mohou být vehikulem přenosu významných, potenciálně život ohrožujících infekčních nemocí jako např. virová hepatitida B a C nebo HIV infekce. Důležité je, aby při odběru a následné manipulaci nedošlo ke kontaminaci materiálu, prostředí ani zdravotnického personálu. S biologickým materiálem je vždy nutno nakládat jako s infekčním. Transport materiálu ke kultivačnímu vyšetření má být co nejrychlejší. Každá prodleva zmenšuje možnost diagnostiky, zejména v případě růstově náročných bakterií. Zdravotnický pracovník by měl v zájmu zdraví pacienta i svého vlastního postupovat za každých okolností „lege artis“ a respektovat nejnovější poznatky oboru.

Med. Pro Praxi 2006; 4: 201–202

Úvod

Správná manipulace s biologickým materiálem, jeho skladování, transport a likvidace jsou významné nejenom z hlediska prevence nozokomiálních infekcí i profesionálních nákaz, ale jsou důležitými faktory i pro diferenciální diagnostiku a volbu vhodného léčebného přístupu k pacientovi. Každá z těchto čtyř složek má svá specifika a pro celkový úspěch je stejně důležitá. Správný odběr, skladování a transport materiálu k mikrobiologickému vyšetření umožňují jeho vyšetření podle zásad správné laboratorní praxe, odpovídající klinickou interpretaci a stanovení diagnózy. Včasná a přesná diagnostika přináší volbu optimálního schéma terapie a rychlé nasazení úzkospektrého ATB, což má pozitivní následky jak pro pacienta (zkrácení bolesti a strádání pacienta, prevence dalších komplikací), tak pro ekonomiku zdravotnického zařízení (3).

Vzhledem k možné přítomnosti původců nákaz v biologickém materiálu je nutné podle § 62 odst. 3c zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví (6), ve znění pozdějších předpisů, při manipulaci s biologickým materiálem „zacházet tak, aby nebylo ohroženo zdraví fyzických osob přicházejících s ním do přímého styku“.

Zásady pro odběr biologického materiálu

K odběru biologického materiálu se používají pouze sterilní nástroje, sterilní pomůcky a jednorázové rukavice, a to vždy pro každou ošetřovanou osobu (5). Rukavice musí splňovat technické požadavky na osobní ochranné prostředky, prostupnost musí odpovídat je-

jich použití a míře rizika biologických činitelů, jejich síla nesmí výrazně omezit citlivost rukou.

Odběr biologického materiálu je potřebné vhodně načasovat z hlediska patofyziologického průběhu infekce. Nejvhodnější je odebrat materiál v akutním stádiu infekčního onemocnění, před zahájením léčby chemoterapeutiky nebo antibiotiky. V případě sérologických vyšetření se odebírá ještě druhý vzorek, a to jeden až tři týdny po odběru prvního vzorku na posouzení dynamiky titru protilátek, jinak dle potřeby.

Správný odběr biologického materiálu musí být proveden „lege artis“ a za aseptických podmínek. Odběry lze provádět pouze v příjmové místnosti, na ploše vyčleněné pro odběr nebo u lůžka pacienta. Po odběru je řádně označená odběrová nádoba s biologickým materiálem uložena do dekontaminovatelného přepravního obalu a centrálním svozem odvezena do příslušné laboratoře, v případě „statim“ vyšetření ihned odnesena do laboratoře. Odběrová a transportní souprava musí splňovat následující základní požadavky (1):

- umožnit odběr vzorku,
- zajistit přežívání mikroorganismů do doby, než dojde ke zpracování vzorku v mikrobiologické laboratoři,
- ochránit vzorek před vnější kontaminací,
- ochránit vnější prostředí před kontaminací vzorkem (splnění tohoto požadavku bývá opomíjeno, řešení problematiky antraxu ukázalo, že transportní systém, splňující tyto požadavky, je složitý a není běžně dostupný),

- umožnit jednoznačnou identifikaci vzorku a přenos nezbytných dat informačními systémy.

Žádanka musí obsahovat jméno, příjmení, rodné číslo, klinickou diagnózu a zdravotní pojišťovnu vyšetřované osoby, identifikační číslo zdravotnického zařízení a jeho adresu, jmenovku, podpis a telefon lékaře, žádajícího o vyšetření biologického materiálu. Velmi důležité je jednoznačně označit druh materiálu, lokalizaci, ze které byl odebrán, jaké vyšetření je požadováno, jakými antibiotiky je pacient v současné době léčen, datum a hodinu odběru, datum prvních příznaků infekčního onemocnění, případně další významné údaje. Neidentifikovatelný materiál je prakticky bezcenný. Jinak se hodnotí například nález *Haemophilus influenzae* ve výtěru z krku u malého dítěte s laryngitidou oproti nálezu stejného mikroba u dospělého člověka s virózou (3).

Tekutý biologický materiál (moč, krev, likvor, hnís, sputum a další tělesné tekutiny či tkáně v tekutém stavu) se odebírají do sterilní nádoby v dostatečném množství (min. 0,5–1 ml, pro sérologické vyšetření se odebírá 3–5 ml plně srážlivé krve). Důležité je, aby nádoba dobře těsnila a nemohlo dojít ke kontaminaci materiálu nebo naopak prostředí a zdravotnického personálu. Odběrové soupravy jsou většinou komerčně vyráběné sterilní zkumavky nebo kontejnery z plastu na jedno použití (některé obsahují i kultivační půdu).

Pro tuhý biologický materiál (tkáně, stolice apod.) platí stejná pravidla odběru jako pro tekutý materiál. Odběrové soupravy jsou většinou komerčně vyráběné sterilní zku-

Obrázek 1. Zpracování biologického materiálu



Obrázek 2. Vyšetřování biologického materiálu



Obrázek 3. Správně označené vzorky biologického materiálu



mavky nebo kontejnery z plastu na jedno použití. Pro odběry stolice jsou speciální kontejnery s lopatičkou na vnitřní straně uzávěru, u kterých není požadavek na sterilitu.

Výtěry slouží k odběru malého množství materiálu nebo tam, kde není možno odebrat materiál jiným způsobem. Základní výtěrovkou je sterilní špejle nebo drát, na jehož konci je namotán chomáček vaty. Výtěrovka může být nasycena aktivním uhlím a je uchovávána v plastové zkumavce nebo plastovém obalu. Před odběrem je vhodné namočit vatový konec ve sterilním fyziologickém roztoku, aby se zabránilo vyschnutí a odumření zachycených bakterií během transportu do laboratoře. Dražší, ale z hlediska zachytu bakterií výhodnější, jsou výtěrovky s transportním kultivačním polotuhým médiem. Tyto není nutné před použitím zvlhčovat a kultivační půda zlepšuje možnosti přežití transportu u většiny citlivých a kultivačně náročných bakterií. Z klasické výtěrovky nelze udělat mikroskopický preparát, protože by se znehodnotila pro kultivaci v tekutých kultivačních půdách.

Průkaz nukleových kyselin v rámci genetického vyšetření je možno provádět prakticky v jakémkoliv materiálu, který na rozdíl od kultivačních vyšetření nemusí obsahovat živého původce. Naopak transportní systémy s kultivační půdou jsou nevhodné, protože mohou zahrnovat inhibitory polymerázových reakcí. Pro průkaz nukleových kyselin v krvi je nutné odebrat nesrážlivou krev. Jako odběrové soupravy se používají běžné systémy pro odběr krve.

Zásady pro transport a skladování biologického materiálu

S biologickým materiálem je při transportu nutno nakládat jako s infekčním materiálem! Vzorky musí být dokonale zabalené, většinou ve dvojitém obalu (ochranný a dekontaminovatelný transportní obal), aby nedošlo k poškození nebo rozbíjení. Optimální je organizovaný pravidelný svoz sanitním vozem.

Obecně platí, že transport materiálu ke kultivačnímu vyšetření má být co nejrychlejší. Každá prodleva zmenšuje možnost diagnostiky, zejména v případě růstově náročných bakterií. Relativně nejlépe vydrží mikroorganismy podmínky a dobu transportu v tekutém materiálu a hemokulturách. Tuhý materiál a tkáně časem osychají. Tomu lze zabránit transportem ve fyziologickém roztoku. Při malém počtu bakterií tím ale může dojít k jejich vyplenění a falešně negativní mikroskopii. Nejvíce citlivé na dobu transportu jsou výtěry bez transportního média, doba od odběru materiálu po zpracování v laboratoři by neměla přesáhnout dvě hodiny. Transportní médium umožňuje přežívání většiny bakterií, uplatňujících se v patogenezi bakteriálních infekcí, v závislosti na jejich odolnosti a růstových vlastnostech. V každém případě by doba skladování a transportu výtěru neměla přesáhnout 24 hodin při pokojové teplotě (1).

Většina bakterií, podílejících se na patogenních procesech u člověka, snáší bez problémů tep-

lotu 4–8 °C. Snížení teploty zpomalí jejich metabolické procesy a bakterie lépe vydrží nepříznivé podmínky. Bohužel, některé bakterie (např. *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis* apod.) mohou již při této teplotě hynout. Naopak vyšší teplota (25–30 °C) může v prostředí s dostatkem živin způsobit přemnožení některých bakterií, které jsou součástí běžné flóry a potlačit patogenní původce.

Pro skladování dalších druhů biologického materiálu platí tato pravidla:

- Moč – jakékoliv skladování je nevhodné. Při transportu je nutné pokud možno udržet nízkou teplotu.
- Sputum, bronchoalveolární laváž – uchovávat při teplotě 4–8 °C. Vyšší teplota může způsobit přemnožení kontaminujících bakterií.
- Hemokultura – skladování i transport jsou nejvhodnější při pokojové teplotě. Nízká teplota je v těchto případech nevhodná – prodlužuje dobu následné kultivace a tím i čas detekce pozitivní hemokultury.
- Likvor – vzhledem k důležitosti materiálu by se co nejdříve měl dopravit do laboratoře, která je schopna jej zpracovat. Pro transport je nejvhodnější pokojová teplota, příliš nízká teplota by mohla negativně ovlivnit kultivaci *Neisseria meningitidis*.
- Hnis, putridní materiál, nekrotické tkáně – uchovávat při teplotě 4–8 °C. Případná přítomnost koliformních bakterií by mohla být při vyšší teplotě příčinou kvasných procesů s tvorbou plynu a způsobit porušení obalu, kontaminaci odebraného materiálu i okolí.
- Stolice – uchovávat při teplotě 4–8 °C z důvodů velmi vysokého rizika kvasných procesů a výše uvedených následků.

Odběr, skladování a transport biologického materiálu představují proces, který má své časové omezení. Je nevhodné odebrat např. moč nebo výtěr z krku v pátek odpoledne s tím, že se do laboratoře ke zpracování dostane až v pondělí. I v případě, že by materiál ještě byl schopen kultivace, ztrácí toto vyšetření pro pacienta význam, protože již není aktuální. Klasické kultivační vyšetření trvá minimálně dva dny a v době dodání výsledků může být mikrobiologická situace pacienta změněná a také klinický stav pacienta již nemusí vyžadovat indikaci antibiotické léčby.

Prevence profesionálních nákaz

Správná manipulace s biologickým materiálem je významná nejen z hlediska včasné a adekvátní léčby

infekčních i neinfekčních nemocí u pacientů, ale i pro prevenci vzniku profesionálních a nozokomiálních nákaz. Krev i jiné druhy biologického materiálu mohou být vehikulem přenosu významných, potenciálně život ohrožujících infekčních nemocí jako např. virová hepatitida B a C nebo HIV infekce. Po kontaminaci místa narušeného kožního krytu nebo sliznice biologickým materiálem je nutno tyto osoby sledovat po maximální inkubační dobu dané nemoci a realizovat zvýšený zdravotní dohled sledováním příslušných markerů infekce – např. anti-HAV IgM po dobu dvou měsíců, HbsAg a antiHBcAg IgM po dobu šesti měsíců, stejně jako protilátky anti-HCV. Anti-HIV 1,2 se sledují v období 43–56 dní a možné je i sledování poškození jaterního parenchymu (enzym ALT) po dobu šesti měsíců (2, 4). V prevenci profesionální nákazy je po kontaminaci biologickým materiálem v závislosti na míře rizika infekce navíc u zdravotnických pracovníků možná postexpoziciční aplikace normálního lidského imunoglobulinu v prevenci virové hepatitidy A a specifického imunoglobulinu (Hepatec) proti virové hepatitidě B. U obou těchto nemocí je možná i prevence i aktivní imunizací. V případě kontaminace biologickým materiálem s obsahem viru HIV se doporučuje co nejrychlejší zahájení postexpoziciční chemoprophylaxe užíváním kombinace antiretrovirových léků. Úplně prvním krokem při kontaminaci biologickým materiálem, ať už s poraněním nebo bez něho, je místo dobře umýt vodou a mýdlem a aplikovat antiseptický virucidní prostředek (např. roztok Braunolu, Softaseptu, Cutaseptu apod.).

Závěr

Únava, stres, vysoký počet pacientů, velká množství různorodých činností v krátkém čase, značná míra odpovědnosti, to jsou faktory, které často zasahují do našeho pracovního života a nutí nás reagovat změnou zavedených pracovních návyků a zkracováním času jejich trvání. Manipulace s biologickým materiálem je však z uvedených důvodů velmi závažnou činností a její výkon by proto neměly negativně ovlivnit vnější tlaky. Zdravotnický pracovník by měl v zájmu zdraví pacienta i svého vlastního postupovat za každých okolností „lege artis“ a respektovat nejnovější poznatky oboru.

MUDr. Rastislav Maďar, Ph.D.
ZSF OU Ostrava
Syllabova 19, 703 00 Ostrava
e-mail: Rastislav.Madar@jfmmed.osu.cz

Literatura

1. Bolek S et al. Dezinfekce, sterilizace a režim v prevenci nozokomiálních nákaz. Praha: Avicenum 1984: 85–136.
2. Guidance on occupational infection with blood-borne viruses for health-care workers in remote sites or installations. London: Energy Institute 2005: 19.
3. Kolář M, Látl T, Čermák P. Klinicko-mikrobiologické podklady racionální antibiotické léčby. Praha: Trios 2002.
4. Šrámová H. Rizika a prevence poranění pracovníků ve zdravotnictví. Urologie pro praxi 2004; 1: 20–24.
5. Vyhláška MZ ČR č. 195/2005 Sb., kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické podmínky na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče.
6. Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů.