

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 1 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 1
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## **Příručka pro odběr primárních vzorků**

Laboratoře CEM (LCEM) provádějí široké spektrum vyšetření pro diagnostiku původců infekčních onemocnění a protilátkové odpovědi na tato onemocnění. Zjišťují citlivost na antibiotika a chemoterapeutické preparáty a poskytují klinické a epidemiologické interpretace těchto nálezů. Jedná se o bakteriologická, virologická, parazitologická, sérologická, elektronmikroskopická a molekulárně biologická vyšetření.

Některé laboratoře LCEM (např. NRL pro AIDS, NRL pro virové hepatitidy, NRL pro chřipku, NRL pro nechřipkové respirační viry, NRL pro enteroviry, NRL pro meningokokové nákazy a další) provádějí vyšetření v rámci epidemiologické surveillace a pravidelných sérologických přehledů.

Odběr primárních vzorků pro laboratorní vyšetření obecně provádějí pracovníci zdravotnických zařízení (zákazníci), kteří tato vyšetření požadují. Při odběru se řídí návody pro specifická vyšetření, která pro jednotlivé pacienty ordinují (viz dále v této příručce). Příprava pacienta pro odběr vzorku spolu se získáním jeho informovaného souhlasu s vyšetřením je rovněž povinností klinického pracovníka, který v této oblasti konzultuje příslušné laboratorní pracovníky. Uvedený proces zajišťuje optimální podmínky pro vyšetření ve prospěch pacienta. Pro klinické pracovníky jsou rovněž závazné návody pro transport vzorků do laboratoře. Tyto návody jsou uvedeny detailně podle infekčních agens, event. protilátek proti těmto agens, jejichž průkaz je v primárním vzorku požadován. Kliničtí pracovníci také odpovídají za správné vyplnění formuláře žádosti (žádanky) a označení primárních vzorků štítky pro jednoznačnou identifikaci pacienta. Na žadance o vyšetření musí být rovněž uvedeny základní klinické informace o pacientovi, datum odběru a záznam totožnosti osoby provádějící odběr primárního vzorku. Vyšetřovací laboratoře sledují transport primárních vzorků do laboratoře tak, aby byla zaručena jejich doprava v čase a rozmezí teplot odpovídajícím povaze požadovaných vyšetření. Pokud transport neproběhne za doporučených podmínek (viz dále), může dojít k nežádoucímu ovlivnění výsledku zkoušky. Vyšetřovací laboratoř má právo vyšetření vzorku buď odmítnout nebo upozornit zákazníka na omezenou validitu zkoušky.

Odběr primárních vzorků provádí jen výjimečně sama vyšetřující laboratoř. Jedná se o NRL pro chřipku a NRL pro nechřipkové respirační viry, které provádějí odběry nazofaryngeálních výtěrů v rámci surveillace akutních respiračních infekcí (ARI) s cílem zjišťovat cirkulaci jednotlivých virových respiračních agens v dětské i dospělé populaci. Výsledky vyšetření pak slouží jak pro epidemiologické analýzy, tak pro diagnostiku a terapii vyšetřovaných pacientů. Tyto odběry se uskutečňují na dvou externích pracovištích – ambulancích zdravotnických zařízení v Praze 10. Přípravu pacientů pro tyto odběry provádějí kliničtí pracovníci (lékaři) těchto ambulančí podle stanovených pravidel (viz předchozí odstavec). Vlastní odběry pak provádějí pracovníci NRL pověřeni k této činnosti podle příslušného SOP.

NRL pro AIDS, NRL pro virové hepatitidy a NRL pro diagnostiku syfilis jsou pověřeny zákonným ustanovením k provádění konfirmačních testů, které potvrzují nebo vyvracejí pozitivitu u primárně reaktivních nálezů získaných v terénních vyšetřovacích laboratořích. K provádění konfirmačních testů používají vzorky zaslané z těchto vyšetřovacích laboratoří. NRL/AIDS, NRL/VH a NRL/SYF mají pro konfirmační testování standardní postupy (SOP) včetně speciálních žadankových formulářů. S požadavky na konfirmační testy jsou všechny vyšetřovací laboratoře seznámeny a podle nich postupují při předávání reaktivních vzorků k vyšetření.

Seznam akreditovaných zkoušek (vyšetření), které jsou prováděny v LCEM shrnuje tabulka (viz str.14 – 19). Se seznamem zkoušek jsou zákazníci LCEM (zdravotnická zařízení) seznámeni na hlavní domovské stránce Centra epidemiologie a mikrobiologie Státního zdravotního ústavu: [www.szu.cz/cem/hpcem.htm](http://www.szu.cz/cem/hpcem.htm)

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 2 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 2
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## **A. Obecná pravidla pro odběr a transport primárních vzorků pro bakteriologické vyšetření:**

### **1. Sérologické vyšetření protilátek** (infekce mykobakteriemi, hemofily, streptokoky, pneumokoky, meningokoky, yersiniemi, lymeskou borreliózou, chlamydiemi, syfilis)

#### **1.1 Odběr krve pro sérologické vyšetření**

Pro sérologické vyšetření se odebírá žilní krev bez použití protisrážlivých prostředků s dodržováním všech bezpečnostních pravidel (dezinfekce místa vpichu, stříkačky a jehly pro jedno použití, rukavice pro jedno použití pro odebírající personál). Odběr by se měl provádět nejlépe ráno nalačno za aseptických podmínek. Krev se odebírá do sterilních zkumavek na jedno použití (event. s aktivátorem hemokoagulace) v množství 3-7 ml podle požadavků vyšetřující laboratoře. Krev by neměla být hemolyzovaná nebo chylózní. Dobře uzavřené zkumavky se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.

**Pozn.:** a) při podezření na selhání Hib vakcíny (u invazivního Hib onemocnění dětí očkovaných Hib vakcínou) se odebírají 2 následné vzorky sér po 1 ml (akutní sérum - odebrané co nejdříve po začátku onemocnění a rekonvalescentní sérum – odebrané za 14 a více dnů po začátku onemocnění)

b) o patologické hladině streptokokových protilátek (ASO, ADNB) je možné se vyjádřit pouze vyšetřením dvou vzorků od téhož jedince ve vhodném časovém odstupu (3-4 týdny). První vzorek může být odebrán již koncem prvního týdne po začátku onemocnění (retrospektivní průkaz tonzilofaryngitidy) nebo ihned při podezření na poststreptokokový sterilní následek

c) pro průkaz vzestupu antipneumokokových postvakcinačních protilátek je zapotřebí dvou vzorků sér (odběr před zahájením imunizace a 3-4 týdny po jejím ukončení).

#### **1.2 Žádanka o vyšetření**

Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření, která obsahuje informace postačující pro identifikaci pacienta a oprávněného žadatele a poskytuje odpovídající klinické údaje. Žádanka obsahuje následující údaje:

- jednoznačnou identifikaci pacienta
- jméno a adresu pracoviště lékaře oprávněného požadovat vyšetření nebo používat lékařské informace předurčené pro výslednou zprávu laboratoře včetně IČZ a kódu odbornosti pracoviště
- druh primárního vzorku
- požadované vyšetření
- příslušné klinické informace o pacientovi nutné pro volbu vhodných vyšetřovacích metod a pro interpretaci výsledku vyšetření
- datum odběru primárního vzorku

#### **1.3 Transport vzorku do laboratoře**

Zkumavka s odebranou plnou krví se obalí savým materiálem (buničitá vata apod.) k zachycení event. úniku krve a uloží se do pevného transportního kontejneru (termobox). Plná krev se může skladovat před doručením do laboratoře nejdéle 24 hodin při pokojové teplotě nebo 72 hodin při teplotě +2 - +8°C. Nelze-li dodržet tuto podmínku, je nutno po sražení krve oddělit sérum od krevního koláče a do laboratoře zaslat jen oddělené sérum. Sérum je možno skladovat při teplotě +2 - +8 ° C max. 5 dní. Sérum je možno před transportem zamrazit a dlouhodobě skladovat při teplotě -20° C ± 5°C. Tato teplota musí být dodržována až do vyšetření vzorku.

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 3 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 3
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## 2. Průkaz bakteriálního agens

### 2.1 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz střevních bakterií a stafylokoků

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>stolice</b>	odebírání se tamponem na tyčince z umělé hmoty, kterou zavedeme do konečníku 1 – 2 cm hluboko. Tampon po odběru zasuneme do transportního media (např. AMIES) ve sterilní zkumavce s uzávěrem	do odeslání max. 4 hod. při +2 - +8°C, transport do 24 hod. při +2 - +8°C nebo při pokojové teplotě
<b>moč</b>	po omytí zevního ústí uretry se odebírání střední proud nejlépe ranní moče nebo cévkovaná moč (event. z permanentního katétru) do sterilní umělohmotné nádobky (kontejneru) se šroubovacím víčkem	do odeslání max. 4 hod. při +2 - +8°C, transport do 12 hod. při +2 - +8°C nebo do 2 hod. při pokojové teplotě
<b>výtěr z pochvy, výtěr z rány, stěr z kůže</b>	odebírání se na sterilní transportní tampon s médiem (AMIES, STUART). Větší množství materiálu odebereme do sterilní zkumavky nebo kontejneru	do odeslání max. 4 hod. při +2 - +8°C, transport do 24 hod. při +2 - +8°C nebo při pokojové teplotě

*Dobře uzavřené nádobky s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

### 2.2 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz vyvolavatele lymeské borreliózy a ehrlichiozy (*Borrelia burgdorferi sensu lato, Ehrlichia*)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>nesrážlivá krev pro získání plazmy</b>	5 ml krve (odběr dle kap. 1.1) <b>do zkumavky s antikoagulačním činidlem</b> (citrát, EDTA)	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při pokojové teplotě, pro vyšetření v PCR max. 8 hod.
<b>likvor</b>	min. 3 ml bez aditiv	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C, pro vyšetření v PCR max. 8 hod.
<b>punktát (synoviální, kardiální)</b>	min. 3 ml	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C, pro vyšetření v PCR max. 8 hod.
<b>tělní tekutiny, tkáně (pro kultivaci)</b>	min. 2 ml tělní tekutiny či vzorek tkáně o velikosti 2 mm <sup>3</sup> , odebírat do speciálních médií (např. BSK)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při pokojové teplotě
<b>tkáně (pro PCR)</b>	vzorky o velikosti 2 mm <sup>3</sup> , odebírat do fyziologického roztoku	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C
<b>tkáně bioptické a autoptické (pro ELM)</b>	vzorky o velikosti 2 mm <sup>3</sup> , odebírat do glutaraldehydu	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při pokojové teplotě

Primární vzorek musí být odebrán za aseptických podmínek do sterilní plastové šroubovací zkumavky na specializovaných pracovištích.

Jednotlivý primární vzorek se odebírání vždy pouze pro vyšetření v jedné metodě a je provázen samostatnou žádankou o vyšetření.

*Dobře uzavřené nádobky s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 4 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 4
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

### 2.3 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz mykobakterií

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>sputum</b>	odběr ráno, nalačno, před hygienou ústní dutiny. Je nutné nemocného upozornit, aby před odběrem několikrát zakašlal se zavřenými ústy. K odběru je vhodná sterilní umělohmotná nebo skleněná nádobka se širokým hrdlem. Množství 2-5 ml sputa, ne sliny. Opakovat ve 3 po sobě následujících dnech	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>bronchoalveolární laváž</b>	odběr podle metodického návodu pro obor TRN, provádí se pouze ve specializovaných pneumologických zařízeních	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>žaludeční výplach</b>	odběr nalačno žaludeční sondou. Objem 50-100 ml, získá se natažením do sterilní stříkačky. Zpracovat nejpozději do 4 hodin po odběru, není-li možné tento interval dodržet, je nutné vzorek neutralizovat roztokem uhličitanu nebo fosforečnanu sodného (10 g na 100 ml sterilní destilované vody). Odběr na gastroenterologických odděleních	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>moč</b>	odběr ráno, střední proud moči, do sterilní nádoby se širokým hrdlem, v množství 50-100 ml. Opakovat 3 po sobě následující dny	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>likvor, pleurální výpotek, punktát</b>	odběr v množství 3-5 ml za aseptických podmínek na specializovaných pracovištích	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>výtěry a stěry z píštělí, hnisavých procesů a ran</b>	odběr se provádí třemi (ve sterilní destilované vodě zvlhčenými) laryngeálními sondami. Pokud je z postiženého místa možné získat tekutý materiál, odebírá se do injekční stříkačky	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>menstruační krev</b>	odebírání se v prvních 3 dnech menstruace na sterilní tampón z gázy, který je do pochvy zaveden nejméně na 3 hodiny. Po vynětí se ve sterilní Petriho misce předá do laboratoře ke zpracování	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>stolice</b>	odběr do parazitologických zkumavek s lopatičkou, vzorek velikosti lískového oříšku	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>bioptický a sekční materiál</b>	odběr vzorku tkáně o velikosti cca 2 cm <sup>3</sup> do sterilní nádoby. K tkáni nesmí být přidán žádný fixační ani konzervační prostředek	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením
<b>laryngální výtěr</b>	pro svou malou citlivost a vysoké riziko infekce při odběru používán velmi zřídka. Odběr ráno nalačno, před provedením hygieny ústní dutiny. Jeden vzorek představují 3 laryngeální tampónové sondy z chrommolybdenového drátu, které jsou před odběrem ponořeny do sterilní destilované vody a po odběru zasunuty zpět do zkumavky. Odběr se provádí na spec. pracovištích	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C – chránit před slunečním a germicidním zářením

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 5 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 5
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

#### 2.4 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz *N.meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* (identifikace DNA)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
likvor	0,5 - 1 ml za aseptických podmínek do sterilní plastové šroubovací zkumavky	do odeslání max. 48 hod. při -20°C ± 5°C, transport do 12 hod. v kontejneru se suchým ledem (při rychlém dodání kurýrem stačí ledová tříšť)
nesrážlivá krev pro získání plazmy plná krev	5 ml krve (odběr dle kap. 1.1) <b>do zkumavky s antikoagulačním činidlem</b> (citrát sodný) 4,5 ml + 0,5 ml citrátu sodného	do odeslání max. 48 hod. při +2 - +8°C, transport do 12 hod. při pokojové teplotě
sérum	0,5 ml asepticky do sterilní plastové šroubovací zkumavky	do odeslání max. 48 hod. při +2 - +8°C, transport do 12 hod. při pokojové teplotě
bronchoalveolární laváž (BAL)	0,5 ml asepticky do sterilní plastové šroubovací zkumavky	do odeslání max. 48 hod. při +2 - +8°C, transport do 12 hod. při pokojové teplotě
hrudní výpotek	0,5 ml asepticky do sterilní plastové šroubovací zkumavky	do odeslání max. 48 hod. při +2 - +8°C, transport do 12 hod. při pokojové teplotě

Primární vzorky je možné odebrat do 3. – 4. dne po zahájení léčby antibiotiky.

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

#### 2.5 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz beta-hemolytických streptokoků skupiny A z výtěrů horních cest dýchacích

Pro mikrobiologickou diagnostiku tonzilofaryngitidy vyvolané streptokoky skupiny A, případně nosičství, je vhodné odebrat současně výtěr z tonzil a nosu (zvýšení záchyty).

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
výtěr z tonzil	za použití tampónu, který je součástí transportního systému (AMIES, STUART), se provede výtěr z tonzil pod zrakovou kontrolou pomocí špátle stlačující kořen jazyka. Tampón se nasadí na dolním pólu jedné tonzily a posunuje se valivým pohybem po celé ploše povrchu tonzily na druhou tonzilu od horního pólu k dolnímu, aniž se odebírající dotkne kořene jazyka. U povlaků lpících pevně na spodině se provede stěr nikoli z povrchu povlaků, ale z jejich okrajů. Tampón s odebraným materiálem se zanoří do transportního média a zkumavka se uzavře	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při pokojové teplotě - chránit před slunečním zářením
výtěr z nosu	tampón, který je součástí transportního systému (AMIES, STUART), se zavede do obou nosních průduchů asi 1-2 cm hluboko a rotačním pohybem se otře nosní sliznice. Tampón s odebraným materiálem se zanoří do transportního media a zkumavka se uzavře	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při pokojové teplotě - chránit před slunečním zářením

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 6 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 6
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## 2.6 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz chlamydií

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>nazofaryngeální výtěr</b>	suchým sterilním tamponem, který se zalomí do sterilní zkumavky s odběrovým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C
<b>konjunktivální stěr- průkaz antigenu</b>	suchým sterilním tamponem, zhotovení otiskového preparátu na imunofluorescenční sklíčko (oči před vyšetřením nijak nevymývat a nerozkapávat)	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C
<b>konjunktivální stěr- PCR</b>	suchým sterilním tamponem, zalomt do sterilní zkumavky s odběrovým médiem <sup>(1)</sup> (oči před vyšetřením nijak nevymývat a nerozkapávat)	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C
<b>BAL, výpotek, aspirát, sputum</b>	do sterilní nádoby	do odeslání a během transportu max. 72 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
<b>cervikovaginální výtěr</b>	suchým sterilním tamponem, zalomit do sterilní zkumavky s odběrovým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C
<b>moč</b>	první proud ranní moče do sterilní nádoby	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C

<sup>1</sup> Komerčně dostupná odběrová média pro chlamydie nebo STD, nebo 0,5 ml sterilního fyziologického roztoku.

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

## 2.7 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>stěr z léze (eroze, vředu apod.)</b>	Fixovaný na podložním sklíčku acetonem p.a. 10 min expozicí	odeslání max. do 48 hod. při +2 - +8°C,
<b>mikrotomový nativní řez tkání</b>	Fixovaný na podložním sklíčku acetonem p.a. 10 min expozicí	odeslání max. do 48 hod. při +2 - +8°C,
<b>nesrážlivá krev pro získání plné krve</b>	5 ml krve (odběr dle kap. 1.1) <b>do zkumavky s antikoagulačním činidlem</b> (citrát sodný nebo EDTA) 4,5 ml krve + 0,5 ml antikoagulans	odeslání max. do 24hod. při +2 - +8°C,
<b>likvor</b>	1 ml za aseptických podmínek do sterilní plastové šroubovací zkumavky	odeslání max. do 24 hod. při +2 - +8°C

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 7 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 7
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## B. Obecná pravidla pro odběr a transport primárních vzorků pro virologické vyšetření:

**1. Sérologické vyšetření protilátek** proti adenovirům (AV), cytomegaloviru (CMV), viru Epsteina a Barrové (EBV), enterovirům, hantavirům, virům hepatitidy, herpetickým virům, viru lidského imunodeficitu (HIV), virům chřipky, viru klíšťové encefalitidy, viru lymfocytární meningitidy, papillomavirům, parvoviru B19, virům parainfluenzy (PIV), polyomavirům, viru průšnic, Respiračnímu syncytiálnímu viru (RSV), viru spalniček, viru varicella zoster (VZV), viru zarděnek

### 1.1 Odběr, transport a skladování krve pro sérologické virologické vyšetření

Pro sérologické vyšetření se odebírá žilní krev bez použití protisrážlivých prostředků s dodržováním všech bezpečnostních pravidel (dezinfekce místa vpichu, stříkačky a jehly pro jedno použití, rukavice pro jedno použití pro odebírající personál). Odběr by se měl provádět nejlépe ráno nalačno za aseptických podmínek. Krev se odebírá do sterilních zkumavek na jedno použití (event. s aktivátorem hemokoagulace) v množství 5-7 ml. Krev by neměla být hemolyzovaná nebo chylózní. Dobře uzavřené zkumavky se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.

Pro sérologický průkaz virové infekce se obvykle doporučuje vyšetření párových sér:

- akutní sérum - odebrané co nejdříve po začátku onemocnění
- rekonvalescentní sérum - odebrané za 14 a více dnů (dle jednotlivých agens) po začátku onemocnění.

Zkumavka s odebranou plnou krví se obalí savým materiálem (buničitá vata apod.) k zachycení event. úniku krve a uloží do pevného transportního kontejneru (termobox). Plná krev se může skladovat před doručením do laboratoře nejdéle 24 hodin při pokojové teplotě nebo 72 hodin při teplotě +2 - +8°C. Nelze-li dodržet tuto podmínku, je nutno po sražení krve oddělit sérum od krevního koláče a do laboratoře zaslat jen oddělené sérum. Sérum je možno skladovat při teplotě +2 - +8 ° C max. 5 dní. Sérum je možno před transportem zamrazit a dlouhodobě skladovat při teplotě -20°C ± 5°C. Tato teplota musí být dodržována až do vyšetření vzorku.

#### 1.1.1 Odběr, transport a skladování dalších biologických vzorků pro sérologické virologické vyšetření

Pro sérologické vyšetření některých virových infekcí lze použít i další biologické vzorky (plazma, likvor, sliny). Způsob odběru, transport a skladování viz následující tabulka:

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
nesrážlivá krev pro získání plazmy	5 ml krve (odběr dle kap. 1.1) do zkumavky s antikoagulačním činidlem (nejlépe EDTA)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při pokojové teplotě nebo 72 hod. při +2- +8°C, jinak nutno plazmu oddělit od krevních buněk. Oddělenou plazmu možno skladovat při +2- +8°C max. 5 dní, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
likvor	odběr likvoru v množství min. 1 ml za aseptických podmínek (specializovaná pracoviště)	do odeslání a během transportu max. 5 dní při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
sliny	pro odběr slin se používá speciální odběrový set, který na vyžádání dodá příslušná laboratoř	do odeslání a během transportu max. 14 dní při pokojové teplotě, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
plodová voda	odběr plodové vody v množství 5 ml za aseptických podmínek	do odeslání a během transportu max. 5 dní při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 8 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 8
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## 1.2 Žádanka o vyšetření

Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření, která obsahuje informace postačující pro identifikaci pacienta a oprávněného žadatele a poskytuje odpovídající klinické údaje. Žádanka obsahuje následující údaje:

- jednoznačnou identifikaci pacienta
- jméno a adresu pracoviště lékaře oprávněného požadovat vyšetření nebo používat lékařské informace předurčené pro výslednou zprávu laboratoře včetně IČZ a kódu odbornosti pracoviště
- druh primárního vzorku
- požadované vyšetření
- příslušné klinické informace o pacientovi nutné pro volbu vhodných vyšetřovacích metod a pro interpretaci výsledku vyšetření
- datum odběru primárního vzorku

## 2. Průkaz virového agens

### 2.1 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz viru lidského imunodeficitu (HIV)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
nesrážlivá krev pro získání plazmy a mononukleár. buněk periferní krve	5-7 ml krve (odběr dle kap. 1.1) <b>do zkumavky s antikoagulačním činidlem</b> (jen EDTA)	do odeslání a během transportu max. 6 hod. při pokojové teplotě, jinak nutno plazmu oddělit od krevních buněk. Oddělenou plazmu možno skladovat 48 hod. při +2 -+8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

### 2.2 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz virů lidských hepatitid (HBV,HCV,HVD)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
nesrážlivá krev pro získání plazmy	5-7 ml krve (odběr dle kap. 1.1) <b>do zkumavky s antikoagulačním činidlem</b> (jen EDTA)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při pokojové teplotě, jinak nutno plazmu oddělit od krevních buněk. Oddělenou plazmu možno skladovat 5 dní při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
srážlivá krev pro získání séra	5-7 ml krve (odběr dle kap. 1.1)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při pokojové teplotě, jinak nutno sérum oddělit od krevního koláče. Sérum možno skladovat 5 dní při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 9 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 9
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

### 2.3 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz viru chřipky a nechřipkových respiračních agens (AV, RSV, PIV, SARS coronavirus)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>výtěr z nosohltanu</b>	odběr ráno, nalačno, před hygienou ústní dutiny sterilním tamponem. Pacienta před výtěrem nechat několikrát zakašlat se zavřenými ústy. Jedním tamponem provést stěr zadní stěny nosohltanu krouživým pohybem (vyhnout se mandlím). Tampon zalomit do sterilní zkumavky s odběrovým virologickým médiem <sup>(1)</sup> . Druhým tamponem provést stejným způsobem stěr z obou nosních průduchů a tampon zalomit do stejné zkumavky s odběrovým virologickým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C. Transport do 24 hod. při +2 - +8° C nebo při pokojové teplotě
<b>BAL, výplach, aspirát</b>	odběr do sterilní nádoby	do odeslání max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C. Transport do 24 hod. při +2 - +8° C nebo při pokojové teplotě
<b>sputum</b>	odběr ráno, nalačno, před hygienou ústní dutiny. Pacienta nechat před odběrem několikrát zakašlat se zavřenými ústy. Množství 2 - 5 ml sputa, <b>ne sliny</b> , do sterilní nádoby	do odeslání max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C. Transport do 24 hod. při +2 - +8° C nebo při pokojové teplotě
<b>moč</b>	odběr 3 - 4 ml do sterilní zkumavky	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C
<b>výtěr spojivkového vaku</b>	sterilním tamponem do sterilní zkumavky s odběrovým virologickým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
<b>seškrab z rohovky</b>	sterilním tamponem do sterilní zkumavky s odběrovým virologickým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
<b>výtěr z rekta</b>	sterilním tamponem do sterilní zkumavky s odběrovým virologickým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C
<b>stolice</b>	odběr do sterilní zkumavky, vzorek velikosti lískového oříšku	do odeslání během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C
<b>sekční materiál (trachea s bifurkací)</b>	do sterilní nádoby, nebo stěr z trachey do sterilní zkumavky s odběrovým virologickým médiem <sup>(1)</sup>	do odeslání a během transportu max. 12 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C

<sup>1</sup> Složení odběrového virologického média: PBS pH 7,4, 2% roztok BSA a antibiotika (Penicilin G - 2000 j/ml a Streptomycin - 1 mg/ml, při použití v tkáňových kulturách přidat Amphotericin B - 25 µg/ml). Skladování: -15 až - 25 °C, expirace 12 měsíců. Médium dodává rovněž NRL na vyžádání.

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 10 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 10
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

#### 2.4 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz herpetických virů (CMV<sup>1</sup>, EBV<sup>2</sup>, HSV 1,2<sup>3</sup>, VZV<sup>4</sup>, HHV6<sup>5</sup>, HHV8<sup>6</sup>)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
moč <sup>(1)</sup>	do sterilní nádobky	do odeslání a během transportu max. 72 hod. při +2 - +8°C
výtěr z nosohltanu <sup>(1,3,4)</sup>	sterilním tamponem do 0,5 ml sterilního fyziologického roztoku	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
biopsie, autopsie <sup>(1,2,3,4,5,6)</sup>	cca 1 mm <sup>3</sup> nefixované tkáně do 0,5 ml sterilního fyziologického roztoku	do odeslání a během transportu max. 6 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
likvor, <sup>(1,2,3,4,5)</sup> sliny <sup>(5,6)</sup>	do sterilní nádobky	do odeslání a během transportu max. 72 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
BAL, výpotek, aspirát <sup>(1,2,3,4,5,6)</sup>	do sterilní nádobky	do odeslání a během transportu max. 7 dní při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
leukocyty, polymorfonukleáry <sup>(1)</sup>	5 ml nesrážlivé krve (odběr dle kap. 1.1) do zkumavky s antikoagulačním činidlem (heparin, EDTA, citrát)	do odeslání a během transportu max. 12 hod. při +2 - +8 °C
krev (PCR) <sup>(1,2,5,6)</sup>	5 ml nesrážlivé krve (odběr dle kap. 1.1) do zkumavky s antikoagulačním činidlem (EDTA)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, po separaci při +2 - +8 °C max. 7 dní, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
kostní dřev <sup>(1,2,5)</sup>	3 ml punktátu do EDTA	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, po separaci při +2 - +8 °C max. 7 dní, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
plodová voda <sup>(1,3,4)</sup> ascites, <sup>(1,2,3,4,5,6)</sup> oční tekutina <sup>(1,4)</sup>	do sterilní nádobky	do odeslání a během transportu max. 72 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
stěr z kožní a slizniční léze <sup>(2,3,4)</sup>	stěr sterilním tamponem z čerstvého puchýřku do 0,5 ml sterilního fyziologického roztoku (stěr nemá být kontaminovaný krví)	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
tekutina z puchýřků <sup>(3,4)</sup>	injekční stříkačkou do 0,5 ml PBS	do odeslání a během transportu max. 7 dní při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C
stěr z rohovky, spojivky, <sup>(1,3,4)</sup>	stěr sterilním tamponem do 0,5 ml sterilního fyziologického roztoku	do odeslání a během transportu max. 24 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -70°C ± 5°C

Volba optimálního vzorku závisí na klinických příznacích pacienta, typu viru a vyšetřovací metody. V případě nejasností konzultujte s NRL.

*Dobře uzavřené nádobky s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 11 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 11
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## 2.5 Odběr primárních vzorků pro přímý průkaz enterovirů (Polio, ECHO, Coxsackie)

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>stolice</b>	2 g stolice do sterilní uzavřené nádoby	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
<b>likvor</b>	1 ml do sterilní nádoby	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
<b>výpotek</b>	1 ml do sterilní nádoby	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C
<b>výtěr z nosohltanu</b>	sterilním tamponem do sterilního odběrového virologického média	do odeslání a během transportu max. 48 hod. při +2 - +8°C, dlouhodobě při -20°C ± 5°C

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

## 2.6 Odběr primárních vzorků pro elektronovou mikroskopii

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
<b>moč, likvor, BAL, sérum, plazma, vezikulární tekutina, nazofaryngeální výtěr</b>	odběr vzorků do sterilních zkumavek nebo transportních nádobek s pevným uzávěrem. Min. množství kapalných vzorků je 0,2 ml, max. 2 ml	do odeslání max. 24 hod. při +2 - +8°C, transport do 24 hod. při +2 - +8°C nebo při pokojové teplotě
<b>stolice</b>	odběr vzorků do sterilních zkumavek nebo transportních nádobek s pevným uzávěrem. Vzorek o velikosti lískového oříšku nebo max. 2 ml	do odeslání max. 24 hod. při +2 - +8°C, transport do 24 hod. při +2 - +8°C nebo při pokojové teplotě
<b>krusty, biopsie, autopsie</b>	odběr vzorků do sterilních zkumavek nebo transportních nádobek s pevným uzávěrem. Vzorky o velikosti 5 mm <sup>3</sup>	do odeslání max. 24 hod. při +2 - +8°C, transport do 24 hod. při +2 - +8°C nebo při pokojové teplotě

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 12 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 12
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

## C. Obecná pravidla pro odběr a transport primárních vzorků pro parazitologické vyšetření:

### 1. Sérologické vyšetření protilátek proti toxoplasmám a leptospirám

#### 1.1 Odběr, transport a skladování krve pro sérologické parazitologické vyšetření

Pro sérologické vyšetření se odebírá žilní krev bez použití protisrážlivých prostředků s dodržováním všech bezpečnostních pravidel (dezinfekce místa vpichu, stříkačky a jehly pro jedno použití, rukavice pro jedno použití pro odebírající personál). Odběr by se měl provádět nejlépe ráno nalačno za aseptických podmínek. Krev se odebírá do sterilních zkumavek na jedno použití (event. s aktivátorem hemokoagulace) v množství 3-7 ml podle požadavků vyšetřující laboratoře. Krev by neměla být hemolyzovaná nebo chylózní. Dobře uzavřené zkumavky se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta. Zkumavka s odebranou plnou krví se obalí savým materiálem (buničitá vata apod.) k zachycení event. úniku krve a uloží do pevného transportního kontejneru (termobox). Plná krev se může skladovat před doručením do laboratoře nejdéle 24 hodin při pokojové teplotě nebo 72 hodin při teplotě +2 – +8°C. Nelze-li dodržet tuto podmínku, je nutno po sražení krve oddělit sérum od krevního koláče a do laboratoře zaslat jen oddělené sérum. Sérum je možno skladovat při teplotě +2 – +8°C max. 5 dní. Sérum je možno před transportem zamrazit a dlouhodobě skladovat při teplotě -20°C ± 5°C. Tato teplota musí být dodržována až do vyšetření vzorku.

#### 1.2 Žádanka o vyšetření

Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření, která obsahuje informace postačující pro identifikaci pacienta a oprávněného žadatele a poskytuje odpovídající klinické údaje. Žádanka obsahuje následující údaje:

- jednoznačnou identifikaci pacienta
- jméno a adresu pracoviště lékaře oprávněného požadovat vyšetření nebo používat lékařské informace předurčené pro výslednou zprávu laboratoře včetně IČZ a kódu odbornosti pracoviště
- druh primárního vzorku
- požadované vyšetření
- příslušné klinické informace o pacientovi nutné pro volbu vhodných vyšetřovacích metod a pro interpretaci výsledku vyšetření
- datum odběru primárního vzorku

## 2. Průkaz toxoplasem

### 2.1 Odběr primárních vzorků pro izolaci toxoplasem

Primární vzorek	Způsob odběru	Podmínky pro skladování a transport
likvor	min. 1 ml, neředit, nestabilizovat, nemrazit	do odeslání max. 12 hod. při +2 - +8°C, transport max. 6 hodin při +2 - +8°C
plodová voda	min. 5 ml, neředit, nestabilizovat, nemrazit	do odeslání max. 12 hod. při +2 - +8°C, transport max. 6 hodin při +2 - +8°C

*Dobře uzavřené nádoby s odebraným primárním vzorkem se opatří štítkem s identifikačními znaky vyšetřovaného pacienta.*

*Ke každému vzorku pro vyšetření musí být přiložena žádanka o vyšetření- viz kapitola 1.2.*

Příručka jakosti laboratoře Laboratoře Centra epidemiologie a mikrobiologie	Strana č.: 13 Celkem stran: 13 Nahrazuje stranu: 13
Příloha č.10a <b>Příručka pro odběr primárních vzorků</b>	Datum vydání : 27.1.2009 Kontroloval :

### Reference:

1. Kolektiv autorů: Doporučené metody ve virologické diagnostice, Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica č.1/2000, str.1 – 56
2. M.Otavová a kolektiv: Doporučený postup při odběru klinického materiálu pro diagnostiku respiračních virů, Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2004, 13(9), str.389
3. D.Zusková a kolektiv: Principy boje s přenosnými nemocemi, kapitola II – Odběr a zasílání materiálu na mikrobiologické vyšetření, str.14 – 37, Avicenum 1991
4. Kolektiv autorů: Doporučené standardní metody v mikrobiologii mykobakteriálních infekcí, příloha k časopisu Klinická mikrobiologie a infekční lékařství, NRLM Praha, X/1998, str.1 - 48.