

Klinická mikrobiologie a její role v současné medicíně

Milan Kolář

Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

Je předložena charakteristika současné klinické mikrobiologie a její role v moderní medicíně. Článek definuje hlavní cíle mikrobiologického vyšetření a zásady antibiotického i diagnostického stewardshipu. Hlavní důraz je kladen na správnou interpretaci mikrobiologických výsledků.

Klíčová slova: medicína, klinická mikrobiologie, interpretace.

Clinical microbiology and its role in current medicine

The characteristics of current clinical microbiology and its role in modern medicine are presented. The article defines the main objectives of microbiological examination, principles of antibiotic and diagnostic stewardship. The main emphasis is placed on the correct interpretation of microbiological results.

Key words: medicine, clinical microbiology, interpretation.

V současné době exponenciálního nárůstu lékařských poznatků je zřejmé, že diagnostika a terapie závažných kardiovaskulárních, onkologických, neurologických a dalších nemocí se významně zkvalitňují a vedou ke zvyšování úspěšnosti léčby pacientů. Stoupající možnosti medicíny, především v oblasti intenzivní péče, jsou však spojeny s vyšší pravděpodobností vzniku komplikujících bakteriálních onemocnění. Zvyšující se počet invazivních výkonů, terapeutických i diagnostických, výrazně ovlivňuje přímo či nepřímo lidskou bakteriální mikroflóru, ať už například vystavením pacientů nemocničnímu prostředí s mnoha zdroji multirezistentních (MDR) bakterií, přímými zásahy do systémů s přirozenou mikroflórou nebo souvisejícím selektivním tlakem antibiotik. Velká část těchto infekcí má endogenní charakter a etiologické agens pochází z lidské mikroflóry. Je vhodné v této souvislosti zdůraznit, že bakteriální mikroflóra je pro lidský život nezbytná, na druhé straně však představuje zdroj potenciálních patogenů, které se uplatňují v rozvoji celé řady infekcí, včetně život ohrožujících stavů (1, 2).

K hlavním problémům současné medicíny a lidské společnosti obecně patřily, patří a stále patřit budou infekční onemocnění. Tato skutečnost byla jednoznačně potvrzena světovou pandemií covidu-19. Je však nutné zdůraznit, že vedle onemocnění covid-19 je velká řada dalších infekcí, které rovněž představují pro jednotlivé pacienty i lidskou společnost značné nebezpečí. V souvislosti s infekčními onemocněními

je zřejmá zásadní role lékařské/klinické mikrobiologie (tyto termíny lze chápat jako synonyma). Hlavním cílem klinické mikrobiologie je stanovení etiologických agens infekčních onemocnění, resp. potvrzení či vyloučení onemocnění vyvolaných mikroorganismy, tedy viry, bakteriemi, kvasinkami, plísněmi, prvky či červy. Je však nutné poukázat, že cílem není jen vlastní izolace a identifikace příslušného mikroorganismu, ale současně jeho správná interpretace ve vztahu k nemoci u konkrétního pacienta. Lze předpokládat, že více než polovina všech lékařských rozhodnutí je učiněna na základě výsledků laboratorních vyšetření. Zhruba 25 % těchto výsledků však nemá přímý pozitivní vliv na pacienta, z čehož vyplývá nutnost redukovat toto procento (3). Uvedená skutečnost se týká i klinické mikrobiologie. Klinickou mikrobiologii je nutné chápat jako základní lékařskou specializaci se zaměřením na konkrétního pacienta, diagnostiku infekčního onemocnění a určení příslušných vlastností etiologického agens (například v případě bakterií jejich citlivosti/rezistence k antibiotikům). Současně je však nutné velmi pečlivě posoudit význam mikrobiologických výsledků vzhledem k přirozené lidské mikroflóře, resp. mikrobiomu. V kontextu klinické mikrobiologie je vhodné specifikovat lidský mikrobiom, který je přirozenou součástí lidského těla. Tento termín lze definovat jako soubor všech mikroorganismů (tedy bakterií, kvasinek, prvků a virů) v lidském těle, i když se často interpretuje především jako komplex

prof. MUDr. Milan Kolář, Ph.D.

Ústav mikrobiologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc
milan.kolar@fnol.cz

Cit. zkr: Vnitř Lék. 2023;69(1):E11-E14

Článek přijat redakcí: 5. 9. 2022

Článek přijat po recenzích: 13. 1. 2023

všech bakterií. Celkový počet bakteriálních buněk v lidském těle lze odhadnout na cca 39 bilionů (tedy 39×10^{12}) a z hlediska celkového počtu bakterie mírně (1,3 : 1) převyšují vlastní buňky lidského těla (cca 30 bilionů) (4). V současné době je zřejmé, že lidský mikrobiom má zcela zásadní vliv na lidský život a tato skutečnost je mnohem významnější, než se původně předpokládalo (5, 6). Přítomnost lidského mikrobiomu však představuje problém při hodnocení výsledků celé řady mikrobiologických vyšetření, protože je nutné odlišit skutečného původce onemocnění od přirozené součásti mikroflóry. Tato skutečnost se odráží v diferenciálně-diagnostické rozvaze, která musí vzít v potaz složitý vztah mezi lidským tělem a mikrobiomem a adekvátně analyzovat získaná data ve vztahu k infekčnímu onemocnění či klinickému stavu pacienta. Stanovení klinického významu, resp. zdali je daný mikroorganismus příčinou infekčního onemocnění, nebo se jedná o součást mikroflóry či anamnestickou reakci lidského těla na již proběhlou infekci v případě sérologických vyšetření, je v řadě případů velmi obtížné. Nicméně právě tato skutečnost patří k základní charakteristice klinické mikrobiologie. Je nutné poukázat na další, neméně významnou, roli klinické mikrobiologie v rámci celé lidské společnosti, a to sledování nejvýznamnějších bakteriálních, mykotických, virových a parazitárních původců infekčních onemocnění a jejich vlastností. Klasickým příkladem je analýza vývoje rezistence bakterií k antibiotikům s cílem zachovat účinnost antibakteriálních přípravků, a tím schopnost léčit bakteriální infekce. Konkrétně se jedná například o významnou evropskou databázi EARS-Net, která je volně přístupná a představuje velmi důležitý zdroj informací o antimikrobiální rezistenci (AMR) (7). Neméně významným cílem je vytváření podkladů pro iniciální antibiotickou léčbu závažných bakteriálních infekcí (například sepsi), kdy není možné čekat na finální výsledek mikrobiologického vyšetření (1).

Právě na příkladu bakteriálních infekcí lze lépe vysvětlit definici klinické mikrobiologie. Tato onemocnění představují významný problém současné medicíny a hlavní důvody lze definovat následujícími body:

- bakteriální infekce jsou velmi často endogenního charakteru, resp. původce pochází z přirozeného mikrobiomu lidského těla (především v případě nozokomiálních infekcí),
- zvyšuje se rezistence bakterií k účinku antibakteriálních léčiv a s tím související riziko selhání nasazené antibiotické léčby,
- stoupá počet imunokompromitovaných pacientů a osob s umělými materiály, což ve svém důsledku zvyšuje pravděpodobnost rozvoje infekce vyvolané fakultativně patogenním mikroorganismem,
- stále více se používají invazivní diagnostické i léčebné postupy ovlivňující lidský mikrobiom.

Klinická mikrobiologie se významně podílí na diagnostice infekčního onemocnění. Je vhodné zdůraznit, že již vlastní význam slova infekce se postupně vyvíjí. Původně byl tento pojem chápán spíše epidemiologicky. Tedy jako přenos patogenní bakterie (nákaza) a její přítomnost v lidském těle. V současném pojetí tato definice již neodpovídá modernímu přístupu k problematice bakteriálních onemocnění. Samozřejmě nadále existují exogenní infekce, kdy patogenní bakterie pochází z vnějšího zdroje. Toto je typické pro zoonózy (infekční onemocnění se zdrojem v animální oblasti), jako jsou průjemovitá onemocnění

v komunitním prostředí, například kamylobakterií a salmonelózy. Nicméně značná část bakteriálních infekcí, v případě infekcí vzniklých v souvislosti s pobytem ve zdravotnickém zařízení dokonce ta větší, je vyvolána bakteriemi tvořícími normální mikrobiom lidského těla. V tomto případě je platnost výše uvedené epidemiologické definice limitována. Bakterie je již přítomna v lidském těle a bakteriální infekci lze definovat jako nefyziologickou interakci mezi bakterií a makroorganismem zahrnující nejen laboratorní (například hodnoty C-reaktivního proteinu, leukocytů, prokalcitoninu, presepsinu) a klinické známky onemocnění, ale i patofyziologické změny na úrovni buněk lidského těla (například exsudace, leukocytární infiltrace), které následně vedou (ale taky nemusí) ke klinickým projevům bakteriální infekce.

K hlavním úlohám klinické mikrobiologie patří poskytování správných výsledků mikrobiologických vyšetření s cílem snižovat možnost chybné interpretace, především přeceňování klinicky nevýznamných výsledků. Jako příklad lze uvést sdělování výsledků pozitivních hemokultur. Kolář et al. v multicentrické studii realizované v České republice prokázali, že v případě koaguláza-negativních stafylokoků lze za skutečného původce považovat pouze 10 % izolátů (8). Je tedy velmi vhodné předávat výsledek pozitivní hemokultury za současného zhodnocení klinického stavu pacienta a posouzení jeho klinického významu (antibiotická léčba není v řadě případů nutná). Již při vlastním zpracování klinických materiálů odebraných od pacientů s předpokládanou infekcí je zcela zásadní posouzení získaných výsledků v souvislosti s klinickou diagnózou. Toto posouzení musí probíhat jako součást mikrobiologického vyšetření a na jeho základě je možné určit pravděpodobné etiologické agens a v případě bakterií/kvasinek stanovit jejich citlivost/rezistenci k antibiotikům/antimykotikům. Nedílnou součástí je posouzení klinické významnosti výsledku, resp. přítomnosti přirozené mikroflóry bez klinického významu.

Současná klinická mikrobiologie přináší významné urychlení přesné detekce etiologického agens. Například diagnostický systém MALDI TOF založený na hmotnostní spektrometrii umožňuje, vedle téměř okamžitého (v průběhu 5 minut) určení bakteriálních kolonií na příslušné agarové půdě po 12–18hodinové inkubaci, i identifikaci bakteriálních patogenů přímo v klinickém materiálu, například v pozitivní hemokultuře. Pokud se navíc provede detekce vybraných genů rezistence na základě polymerázové řetězové reakce (PCR), tak přes skutečnost, že případný pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat fenotypovou rezistenci, je vhodné jej vzít v potaz v antibiotické léčbě u závažných infekcí. Je nutné zdůraznit, že rychlá a přesná mikrobiologická diagnostika umožňuje:

- určení či potvrzení správné klinické diagnózy,
- zvolení vhodné terapie, včetně antibiotické léčby,
- zkrácení délky léčby, především antibiotické,
- deeskalaci širokospektré antibiotické léčby na aplikaci antibiotik s užším spektrem účinku,
- přechod z parenterální antibioterapie na perorální,
- redukcii případné toxicity a nežádoucích vedlejších účinků antibiotik,
- včasnou detekci MDR bakteriálních patogenů a zvýšení efektivity hygienicko-epidemiologických režimů,
- redukcii rozvoje AMR,
- redukcii celkových finančních nákladů na léčbu,
- zlepšení výsledku léčby pacienta a zkrácení délky hospitalizace.

Důležitým pojmem souvisejícím s klinickou mikrobiologií je diagnostický stewardship, který lze definovat jako soubor opatření vedoucích k racionální indikaci, správné realizaci a adekvátní interpretaci výsledků mikrobiologických vyšetření (9, 10). Tento pojem je sice chápán i jako součást antibiotického stewardshipu, ale jeho význam je mnohem širší a je vhodné tyto termíny odlišovat. Diagnostický stewardship zahrnuje tři fáze, a to preanalytickou (odebrání správného klinického vzorku a odpovídající transport do mikrobiologické laboratoře), analytickou (správný výběr a provedení mikrobiologického vyšetření) a postanalytickou (adekvátní interpretace mikrobiologických výsledků). Jeho definice je tedy mnohem širší než v případě antibiotického stewardshipu.

Aplikace diagnostického stewardshipu může významně zkvalitnit laboratorní diagnostiku infekčního onemocnění. Současně zlepšuje využívání zdrojů a zkvalitňuje údaje pro monitorovací programy, například sledování nejvýznamnějších bakteriálních původců infekcí a jejich AMR. Jednotlivé součásti diagnostického stewardshipu lze definovat následovně:

- správný výběr a odběr klinického materiálu k mikrobiologickému vyšetření (Tabulka 1),
- správné skladování a transport klinických vzorků do laboratoře (Tabulka 1),
- správné označení klinických materiálů, včetně uvedení předpokládané či potvrzené diagnózy,
- správná volba mikrobiologických vyšetření (kultivace, PCR, sérologie atd.) na základě pečlivého posouzení jejich výhod i nevýhod (resp. schopnosti potvrdit či vyloučit infekci) v kontextu klinických informací u konkrétního pacienta,
- správné provedení mikrobiologických vyšetření,
- správná interpretace a adekvátní předávání výsledků, včetně okamžitého informování o kritických výsledcích, například v případě pozitivních hemokultur či likvorů.

Nedílnou součástí léčby bakteriálních infekcí je aplikace antibiotik, která cíleně zasahují etiologická agens. Antibakteriální přípravky tak, jak je známe v současné medicíně, jsou používány více než 80 let. Přes jejich velký rozmach v 60. a 70. letech minulého století, dokumentovaný vývojem a zavedením celé řady nových přípravků do klinické praxe, představují bakteriální infekce stále velký problém, jehož významnost neustále stoupá. Současná medicína je dokonce konfrontována s reálnou hrozbou ztráty účinku antibiotik na bakterie a s tím související schopnosti, léčit bakteriální infekce (11, 12). Zvyšující se odolnost bakteriálních patogenů k antibakteriálním léčivům přináší možnost návratu do nové „bez-antibiotické éry“, v níž nebudou k dispozici adekvátní antibiotika pro léčbu infekcí s etiologickou rolí MDR a panrezistentních bakterií. Je nutné zdůraznit, že mikroorganismy jsou součástí živé přírody a mohou kontinuálně měnit své vlastnosti. Tato adaptabilita přináší pro lidskou společnost velký problém, protože bakterie, viry, kvasinky a další mikroorganismy se mohou přizpůsobovat vnějším podmínkám, měnit svoji schopnost vyvolávat onemocnění (například zvýšením virulence) a současně se adaptovat na příslušnou léčbu. Nezbytnou součástí terapeutického přístupu k pacientům s bakteriálními infekcemi je aplikace antibakteriálních přípravků. Účinnost antibiotické léčby je

však stále více limitována stoupající odolností patogenních bakterií, což výrazně zvyšuje pravděpodobnost selhání antibiototerapie a s tím související morbiditu i mortalitu pacientů (13–15).

Aplikace antibiotik snižuje přirozenou kolonizační (mikrobiomovou) rezistenci a vede k selekci MDR bakterií, negativnímu ovlivnění imunitního systému a vyšší pravděpodobnosti rozvoje nozokomiální infekce s etiologickou rolí MDR bakteriálních patogenů (11). MDR bakterie mohou být v gastrointestinálním traktu přítomné po dlouhou dobu a aplikace antibiotik prodlužuje jejich přetrvávání, čímž se zvyšuje možnost jejich uplatnění jako původců infekce, což bylo prokázáno ve studii Kolář et al. (16). Lze předpokládat, že značná část aplikací antibiotické léčby je nadbytečná, což vede k nejen k rozvoji AMR, zvýšenému riziku vedlejších nežádoucích účinků, ale současně k prodloužení celkové délky hospitalizace a zvyšování finančních nákladů. Nejčastější příčiny nevhodné antibiototerapie lze definovat následujícími body:

- léčba respiračních a gastrointestinálních infekcí způsobených viry,
- léčba klinicky nevýznamné bakteriurie (s výjimkou gravidních žen a pacientů postupujících urologické výkony),
- chybná interpretace mikrobiologických výsledků, především léčba bakterií či kvasinek patřících do normálního mikrobiomu,
- nevhodné spektrum antibiotika zvoleného pro léčbu předpokládané bakteriální infekce,
- nerespektování lokálních doporučených postupů,
- intravenózní aplikace v případě, kdy lze antibiotikum aplikovat perorálně,
- nevhodné dávkování (dávka, interval) a neodpovídající celková délka antibiototerapie,
- nerespektování případné alergie na antibiotika,
- prodloužení antibiotické profylaxe nad 24 hodin,
- nevyužívání principu deeskalace, především u pacientů v intenzivní péči.

Možným řešením uvedeného problému je aplikace antibiotického stewardshipu. Tento termín lze definovat jako soubor opatření vedoucích k racionální antibiotické léčbě založené na adekvátním výběru antibakteriálních léčiv, odpovídající délce jejich aplikace a současně vhodném způsobu podání (17–19). Primárním cílem je zabezpečit, aby každý pacient dostal adekvátní antibiotickou léčbu, tedy správné konkrétní antibiotikum, ve vhodné dávce, časování a celkové době aplikace a současně redukce možných nežádoucích účinků. Sekundárním cílem je omezit rozvoj AMR a riziko kolonizace pacienta MDR bakteriemi, včetně *Clostridioides difficile*, zkrátit délku hospitalizace a snížit celkové finanční náklady na léčbu. Systém antibiotického stewardshipu je velmi komplexní a obsahuje celou řadu jednotlivých programů a činností, které lze stručně charakterizovat následujícím přehledem:

- adekvátní identifikace bakteriálních patogenů, resp. správná interpretace mikrobiologických výsledků,
- hodnocení výskytu frekvence bakteriálních původců u jednotlivých infekcí či infekčních komplikací,
- analýza bakteriální rezistence k antibiotikům (včetně jejího vývoje) podle všech nutných kritérií a za definovaných pravidel,

- analýza cest a šíření MDR bakterií za využití moderních molekulárně-genetických metodik,
- tvorba lokálních a celostátních doporučených postupů pro iniciální antibiotickou léčbu,
- realizace antibiotické léčby na základě klinického stavu pacienta, mikrobiologických výsledků a vývoje příslušných zánětlivých markerů,
- adekvátní antibiotická profylaxe,
- hodnocení spotřeby antibiotik podle všech nutných kritérií, realizace antibiotických konzilií a schvalování vázaných antibiotik v rámci činnosti antibiotických středisek,
- zabezpečení adekvátního týmu a reálné spolupráce všech příslušných lékařských specializací,
- vzdělávání odborníků v problematice AMR i antibiotické léčby a současně informování laické veřejnosti o této problematice.

Důležitými činnostmi v rámci antibiotického stewardshipu je monitorování frekvence bakteriálních patogenů, včetně jejich rezistence k antibiotikům, a genetická analýza za účelem stanovení zdrojů a cest šíření MDR bakterií. Tyto činnosti úzce souvisí s realizací hygienicko-epidemiologických opatření, hodnocením jejich účinnosti a současně významně přispívají k prevenci šíření AMR.

V rámci dodržování kvality mikrobiologických výsledků je velmi důležité postupovat podle národních a mezinárodních doporučených postupů a současně akreditovat mikrobiologické metodiky dle příslušných standardů (například normy ISO 15189). Neméně důležitá je snaha o zabezpečení co nejširší možnosti mikrobiologických vyšetření, včetně doby provozu mikrobiologické laboratoře. V současné době je zřejmý rozvoj klinické mikrobiologie založený na nejnovějších technologických možnostech včasné mikrobiologické diagnostiky. Bohužel je zde významná limitace. Na jedné straně je reálná možnost ve zkrácené době identifikovat bakteriální patogeny a jejich rezistenci k antibiotikům, což může být pro řadu pacientů se závažnými bakteriálními infekcemi zcela zásadní pro úspěšnou léčbu. Na druhé straně je však nutné si položit otázku, jsou využívány všechny současné možnosti v mikrobiologické

diagnostice na 100 %? Je nutné přiznat, že nikoliv, například pro řadu pacientů by bylo velmi přínosné zpracovat pozitivní hemokulturu ihned při prvním signálu positivity, byť je tento ve večerních hodinách (a ne následující den ráno). Jinými slovy je to otázka organizace práce mikrobiologických laboratoří. Samozřejmě je nutné si uvědomit všechny překážky pro reorganizaci v tomto smyslu, především nedostatek lékařů, včetně mikrobiologů, a finanční náročnost. Světová pandemie covidu-19 jasně ukázala na výše uvedenou problematiku a je zřejmé, že v delším časovém horizontu bude nutné tímto směrem uvažovat.

V rámci klinické mikrobiologie lze definovat určité parametry, které lze aplikovat jako indikátory kvality v konkrétním zdravotnickém zařízení, například:

- 30denní mortalita vybraných infekčních onemocnění,
- délka hospitalizace v případě definovaných bakteriálních infekcí,
- procento infekcí vyvolaných *Clostridioides difficile*,
- struktura antibiototerapie, hodnocení spotřeby vybraných antibiotických skupin či konkrétních antibiotik,
- úroveň AMR v rámci definovaných epidemiologických jednotek (úroveň celého zdravotnického zařízení i jednotlivých oddělení),
- klonální šíření bakteriálních patogenů v rámci definovaných epidemiologických jednotek,
- u všech výše uvedených parametrů je však nutná adaptace na lokální úroveň.

Závěrem lze konstatovat, že významnou roli v řešení infekčních nemocí v jejich plné šíři má moderní klinická mikrobiologie. Důsledné uplatňování zásad diagnostického a antibiotického stewardshipu umožní nejen správné určení diagnózy, ale současně i adekvátní léčbu. Neméně významný dopad klinické mikrobiologie lze spatřovat v řešení jednoho z nejdůležitějších problémů současné medicíny, a to problematiky AMR.

Podpořeno Projektem „Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU“.

LITERATURA

1. Kolář M, Rejman D, Barďoň J. Zásady antibiotické léčby. Univerzita Palackého v Olomouci, 2020.
2. Young VB. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ* 2017;356:j831.
3. Gronthoud FA. Practical clinical microbiology and infectious diseases a hands-on guide. CRC Press, 2020.
4. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* 2016;14:e1002533.
5. Berg G, Rybakova D, Fischer D, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 2020;8:103.
6. Wang B, Yao M, Lv L, Ling Z, Li L. The human microbiota in health and disease. *Engineering*. 2017;3:71-82.
7. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Available online: <https://www.ecdc.europa.eu/en/antimicrobial-resistance/surveillance-and-disease-data/data-ecdc>.
8. Kolář M, Heinigeová B, Bartoníková N et al. Grampozitivní patogeny při infekcích krevního řečiště – multicentrická studie. *Klin Mikrobiol Inf Léč*. 2003;9:244-252.
9. Patel R, Fang FC. Diagnostic stewardship: opportunity for a laboratory–infectious diseases partnership. *Clin Inf, Dis*. 2018; 67:799-801.
10. Curren EJ, Lutgring JD, Kabbani S, et al. Advancing diagnostic stewardship for healthcare-associated infections, antibiotic resistance, and sepsis. *Clin Inf, Dis*. 2022;74:723-728.
11. Kolář M. Bacterial infections, antimicrobial resistance and antibiotic therapy. *Life*. 2022; 12:468.
12. Laxminarayan R, Duse A, Watal C, et al. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect, Dis*. 2013;13:1057-1098.
13. Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:1987-1994.
14. Kang CI, Chung DR, Ko KS, et al. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol*. 2012;91:115-121.
15. Herkel T, Uvizil R, Doubravská L, et al. Epidemiology of hospital-acquired pneumonia: Results of a Central European multicenter, prospective, observational study compared with data from the European region. *Biomed Papers*. 2016;160:448-455.
16. Kolář M, Htoutou Sedláková M, Pudova V, et al. Incidence of fecal Enterobacteriaceae producing broad-spectrum beta-lactamases in patients with hematological malignancies. *Biomed Papers*. 2015;159:100-103.
17. Dyar OJ, Huttner B, Schouten J, et al. What is antimicrobial stewardship? *Clin Microbiol Infect*. 2017;23:793-798.
18. Srinivasan A. Antibiotic stewardship: Why we must, how we can. *Cleve Clin J Med*. 2017;84:673-679.
19. Luyt CE, Bréchet N, Trouillet JL, Chastre J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. *Crit Care*. 2014;18:480.