

**UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD**



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Mikrobiologická diagnostika původců infekcí sdružených
se zavedením centrálního venózního katétru**

Bc. Miroslava Hošková

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2021

Poděkování

Tímto chci poděkovat RNDr. Kláře Konečné, Ph.D. za cenné rady a trpělivost při tvorbě diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat i své rodině a přátelům, kteří mě podporovali po celou dobu studia. V neposlední řadě chci poděkovat kolegyním na našem pracovišti, zejména pak Ing. Ivě Slovákové.

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 2021

Miroslava Hošková

OBSAH

1. Abstrakt.....	7
2. Abstract.....	9
3. Úvod.....	11
4. Zadání - cíl práce	12
TEORETICKÁ ČÁST	13
5. Centrální venózní katétry	13
5.1 Historické milníky sdružené s využitím venózních katétrů v klinické praxi	13
5.2 Druhy centrálních venózních katétrů	14
5.2.1 Venózní katétry pro krátkodobé zavedení	14
5.2.2 Venózní katétry pro střednědobé a dlouhodobé zavedení.....	15
6. Indikace pro zavedení centrálních venózních katétrů.....	19
6.1 Místa vstupu v rámci katetrizace centrálního žilního systému	19
6.2 Komplikace sdružené s centrální žilní katetrizací	20
6.3 Ošetrovatelská péče o katétry	21
7. Kontraindikace pro zavedení centrálních venózních katétrů	23
8. Materiální a technické vlastnosti centrálních venózních katétrů	24
8.1 Typy materiálů používaných k výrobě katétrů	24
8.1.1 Silikonové katétry	24
8.1.2 Polyuretanové katétry	24
8.2 Povrchová úprava centrálních venózních katétrů	25
8.3 Velikost katétrů.....	27

9.	Patogeneze infekcí sdružených se zavedením katétrů.....	28
9.1	Původci infekcí sdružených se zavedením katétrů.....	31
9.2	Mikrobiální biofilm.....	31
9.2.1	Tvorba mikrobiálního biofilmu	32
9.2.2	Metody průkazu tvorby mikrobiálního biofilmu	33
9.2.2.1	Christensenova metoda v mikrotitračních destičkách	33
9.2.2.2	Kultivace na agaru s kongo červení	34
9.2.2.3	Mikroskopické techniky	35
9.2.2.4	Polymerázová řetězová reakce	36
9.2.3	Prevence vzniku mikrobiálního biofilmu	36
10.	Odběr a transport vzorků určených pro hodnocení osídlení katétrů mikroorganismy do mikrobiologické laboratoře.....	37
11.	Mikrobiologické vyšetření osídlení centrálních venózních katétrů mikroorganismy.....	38
11.1	Mikroskopické techniky průkazu osídlení katétru.....	38
11.2	Metoda průkazu osídlení katétru kultivací v tekuté půdě.....	39
11.3	Semikvantitativní kulturační metoda průkazu osídlení katétrů mikroorganismy	39
11.4	Kvantitativní metody	41
11.5	Kulturační techniky krve	42
	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	43
12.	Metodika zpracování centrálních venózních katétrů	43
12.1	Použitý materiál.....	44
12.2	Použitá kulturační média	45
12.3	Pracovní postup	45

13. Hodnocení a interpretace nálezů získaných kultivačním vyšetřením centrálních venózních katétrů	51
13.1 Identifikace mikroorganismů osídlujících centrální venózní katétr katétrů... 54	
14. Výsledky	57
15. Diskuze	64
16. Závěr	68
17. Použité zkratky.....	69
18. Seznam obrázků.....	70
19. Seznam tabulek.....	72
20. Seznam grafů	73
21. Použité zdroje a literatura	74

1. ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Odborný pracovník v laboratorních metodách

Autor: Bc. Miroslava Hošková

Školitel: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Název diplomové práce: Mikrobiologická diagnostika původců infekcí sdružených se zavedením centrálního venózního katétru

Cíl práce: Cílem této diplomové práce je poskytnout přehledné pojednání o problematice mikrobiologické diagnostiky původců, kteří stojí za infekčními procesy sdruženými se zavedením centrálního venózního katétru. Klíčovým úkolem této práce je zhodnotit nálezy z hlediska četnosti výskytu jednotlivých mikrobiálních agens a určit, zda tyto výsledky korelují s daty uváděnými v publikovaných studiích. Dílčím cílem práce je zjistit míru osídlení venózního katétru mikroorganismy, tzn. v kolika případech pozitivního kultivačního výsledku bylo vyhodnoceno, že šlo o kontaminaci či signifikantní kolonizaci. Případně, zda byla potvrzena, po korelaci s výsledky z hemokultivačního vyšetření, také systémová katéetrová infekce.

Metody: V této práci bylo hodnoceno celkem 171 centrálních venózních katétrů, které byly zaslány na mikrobiologické oddělení ke kultivačnímu šetření z jednotlivých lůžkových oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. Pomocí semikvantitativní Makiho metody a metody spočívající v ponoření distální části katétru do živného bujónu bylo prokazováno, zda jsou katétrů osídleny mikroorganismy. Pomocí automatizovaného přístroje Vitek 2 Compact byla provedena následná identifikace mikroorganismů. Pro určení korelace s nálezy výše zmíněnými metodami bylo také využito hemokultivační metody.

Výsledky: Byla hodnocena data získaná za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019. Z celkového počtu 171 vzorků zaslaných k mikrobiologickému šetření Makiho metodou a metodou spočívající v ponoření distální části katétru do bujónu bylo vyhodnoceno 91

vzorků (53,2 %) jako pozitivní a 80 vzorků (46,8 %) jako negativní. U kultivačně pozitivních vzorků bylo semikvantitativní (Makiho) metodou, podle hraničního hodnotícího kritéria (15 CFU, kolonii tvořící jednotka) vyhodnoceno, že u 18 vzorků (28,1 %) se jedná o kontaminaci katétru a u 46 vzorků (71,9 %) byla prokázána signifikantní kolonizace. Nejčastěji identifikovaným mikrobiálním agens byly bakteriální kmeny *Staphylococcus epidermidis*, a to v procentuálním zastoupení 54,9 %. U dvanácti pacientů byla společně s extrahovaným katétre zaslána do laboratoře krev k hemokultivačnímu vyšetření. V devíti případech výsledky z kultivačního šetření korelovaly s nálezy z hemokultivačního šetření a byla prokázána systémová katérová sepe. Nejčastěji identifikovaným mikrobiálním agens byla v tomto případě grampozitivní bakterie *Enterococcus faecalis* (44,4 %).

Závěry: V případě vzniku nevysvětlitelné horečky u pacienta se zavedeným katétre byl indikován odběr katétru, který byl následně zaslán k mikrobiologickému šetření. Byla zjištěna pozitivita u 91 vzorků (53,2 %) z celkového počtu 171 zaslaných centrálních venózních katétrů. Nejčastěji izolovaným a identifikovaným mikrobiálním agens byly koaguláza negativní stafylokoky, zejména pak *Staphylococcus epidermidis*. Dalšími hojně izolovanými mikroorganismy byly *Enterococcus faecalis* či *Pseudomonas aeruginosa*. Tyto závěry se shodují s daty uváděnými v odborných studiích.

Klíčová slova: Centrální venózní katétr, Makiho metoda, kolonizace katétru, katérové infekce, biofilm, mikrobiologické vyšetření katétrů.

2. ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Subject of study: Specialist in laboratory methods

Student: Bc. Miroslava Hošková

Supervisor: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Title: Microbiological diagnostics of causative agents of infectious diseases associated with central venous catheter insertion

Background: The purpose of the thesis is to provide a comprehensive insight into the issue of microbiological diagnosis of agents that cause central venous catheter related infectious processes. The primary objective of the thesis is to evaluate the frequency of occurrence of individual microbiological agents and draw a comparison between published reports and empirical findings. The secondary objective of the thesis is to consider the extent of central venous catheter microbial colonization, i.e., in how many cases of positive culture cultivation, their contamination or significant colonization have been determined, and eventually whether system catheter infection has been proved in correlation with the results of blood culture.

Methods: One hundred and seventy-one central venous catheters from different inpatient departments were delivered to the microbiological section of hospital Nemocnice Boskovice s. r. o. for culture examination have been examined. Using Maki's semi-quantitative method and the method consisting of immersing the catheter's distal end into culture medium, the microbial colonization of catheters has been proved. The consequent identification of microorganisms has been established via the automated device Vitek 2 Compact. The blood culture method has been used to assess the coefficient of correlation with the procedure described above.

Results: Data collected within the timespan January 1st, 2019 and January 31st, 2019 have been evaluated. From the total number of 171 samples delivered to microbiological examination using Maki's semi-quantitative method and the method consisting of immersing the catheter's distal end into culture medium, 91 samples

(53.2 %) have proved to be positive, and 80 samples (46.8 %) have been proved negative. The positive culture samples have shown the contamination of catheter in 18 samples (28.1 %), according to the assessment criterion of 15 colony forming units, and significant colonization in 46 samples (71.9 %). Bacteria *Staphylococcus epidermidis*, confirmed in 54.9 % of samples, has been the most frequently identified microbial agent. The samples of 12 patients have been also subject to blood culture method, resulting in 9 correlations with the above-mentioned testing method, and a system catheter sepsis has been determined. In these cases, the gram-positive bacteria *Enterococcus faecalis* has been approved to be the most frequently identified microbial agent (44.4 %).

Conclusions: The central venous catheters of patients suffering from inexplicable fever have been subject to microbiological examination with the result of 91 samples (53,2 %), out of 171 samples of central venous catheters, stated positively. Coagulase negative staphylococci, especially *Staphylococcus epidermidis*, have proved to be the most frequently isolated and identified microbial agent. *Enterococcus faecalis* or *Pseudomonas* have been other frequently isolated microorganisms. The results agree to data defined in scientific studies.

Key words: Central venous catheter (CVC), Maki's method, catheter colonization, catheter related infections, biofilm formation, microbiological examination of catheters.

3. ÚVOD

V dnešní době patří využití centrálních venózních katétrů k základním rysům moderní zdravotnické péče. Jednou z mnoha výhod zavedeného katétru je možnost průběžného přístupu do cirkulace krevního řečiště za účelem podávání léků, elektrolytů či krevních produktů. Péče o katétr musí být profesionální, protože i přes četné výhody, které pacientovi venózní katétr přináší, mohou nastat komplikace spojené s jeho zavedením. Mezi nejzávažnější komplikace pak patří jistě infekce, které zvyšují morbiditu a mortalitu pacientů. Pokud se u pacienta se zavedeným centrálním katétreem rozvine nevysvětlitelná horečka, je důležité rozhodnout, zda je nutné katétr vyjmout, nebo ponechat. V případě, že kauzální příčinu horečky nelze objasnit, je volena varianta odstranění katétru a jeho zaslání ke kultivačnímu vyšetření.

Kultivační vyšetření distálního konce katétru poskytuje hodnotnou informaci pro klinického lékaře i za cenu ztráty žilního přístupu. Tato vyšetření se využívají k určení toho, zda je katétr kontaminován či kolonizován mikroorganismy, tedy, zda katétr může být skutečně rezervoárem infekčních agens, která mohou u pacienta vyvolávat jak výše zmíněné horečnaté stavy, či dokonce až život ohrožující stav. Nejčastější příčinou infekcí sdružených se zavedením katétru jsou mikroorganismy, které jsou běžnou součástí mikrobiomu kůže, konkrétně pak koaguláza negativní stafylokoky.

Teoretická část této práce podává přehled o současných možnostech zaváděných venózních katétrů z hlediska místa jejich zavedení či použitého materiálu a dále jsou zde také popsány techniky průkazu osídlení katétrů mikroorganismy.

Experimentální část práce se zabývá hodnocením nálezů mikrobiologického šetření centrálních venózních katétrů, které byly získány semikvantitativní metodou dle Makiho. Data pro experimentální část diplomové práce byla získána kultivačním šetřením vzorků zaslaných na mikrobiologické oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. v období od 1. 1. 2019 do 30. 1. 2019. V diskuzní části je pak hodnoceno, zda námi získaná data korelují s daty uvedenými v odborných studiích.

4. ZADÁNÍ - CÍL PRÁCE

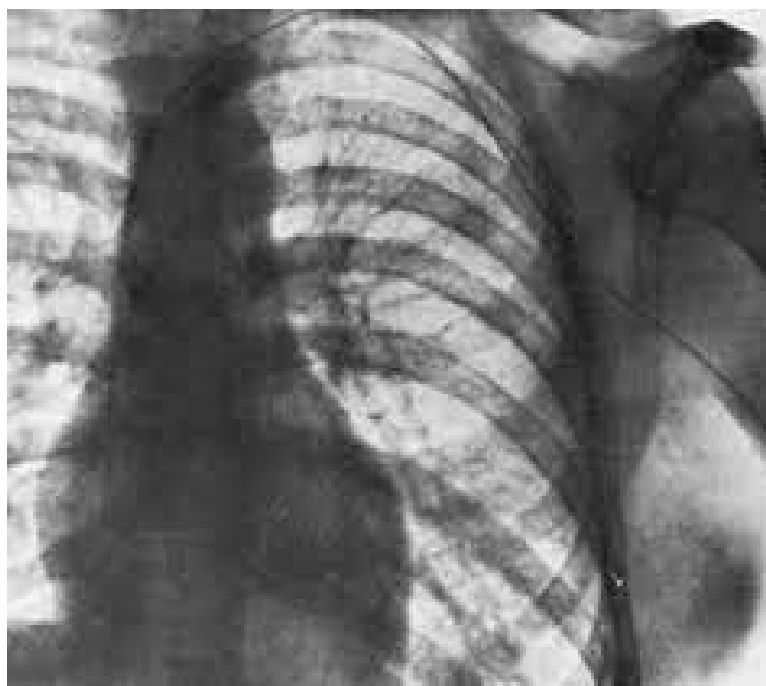
Cílem této diplomové práce je poskytnout přehledné pojednání o problematice mikrobiologické diagnostiky původců, kteří stojí za infekčními procesy sdruženými se zavedením centrálního venózního katétru. Klíčovým úkolem této práce je zhodnotit nálezy z hlediska četnosti výskytu jednotlivých mikrobiálních agens a určit, zda tyto výsledky korelují s daty uváděnými v publikovaných studiích. Dílčím cílem práce je zjistit míru osídlení venózního katétru mikroorganismy, tzn. v kolika případech pozitivního kultivačního výsledku bylo vyhodnoceno, že šlo o kontaminaci či signifikantní kolonizaci. Případně zda byla potvrzena, po korelaci s výsledky z hemokultivačního vyšetření, také systémová katéetrová infekce.

TEORETICKÁ ČÁST

5. CENTRÁLNÍ VENÓZNÍ KATÉTRY

5.1 Historické milníky sdružené s využitím venózních katétrů v klinické praxi

Prvním historicky významným průkopníkem katetrizace byl pan Werner Forssmann. Tento mladý německý lékař popisuje pokus o zavedení gumové hadičky do centrálního žilního systému sám na sobě. Po zasunutí do hloubky 65 cm se dostal konec katétru až do pravé srdeční síně a to bez jakýchkoli komplikací. Doktor Forssmann kontroloval pozici špičky katétru pomocí rentgenu, na kterém poté i výsledek zákroku jako první zachytil (Obrázek 1). Roku 1956 mu pak byla udělena za tento počin Nobelova cena v oblasti fyziologie a medicíny. Postupně se přidávali další lékaři s novými technikami katetrizace. [1]



Obrázek 1: První historicky doložený skiagram katetrizace centrálního žilního řečiště.

Převzato z Charvát J., 2016 [1].

V roce 1952 byla popsána technika zavedení katétru po flexibilním vodiči, který byl luminizován skrze punkční jehlu, tzv. Seldingerova technika. Tato technika se stala zlatým metodickým standardem. Výrazným pokrokem bylo zavedení mikrozaváděcí techniky a modifikované Seldingerovy techniky, což mělo za následek zvýšení úspěšnosti inserce na 92 – 100 %. [1]

Koncem 70. let 20. století byly přijaty indikace a kontraindikace pro použití centrálních žilních katétrů a také docházelo k vývoji nových materiálů pro výrobu katétrů. [2]

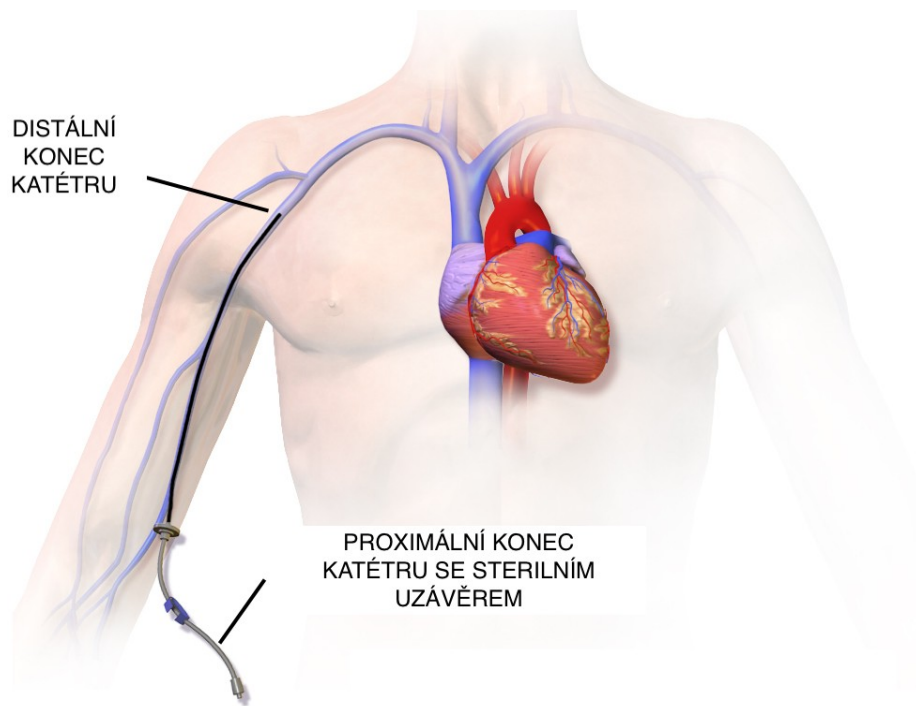
5.2 Druhy centrálních venózních katétrů

V dnešní době je k dispozici velké množství centrálních venózních katétrů s různými odlišnostmi a inovacemi. Katétrý jsou dodávány vždy jako sterilní soupravy pro jedno použití a v rámci dodané soupravy je obsaženo vše potřebné k zavedení. [3]

Centrální venózní katétrý (CVK) lze dělit z několika různých hledisek. Obecně jsou rozlišovány otevřené a uzavřené systémy. Podle předpokládané doby zavedení pak lze katétrý rozdělit na ty pro krátkodobé, dále střednědobé a dlouhodobé zavedení. Dalším specifikem katétrů může být, že mají buď jedno či více lumen (průtokových cest). Jednolumenné katétrý je vhodné použít u jednodušších diagnosticko-terapeutických postupů. V tomto případě je nutná vzájemná kompatibilita podávaných látek. U vícelumenných katétrů jsou jednotlivé průtokové cesty různě široké. Ústí každé průtokové cesty na distálním konci katétru je od sebe dostatečně vzdálené, aby nedocházelo k jejich nežádoucí interferenci. [5, 7]

5.2.1 Venózní katétrý pro krátkodobé zavedení

Tento typ katétrů patří mezi otevřené systémy. Pro krátkodobou léčbu v řádu několika dní lze využít konvenční periferní kanylu. Slouží k podávání léčiv o pH 5,0-9,0 a osmolaritě do 500 mOsm/l. Pro aplikaci se volí periferní žíly v oblasti předloktí, protože zavedení v tomto místě je zpravidla snadné a časově nenáročné. O něco delší životnost pak vykazují tzv. „midline“ katétrý. Jejich délka je zhruba 15-30 cm a konec katétru je umístěn nejčastěji ve *vena axillaris* (podpažní žíla, Obrázek 2). Ani tyto katétrý tedy umístěním distálního konce katétru nesplňují kritéria pro centrální kanyly. [4, 5]



Obrázek 2: Midline katétr.

Převzato z Blausen Medical, 2016 [10] a upraveno.

V některých případech je však nezbytné podání léčiva do centrálního krevního řečiště. Zde jsou využívány netunelizované centrální vstupy, kdy délka léčby nepřesahuje více jak deset dní. Tento způsob by měl být využíván pouze pro hospitalizované pacienty. [5]

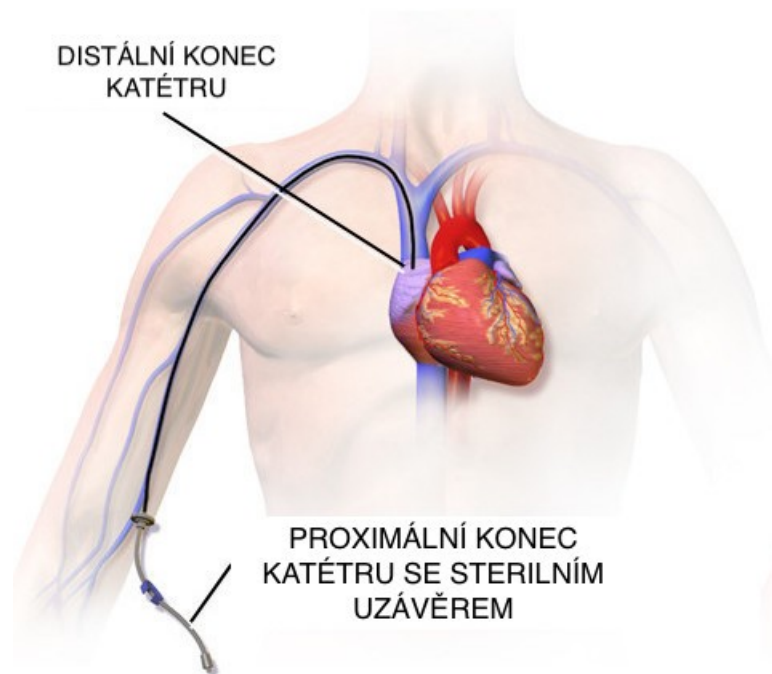
5.2.2 Venózní katétry pro střednědobé a dlouhodobé zavedení

Střednědobé a dlouhodobé venózní vstupy představují otevřené i uzavřené systémy, které umožňují lékařům aplikovat léky či parenterální výživu přímo do centrálního krevního řečiště po dobu několika měsíců až let. Tyto centrální vstupy jsou určeny nejen pro hospitalizované, ale především pro dlouhodobou ambulantní péči, protože při dlouhodobé léčbě by byl periferní systém pacienta výrazně zatěžován. Hojně jsou využívány zejména v onkologii nebo při hemodialýze. [6, 7]

Dalším důvodem volby centrální venózní katetrizace je aplikace léků, u kterých je striktně doporučeno podávání do centrálního řečiště s ohledem na jejich pH, osmolaritu či chemickou strukturu. Dále jsou využívány u pacientů, kterým hrozí rozvoj žilní nedostatečnosti. [7]

V současné době jsou využívány tři typy dlouhodobých centrálních venózních vstupů. Prvním jsou z periferie zavedené centrální katétry, tzv. PICC (peripherally inserted central catheter) katétry, dále pak tunelizované centrální žilní katétry a intravenózní porty. [8, 9]

PICC katétr – periferně implantovaný centrální katétr, který se zavádí za ultrazvukové navigace do některé z žil na paži – *vena brachialis* (pažní žíla), *vena cephalica* (hlavová žíla) nebo do *vena basilica* (povrchová žíla na malíkové straně). V posledních letech se tyto katétry využívají i na jednotkách intenzivní péče jako alternativa CVK. Konec katétru je uložen v oblasti kavoatriální junkce (Obrázek 3). [7, 11]

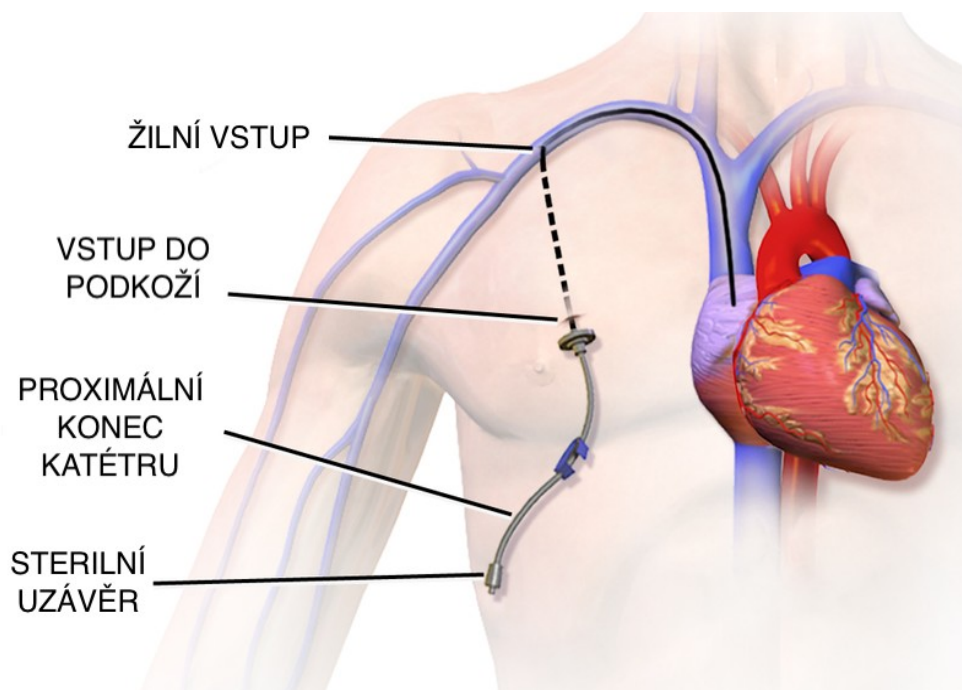


Obrázek 3: Periferně implantovaný centrální venózní katétr.

Převzato z Blausen Medical, 2016 [10] a upraveno.

Tunelizované CVK – zavádí se přes podkožní tunel. Součástí je speciální dakronová manžeta, která zajistí fixaci katétru a také umožňuje prorůstání epitelu. Vytváří tak bariéru zamezující případnému prostupu infekce (Obrázek 4). Tyto katétry se nejčastěji využívají pro podávání parenterální výživy u ambulantních pacientů nebo pro podávání léků v domácím prostředí. Tunelizované CVK jsou buď jednocestné nebo dvoucestné. Mezi jednocestné katétry řadíme Broviacův, Hickmanův nebo Hohnův katétr. Jsou

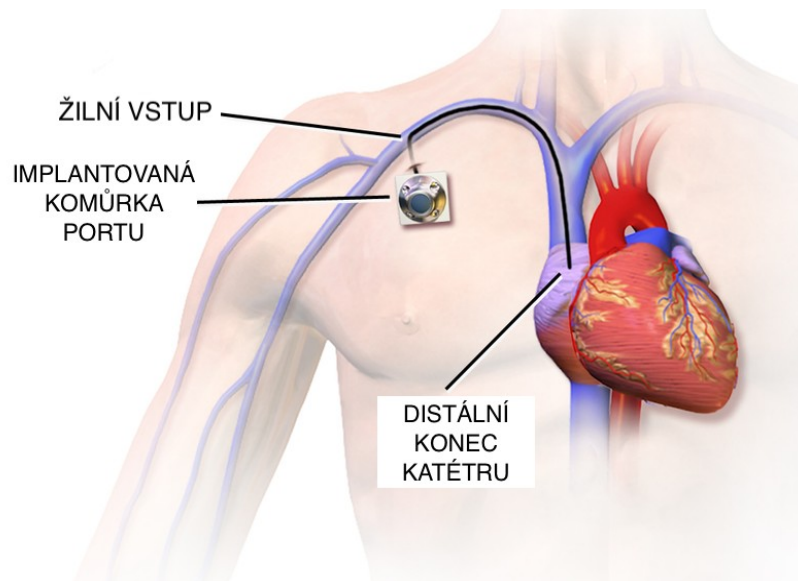
využívány pro pacienty v ambulantní péči. Pro hospitalizované pacienty se preferují katétrů dvoucestné, které umožňují podávat léky separátně. [1, 12]



Obrázek 4: Tunelizovaný centrální venózní katétr.

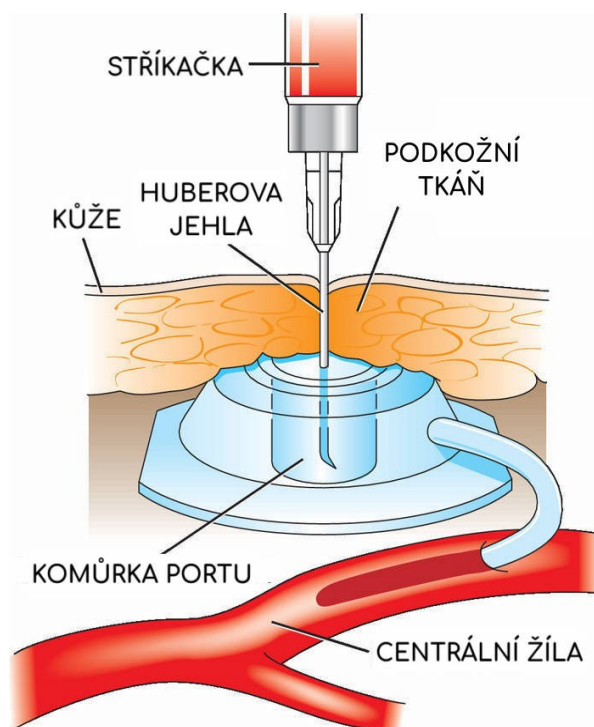
Převzato z Blausen Medical, 2016 [10] a upraveno.

Intravenózní porty – nejčastěji se implantují u onkologicky nemocných na základě indikace klinického onkologa. Implantabilní porty významně zkvalitňují život onkologickým pacientům. Porty se skládají z portové komůrky a katétru, což se někdy označuje společným názvem port-katétr. Chirurgicky se ukládají do podkožní kapsy, nejčastěji v podklíčkové krajině (Obrázek 5) a k aplikaci do portu je pak nutné využívat Huberovu jehlu (Obrázek 6), která má speciální hrot, aby nedošlo k poškození portu. Hrot vytvoří pouze trhlinu v silikonové membráně a ta se potom vlivem elasticity po vytažení jehly neprodyšně uzavře. Další využití port-katétrů je aplikace parenterální výživy či analgetik. Doba zavedení portů může být několik měsíců až let. [12, 13]



Obrázek 5: Intravenózní port.

Převzato z Blausen Medical, 2016 [10] a upraveno.



Obrázek 6: Huberova jehla k jednorázové aplikaci do portu.

Převzato z McGraw-Hill Concise Dictionary of Modern Medicine, 2002 [14] a upraveno.

6. INDIKACE PRO ZAVEDENÍ CENTRÁLNÍCH VENÓZNÍCH KATÉTRŮ

Indikací k zavedení CVK je mnoho. V intenzivní péči je katetrizace velmi častým výkonem pro potřebu zajištění kvalitního žilního vstupu po operacích, různých traumatech či jiných závažných stavech. [15, 16]

Mezi další nejčastější indikace k zavedení CVK patří:

- aplikace velkých objemů (v delším časovém horizontu)
- aplikace parenterální výživy
- podávání léků dráždící žilní stěnu (např. cytostatika)
- aplikace vysokoosmolárních léků (nad 500 mOsm/l)
- měření centrálního žilního tlaku
- eliminační mimotělní metody (dialýza, plazmaferéza)
- nedostatečný periferní vstup (kolabované periferní žíly)

6.1 *Místa vstupu v rámci katetrizace centrálního žilního systému*

Výběr přístupu do centrálního žilního řečiště se volí dle klinické situace a také zkušenosti lékaře. Katetrizaci provádí lékař za přísně aseptických podmínek v lokální anestezii. Následnou péči o katétr již přebírá kvalifikovaná sestra. [1, 17]

Před zavedením CVK je vhodné minimalizovat možné komplikace tím, že se vychází z anamnestických údajů ohledně předchozích žilních vstupů a provede se sonografické vyšetření pro výběr vhodné žíly. Dále je před zavedením požadováno vyšetření koagulace, aby se předešlo pozdějším komplikacím. [17]

Nejčastěji se CVK zavádí do povodí žil, které ústí do horní duté žíly a to vstupem *vena subclavia*, *vena jugularis interna* nebo žíly v loketní jamce (*vena basilica*, *vena cephalica* či *vena brachialis*). Další možností je katetrizace dolní duté žíly cestou *vena femoralis*. V ojedinělých případech se musí volit alternativní přístupy, které se standardně nevyužívají (translumbální přístup do dolní duté žíly, transkolaterální

přístup, přímá punkce brachiocefalické žíly). Důvodem pro použití je většinou rozsáhlá trombóza nebo malformace žilního systému. [18]

Přístupy do centrálního řečiště:

- **Vena subclavia (žíla podklíčková)** – je centrálním pokračováním *vena axillaris* a dlouhá léta byla považována za „žílu volby“ pro kanylaci. Tento vstup je komfortní pro pacienta a je vhodný i pro dlouhodobou léčbu, i když je tento přístup spojován s větším podílem mechanických komplikací. [1, 19]
- **Vena jugularis interna (vnitřní krční žíla)** – odvádí krev z lebeční dutiny, z hlavy a krku. Žíla má široký průsvit a snadno se lokalizuje. Tento přístup vykazuje nízkou četnost komplikací jako je např. pneumothorax. [1, 19]
- **Žíly na paži** – je to např. *vena basilica* nebo *vena cephalica*, které lze využít pro periferní vstup do centrálního řečiště – PICC katétry. [1, 19]
- **Vena femoralis (žíla stehenní)** – při punkci této žíly je vhodná poloha pacienta v lehké externí rotaci a abdukci. Tento přístup se často využívá jako urgentní vstup. Nevýhodou je větší riziko infekčních komplikací. [1, 19]

6.2 Komplikace sdružené s centrální žilní katetrizací

Centrální žilní katetrizace je invazivní zákrok. V případech, kdy to situace dovolí, je nutné, aby byl pacient seznámen s riziky výkonu a možnými komplikacemi. Pacient také podepíše informovaný souhlas výkonu. Záznam o zavedení katétru je nedílnou součástí dokumentace klienta. [17]

Komplikace můžeme rozdělit na ty, které vznikají během katetrizace a nebo na komplikace již zavedených katétrů. [20]

Komplikace během katetrizace:

- poranění pleury a následný pneumothorax
- vzduchová embolie
- srdeční arytmie vyvolané vodícím drátem
- poranění přilehlých nervů

- punkce arterie
- žilní hematom
- poranění brachiálního plexu
- neúspěšná katetrizace

Komplikace spojené s již zavedeným katétrem:

- infekce, včetně katéetrové seapse
- žilní trombózy
- lokální kožní infekce
- dislokace katétru
- ruptura katétru a jeho migrace [21]

6.3 Ošetrovatelská péče o katétr

Péče o zavedený katétr musí být velmi profesionální a vše musí být řádně dokumentováno. Každé zdravotnické zařízení by mělo mít vypracovaný standard ošetrovatelské péče, který odpovídá konkrétnímu typu katétru. [22]

Ošetrovatelská péče je zajištěna proškolenými osobami, jejichž kompetence vychází z platné legislativy. Zejména z vyhlášky č. 55/2011 Sb. o činnostech zdravotnických pracovníků a jiných odborných pracovníků, ve znění pozdějších předpisů. [22]

Jak již bylo zmíněno, samotnou katetrizaci vždy provádí lékař a následná péče po výkonu je již v rukou kvalifikované sestry. Po ukončení katetrizace sestra upraví polohu pacienta a předá mu informace o následné péči o katétr. U hospitalizovaných pacientů by měl být katétr kontrolován nejméně jedenkrát denně. Při převazu, který se provádí vždy za aseptických podmínek, se hodnotí vzhled místa inserce. Místo by nemělo jevit známky infekce. Dále se hodnotí, zda nedošlo k dislokaci katétru. Staré krytí se odstraňuje je-li viditelně znečištěné, odlepuje se nebo prosakuje. [22, 23]

Nejčastěji používanými dezinfekčními roztoky v péči o žilní vstup jsou 70% ethanol, 2% chlorhexidin a nebo povidon-jód. Používání barevných dezinfekcí by se měla věnovat zvláštní pozornost, protože imitují zarudnutí v okolí místa vstupu. [22]

Po každé kontrole katétru provede sestra vždy zápis do zdravotnické dokumentace. Zde vypíše použité zdravotnické prostředky třídy IIb a III, informace o průchodnosti katétru, zhodnocení místa vpichu. Záznam o kontrole nebo převazu CVK provádí kompetentní sestra každou směnu. [22]

7. KONTRAINDIKACE PRO ZAVEDENÍ CENTRÁLNÍCH VENÓZNÍCH KATÉTRŮ

Při inzerci centrálních venózních katétrů se musí brát v úvahu celkový zdravotní stav pacienta. Vždy by měly převažovat výhody zavedení nad nevýhodami. Kontraindikace můžeme rozdělit na absolutní a relativní. [24]

Absolutní kontraindikace:

- infekce kůže v místě vpichu
- bakteriémie, septikémie
- nesnášenlivost materiálů použitých k výrobě katétrů
- traumatická poranění na straně inserce

Relativní kontraindikace:

- porucha hemostázy (koagulopatie, trombocytopenie)
- morbidní obezita
- anatomické abnormality na straně inserce
- psychická intolerance cizorodého materiálu v těle
- malá zkušenost ošetřujícího personálu

Dále pak v urgentních stavech je bezpečnější a výhodnější katetrizace více periferních vstupů před pokusy katetrizace centrální žíly. [25]

8. MATERIÁLNÍ A TECHNICKÉ VLASTNOSTI CENTRÁLNÍCH VENÓZNÍCH KATÉTRŮ

V dnešní době jsou k dispozici výrobky od řady firem, které se však liší nejen vlastnostmi, ale mnohdy i kvalitou. Katétrů musí splňovat stále vyšší nároky na komfort a bezpečnost při zavádění. Lze tak vybrat pro konkrétního pacienta a pro konkrétní účel optimální variantu katétru. [26]

8.1 Typy materiálů používaných k výrobě katétrů

V minulosti byl jedním z prvních materiálů používaných k výrobě katétrů polyetylen nebo polyvinylchlorid. Při použití těchto materiálů však často docházelo ke komplikacím, především trombotickým. Další nevýhodou byla tvrdost materiálu a tím jeho horší ohebnost, což často vedlo k poškození cévy při zavádění katétru. [26, 27]

V průběhu let došlo k rozšíření využití katetrizace a tím také k vývoji nových materiálů. V dnešní době patří k nejčastěji používaným materiálům silikon a polyuretan. Každý z těchto materiálů má své výhody i nevýhody, které je nutné respektovat při výběru daného katétru. [1]

8.1.1 Silikonové katétrů

Silikon je vhodným materiálem pro výrobu tunelizovaných centrálních katétrů a PICC, jelikož vykazuje teplotní, chemickou i enzymatickou stabilitu. Silikonové katétrů jsou jemné a díky svým hydrofobním vlastnostem se považují za lépe kompatibilní s léčivými a brání biodegradaci. Další výhodou je menší riziko zalomení při zavádění. Naopak nevýhodou silikonového materiálu je jeho omezená pevnost, kterou lze zvýšit zesílením stěny katétru; a také možnost poškození peroxidem nebo povidon-jódem. [1]

8.1.2 Polyuretanové katétrů

Ve srovnání se silikonem je polyuretan tužší a pevnější materiál, který řadíme k tzv. termoplastickým polymerům. Při tělesné teplotě polyuretan změkne, čímž se snižuje riziko poškození endotelu. Nevýhodou polyuretanových katétrů je

biodegradace, které podléhají při dlouhodobém zavedení a také náchylnost k poškození při použití alkoholových dezinfekčních přípravků. [1, 28]

8.2 Povrchová úprava centrálních venózních katétrů

Zavádění jakýchkoli umělých materiálů do organismu je spojeno s rizikem bakteriální kontaminace, infekce či nežádoucích účinků. Mikrobiální kontaminace může vést až k formování mikrobiálních společenství, zvaných biofilmy, které se pak stávají rezervoárem potencionálních infekčních nox. Vzhledem k tomuto nezanedbatelnému riziku zde byla snaha o vývoj nových materiálů a způsobů ochrany katétrů. [26, 29]

Při popisu způsobů ochrany katétrů využíváme pojmy „impregnovaný“ nebo „potažený“. Rozdíl mezi těmito termíny je v procesu zpracování. U potažených katétrů je povrch chráněn pružným povlakem, který se tvoří po namočení katétru do roztoku s příměsí antimikrobiální látky a jeho následném usušení. Proces impregnace se skládá ze dvou základních fází. V první fázi se vytvoří antimikrobiální směs, která inhibuje růst mikroorganismů. Součástí této směsi je organické rozpouštědlo a impregnační činidlo, které usnadňuje průnik do materiálu katétru. Ve druhé fázi se katétr při zvýšené teplotě vystaví připravené antimikrobiální směsi a tato látka vstupuje do materiálu katétru. [30]

Typy ochrany CVK:

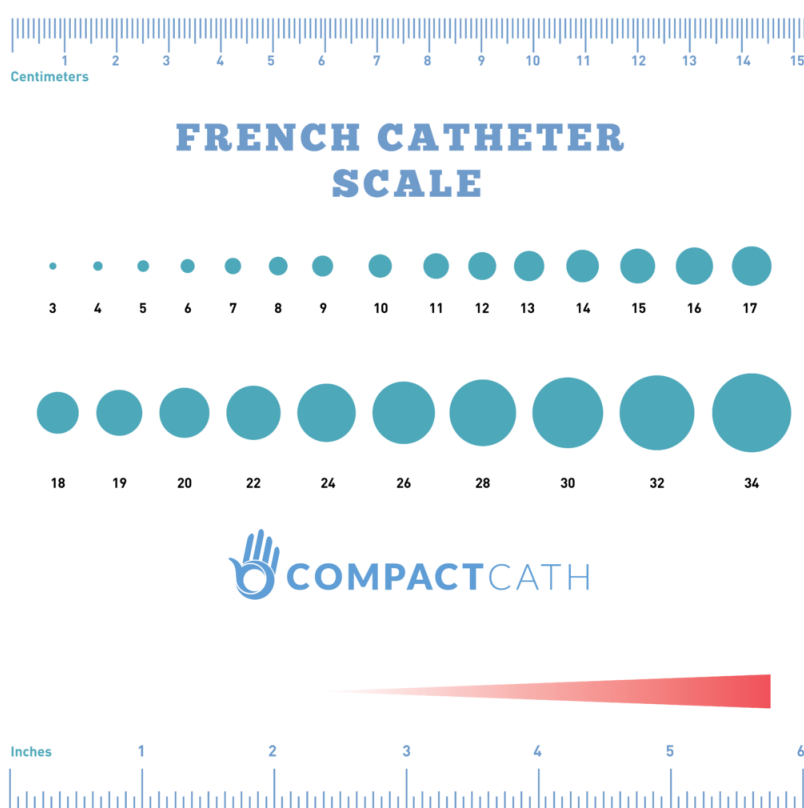
- **chlorhexidin/sulfadiazin stříbra** – patří mezi jeden z nejstarších způsobů úpravy. Chlorhexidin je antiseptikum se širokým baktericidním účinkem jak na grampozitivní, tak i na většinu gramnegativních bakterií. V případě gramnegativních bakterií rodu *Pseudomonas* a *Proteus* byla zjištěna nižší účinnost. Předpokládaným mechanismem účinku je rozrušení buněčné membrány. Sulfadiazin stříbra je sůl, která je tvořená aniontem sulfonamidového chemoterapeutika, sulfondiazinu a kationtem stříbra. Katétrů s tímto typem ochrany jsou velmi účinné při krátkodobém zavedení (přibližně doba jednoho týdne). Nežádoucím účinkem může být senzibilizace pacienta uvolňujícím se chlorhexidinem nebo sulfadiazinem stříbra. Ve výsledku může dojít až k život ohrožující anafylaktické reakci. [30, 31]

- **antibiotika** – stále se hledá vhodná kombinace antibiotik a způsob jejich aplikace na katétr. Problémem bývá buď nedostatečná účinnost vůči bakteriím, nebo příliš rychlé uvolňování antibiotika z katétru. Jako nejvhodnější kombinace v *in vitro* testech se nakonec ukázala kombinace rifampicinu s minocyklinem. Minocyklin je primárně bakteriostatické antibiotikum odvozené od tetracyklinu. Jeho efekt spočívá v inhibici syntézy proteinů. Rifampicin patří mezi polosyntetické deriváty rifamycinu B. Toto antibiotikum má baktericidní účinek způsobený inhibicí DNA-dependentní RNA polymerázy. Začaly vyvstávat obavy, zda je při používání těchto katétrů riziko vzniku rezistence vůči použitým antibiotikům. Studie, které se zabývaly tímto problémem, však neprokázaly významně zvýšenou rezistenci bakterií vůči rifampicinu či minocyklinu. [30, 32]
- **stříbro** – vykazuje antimikrobiální účinek, který je nazýván oligodynamickým účinkem. Antimikrobiální účinky jsou vázané na ionizovanou formu stříbra a je zde tudíž nutná přítomnost volných kationtů stříbra. V závislosti na koncentraci se mění účinky z bakteriostatických na baktericidní. Ionty stříbra působí na gramnegativní i grampozitivní bakterie. Najde se však malé množství bakterií, které vykazují rezistenci vůči stříbru. Riziko akutní či chronické toxicity stříbra pro lidský organismus je nízké. [30]
- **stříbro/platina/uhlík** – v polyuretanovém katétru mohou být rozptýlené částice stříbra a platiny. Pomocí procesu oligodynamické iontoforézy je snaha o redukcí bakteriální kolonizace. Principem je oxidačně-redukční reakce, kde stříbro předává elektron platině a vzniká iont, který se uvolňuje do prostředí. Jemně rozptýlené částice uhlíku pak zajišťují vodivé prostředí a vytvoří se tak galvanický článek, který je aktivován v roztoku elektrolytu (krev). [30]
- **5-fluorouracil** – je dobře prozkoumaná látka, jejíž potenciál tkví v tom, že není běžně užívaná v praxi. Z tohoto důvodu se předpokládá nízká rezistence mikroorganismů, a tím i malá pravděpodobnost vzniku multirezistence. [1]
- **polyhexanid** – je vysokomolekulární polymer, kterým je ošetřen vnější i vnitřní povrch katétru. Díky polarizaci povrchu katétru dochází při kontaktu mikroorganismu s katétrek k narušení struktury buněčných membrán.

Dlouhodobý účinek zajišťuje chemická reakce probíhající mezi materiálem katétru a ochranným povlakem. [29]

8.3 Velikost katétrů

Při výběru katétru je rozhodující i jeho velikost. K měření velikosti se nejčastěji využívá stupnice francouzského měřicího systému **french** se zkratkou **Fr** (Obrázek 7). Jednotka Fr představuje jednu třetinu milimetru ($1\text{Fr} = 1/3 \text{ mm}$), neboli 1 mm pak odpovídá 3 Fr. Pro velikost jehel využíváme jednotky **gauge** (**G**). Zde platí, čím větší hodnota G, tím menší vnitřní průměr jehly. [33]



Obrázek 7: Stupnice pro měření velikosti katétru.

Převzato z www.compactcath.com, 2018 [53].

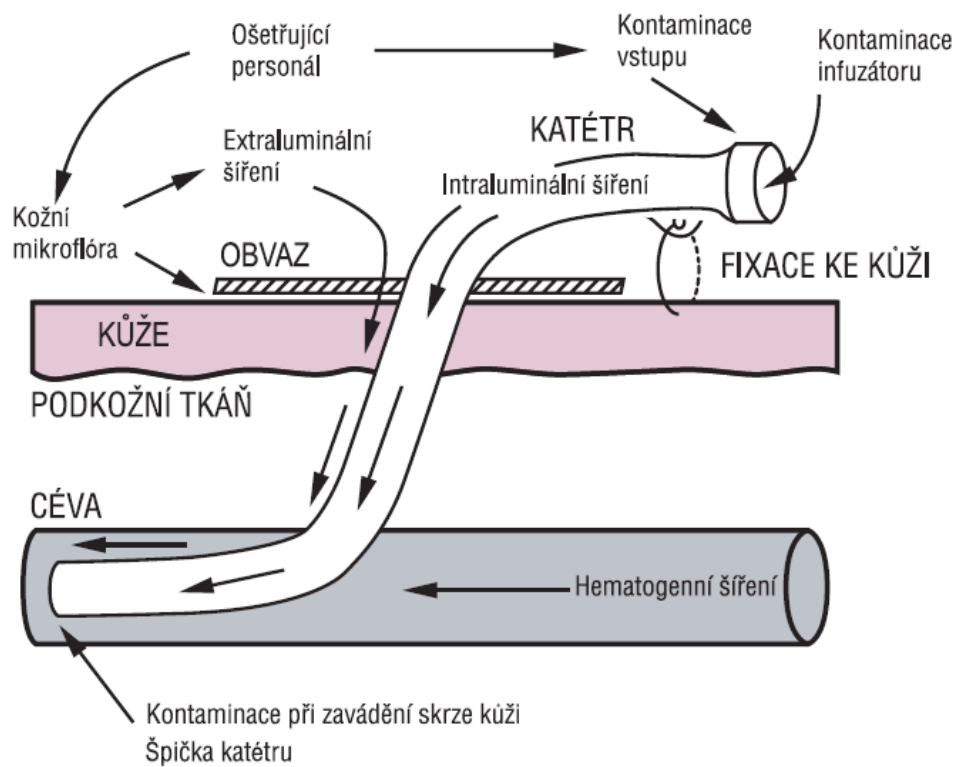
9. PATOGENEZE INFEKČÍ SDRUŽENÝCH SE ZAVEDENÍM KATÉTRŮ

Ve zdravotnických zařízeních patří centrální katetrizace mezi nejčastější výkony. Tyto invazivní vstupy do centrálního řečiště tak řadíme mezi rizikové faktory pro vznik infekce. Katérové infekce vznikají v souvislosti s osídlením venózního katétru mikroorganismy, které mohou po nějaké době formovat biofilm. [34]

Infekce sružené se zavedením katétrů se pak mohou projevit lokálně, tedy v místě vpichu a nebo v tunelu katétru. Dále může jít o systémové infekce, které často probíhají jako sepse, nereagující na antibiotickou terapii. Po vyjmutí katétru se ale často zdravotní stav zlepšuje. Pokud se však zdravotní stav vyjmutím katétru nezlepší, jedná se již o život ohrožující katérové sepse. [35]

V zásadě existují čtyři potenciální možnosti kontaminace, které mohou vést k následnému osídlení venózního katétru mikroorganismy (Obrázek 8):

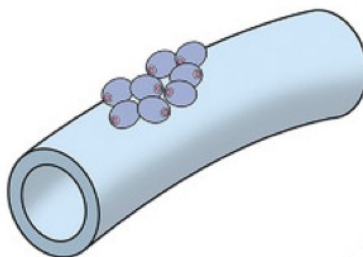
- migrace mikroorganismů, vyskytujících se na kůži, z místa vpichu podél zevního povrchu katétru (extraluminálně) (Obrázek 9), což se může projevit zarudnutím a otokem v místě inzerce. Při progresi se objevuje hnisavá sekrece. Postižené místo se lokálně ošetřuje speciálními prostředky. V některých případech je však nutné katétr vyjmout. [36]
- hematogenní cestou z jiného ložiska v organismu (intraluminálně) (Obrázek 10). Tato možnost je častější u dlouhodobě zavedených katétrů.
- kontaminací rukama zdravotnického personálu nebo kontaminovanými pomůckami.
- po podání kontaminovaných infuzních roztoků



Obrázek 8: Možné zdroje kontaminace venózního katétru.

Převzato z Čermák P., 2021 [54].

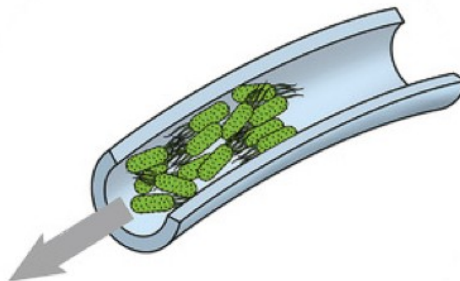
EXTRALUMINÁLNÍ OSÍDLENÍ



Obrázek 9: Extraluminální osídlení katétru.

Převzato z Ramstedt M. et al., 2019 [69] a upraveno.

INTRALUMINÁLNÍ OSÍDLENÍ



Obrázek 10: Intraluminální osídlení katétru.

Převzato z Ramstedt M. et al., 2019 [69] a upraveno.

Při vzniku katérových infekcí hrají důležitou roli určité faktory. Mezi ty nejvýznamnější faktory řadíme:

- typ zaváděného katétru a materiál, ze kterého je vyroben
- délka doby zavedení katétru
- místo inzerce katétru
- podávání plné parenterální výživy
- zkušenosti lékaře
- ošetřování místa zavedení katétru

Katérové infekce řadíme mezi tzv. nozokomiální nákazy, tedy nákazy získané během hospitalizace. Představují pro zdravotnická zařízení velikou zátěž, jelikož jejich následkem je prodloužená doba hospitalizace, zvýšené náklady na léčbu a v neposlední řadě se zvyšuje i morbidita a mortalita. [37, 38]

V souvislosti s infekcí katétrů existuje několik definic, které se užívají v praxi:

- **CLABSI** (central line associated bloodstream infection) – tento termín se užívá ve Spojených státech amerických v CDC (Centers for Disease Control and

Preventions) pro epidemiologické účely a pro laboratorně potvrzené nálezy u pacientů s CVK během prvních 48 hodin

- **CRBSI** (catheter-related bloodstream infection) – tato definice je o něco přesnější a využívá se především pro výzkumné účely a pro označení laboratorně prokázaných infekcí z CVK a periferní krve ve dvou sadách a nebo kultivačně z konce venózního katétru
- **CRB** (catheter-related bacteremia) – laboratorně prokázaná bakteriémie související se zavedením venózního katétru

9.1 Původci infekcí sdružených se zavedením katétrů

Zdrojem infekcí sdružených se zavedením katétrů jsou velmi často mikroorganismy, které jsou součástí kožní mikroflóry. Nebezpečí spočívá v tom, že během hospitalizace dochází v mnoha případech k utlačení přirozené mikroflóry pacienta nemocničními mikroorganismy s patogenním potenciálem.

Infekce kanyl jsou tedy řazeny mezi tzv. nozokomiální nákazy. Mezi nejčastěji izolované mikroorganismy z CVK patří koaguláza negativní stafylokoky, dále gramnegativní bakterie, *Staphylococcus aureus*, enterokoky a nebo kvasinky. [39, 40]

9.2 Mikrobiální biofilm

Mikrobiální biofilm je organizované komplexní společenství mikroorganismů, které je obalené extracelulární buněčnou maticí. Tato struktura zajišťuje vhodné prostředí s přívodem potřebných živin a odvodem metabolitů. Mikrobiální biofilm se nejčastěji tvoří na rozhraní kapalného a pevného prostředí. Mikrobiální buňky jsou schopné nasedat jak na živé, tak i neživé povrchy. Život v biofilmovém společenství přináší mikroorganismům mnohé výhody, mezi něž patří například ochrana před chemickými látkami, mechanická ochrana, odolávání účinkům antibiotik, výměna genetické informace, kooperace mezi jednotlivými druhy, či ochrana před účinkem imunitního systému. Společenství mikroorganismů může být tvořeno jedním či více mikrobiálními druhy. Příkladem přirozeného biofilmu je například zubní plak.

Planktonické buňky způsobují většinou akutní infekce a biofilmy mají zase podíl především na chronických infekcích. [41]

Vývoj biofilmu je komplexní proces vyžadující spolupráci a také vzájemnou komunikaci mezi mikroorganismy. Složení biofilmu ovlivňuje mnoho faktorů jako například pohyblivost mikrobů, jejich produkty, dostupnost živin nebo hydrodynamické podmínky prostředí.

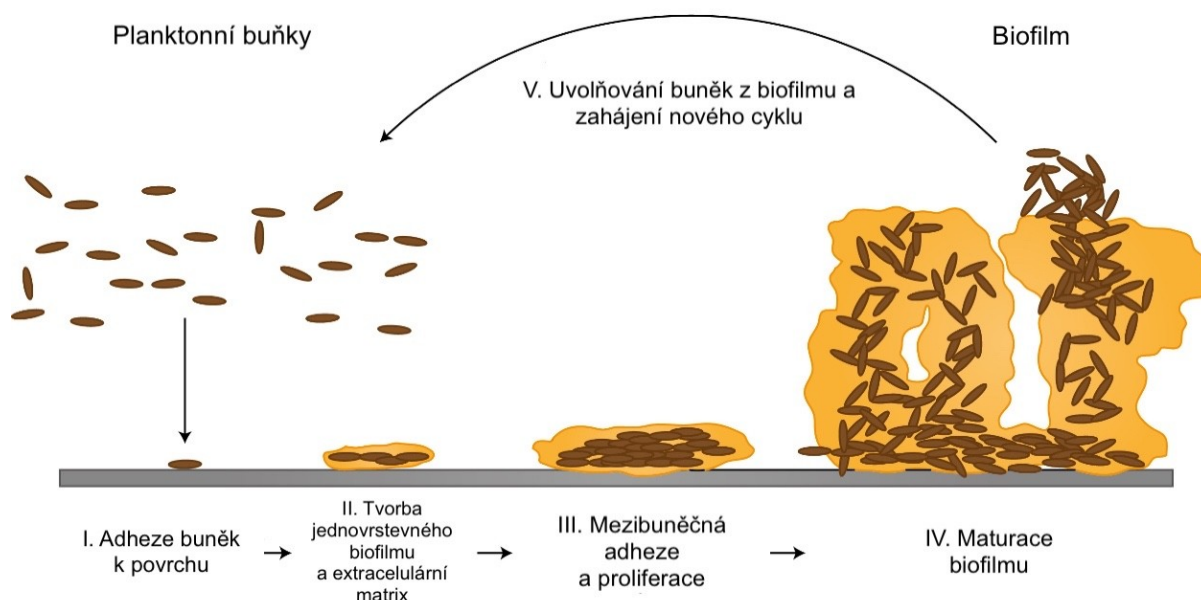
Důležitou roli zde hraje i *quorum sensing* (QS) fenomén. QS je regulační mechanismus, uplatňující se především u bakterií a kvasinek. Umožňuje bakteriím nejen komunikovat, ale také koordinovat jejich chování v populaci a přizpůsobovat se podmínkám daného prostředí. [42]

Tento regulační mechanismus má obvykle tři fáze. Během první fáze jsou produkovány signální molekuly, které buď volně difundují a nebo jsou aktivně transportovány do vnějšího okolí. Ve druhé fázi dochází ke kumulaci molekul kolem bakterie a jakmile je překročena prahová koncentrace, nastává fáze třetí. V této fázi dochází k navázání signálních molekul na receptory a tím dojde k intracelulární kaskádě dějů vedoucích ke změně v expresi v řadě genů. Tím je mikrobům umožněno produkovat látky potřebné pro adhezi k povrchu a pro zformování biofilmu. [42, 43]

9.2.1 Tvorba mikrobiálního biofilmu

Povrch venózního katétru a neustálé proudění krve vytváří vhodné podmínky pro formování biofilmu. Tvorbu biofilmu lze shrnout do několika kroků (Obrázek 11). Celý tento proces je podmíněn primárním uchycením mikrobiálních buněk na povrchu katétru. Na pevný povrch katétru se při formování biofilmu nejdříve usadí organické molekuly, které vytvoří film. Na tomto povrchu se zachytávají mikroorganismy a vytváří tak mikrobiální osídlení. Pro první fázi je typické, že je vratná, neboli reverzibilní. Na mikroorganismy působí pouze slabé Van der Waalsovy síly a soudržnost je ovlivněna např. tlakem a teplotou prostředí nebo koncentrací planktonických organismů. Druhou fází tvorby biofilmu je aktivace signálních molekul a tvorba buněčných interakcí. V tomto kroku je již adheze nevratná, neboli ireverzibilní. Pro třetí a čtvrtou fází je typická tzv. maturace neboli zrání biofilmu. Projevuje se nahromaděním buněk, růstem mikrokolonií a komunikací mezi buňkami. Jakmile je

přítomno dostatečné množství mikroorganismů, začne pracovat regulační mechanismus QS. V této fázi začnou specifické enzymy rozrušovat extracelulární matrix, čímž umožní uvolnění části mikroorganismů do okolí, které jsou pak schopné kolonizovat nová místa. [41, 42]



Obrázek 11: Schéma znázorňující tvorbu biofilmu v jednotlivých fázích.

Převzato z Hollman B. et al., 2021 [55] a upraveno.

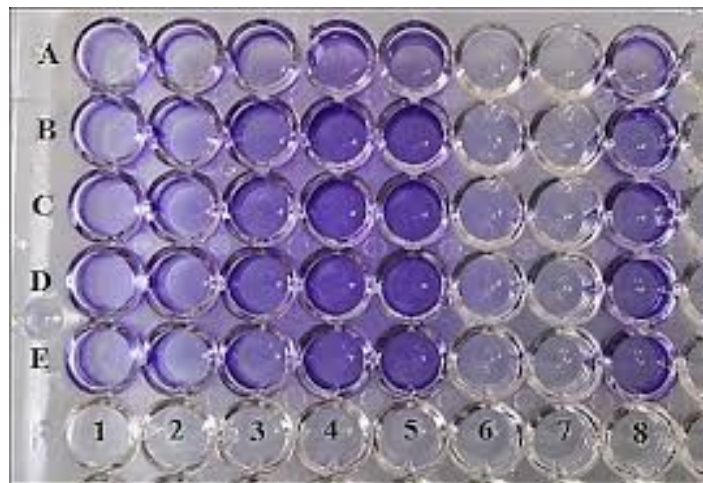
9.2.2 Metody průkazu tvorby mikrobiálního biofilmu

K průkazu tvorby biofilmu se využívá řada metod. Lze je dělit na metody fenotypové a genotypové. Mezi fenotypové metody řadíme například Christensenovu metodu ve zkumavkách, nebo její modifikovanou verzi v mikrotitračních destičkách. Dále mikroskopické pozorování obarvené vrstvy biofilmu např. na katétrech a nebo posouzení vzhledu kolonií na půdách s kongo červení. Genotypové metody jsou pak založené na průkazu genů, jejichž produkty se podílejí na tvorbě biofilmu. [42, 51]

9.2.2.1 Christensenova metoda v mikrotitračních destičkách

Jedná se o metodu, která umožňuje kvantifikaci celé biomasy biofilmu. Principem metody je barvení krystalovou violetí. Do zkumavky s tekutým médiem jsou přeneseny kolonie kultury vyizolované na krevním agaru a jsou inkubovány při teplotě 37 °C. Druhý den je inokulum přeneseno do mikrotitrační destičky a opět inkubováno

při teplotě 37 °C. Po inkubaci se obsah jamek odsaje, promyje a převrství roztokem krystalové violeti (Obrázek 12), která se nechá po určitou dobu vázat. Poté se provede extrakce navázané violeti a výsledky se hodnotí okem a nebo spektrofotometricky. Krystalová violeť se většinou váže na celý biofilm, tedy jak na buňky, které ho tvoří, tak i na extracelulární matici, a to k povrchu všech negativně nabitých molekul a polysacharidů. Průkaz v mikrotitračních destičkách umožňuje kvantifikaci tvorby biofilmu. [43]



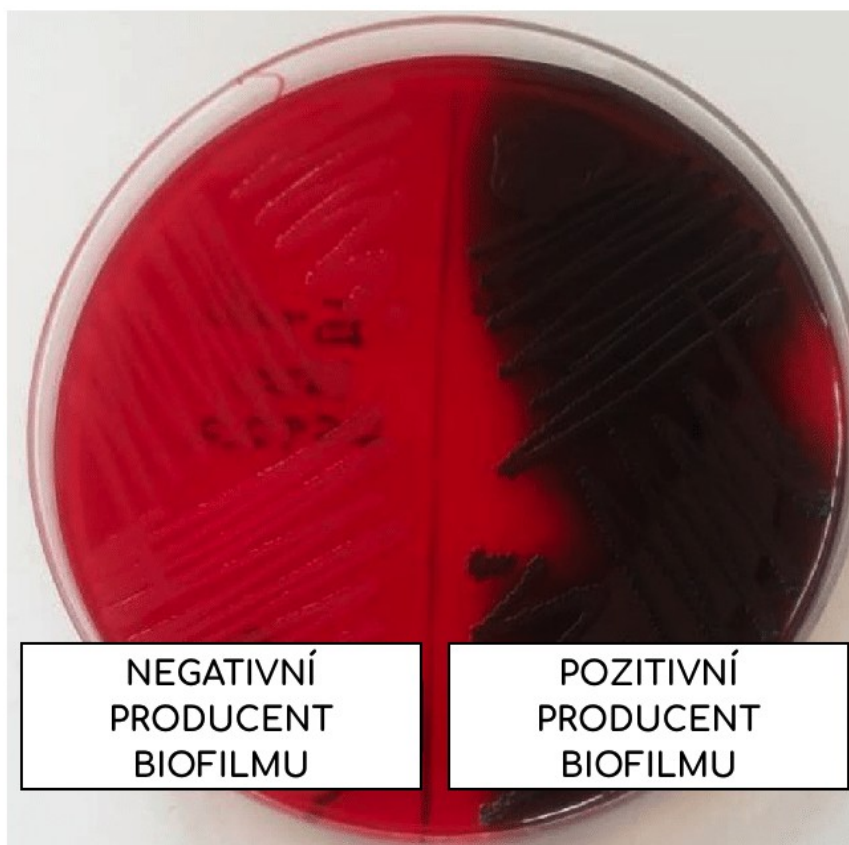
Obrázek 12: Christensenova metoda v mikrotitrační destičce.

Jamky obarvené krystalovou violetí.

Převzato z Šviráková E. et al., 2020 [56].

9.2.2.2 Kultivace na agaru s kongo červení

Principem této metody je kultivace mikroorganismů na agaru s přidavkem barviva kongo červeně. Kultivace trvá obvykle 1 - 2 dny při teplotě 37 °C. Podle vzhledu kolonií narostlých na kultivační půdě lze rozlišit, zda jde o mikrobiální kmen produkující biofilm a nebo o kmen neprodukující biofilm. Kolonie tvořící biofilm rostou na agaru v typicky tmavě hnědých a nebo černých koloniích (Obrázek 13). Jako nevýhoda této metody se může jevit subjektivita hodnocení, v závislosti na zkušenostech hodnotitele. Doporučuje se tedy stanovení produkce biofilmu podložit ještě některým z dalších testů. [44]



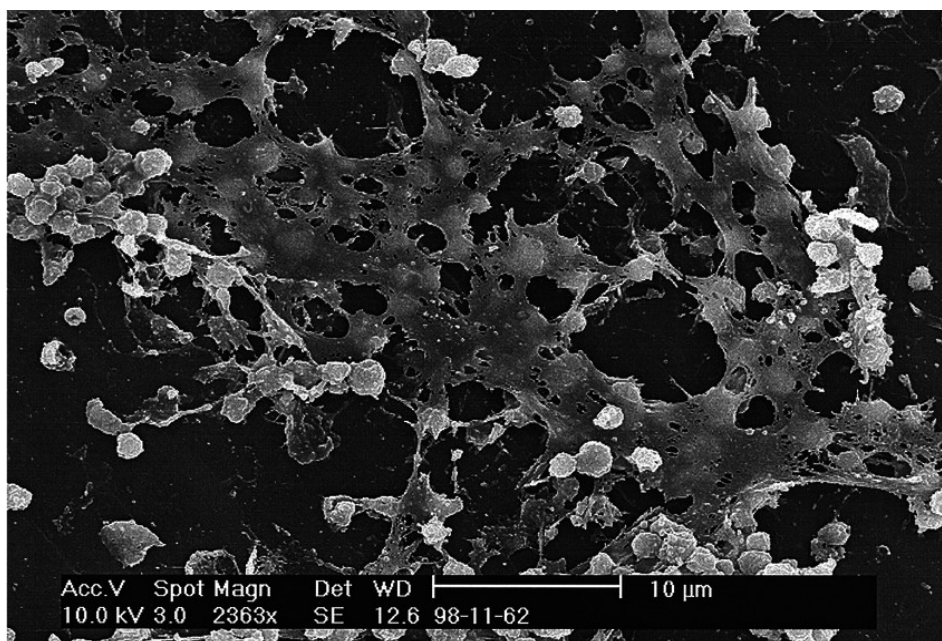
Obrázek 13: Kultivační průkaz kmenů produkujících biofilm na půdě s kongo červení.

Nárůst červených kolonií značí mikrobiální kmeny neprodukující biofilm. Nárůst černých, drsných kolonií značí kmeny schopné produkovat biofilm.

Převzato z Katongole P. et al., 2020 [57] a upraveno.

9.2.2.3 Mikroskopické techniky

Pro průkaz tvorby biofilmu se využívají také mikroskopické metody, nejčastěji pak elektronová mikroskopie (Obrázek 14), ale i klasická světelná mikroskopie. V tomto případě je pak nutné biofilm zvýraznit pomocí barviv. Další možností je využití fluorescenční mikroskopie. Pomocí této techniky a vhodného barvení lze například prokázat životaschopnost, neboli viabilitu mikrobiálních buněk formujících biofilm. Nejdříve je například biofilm formován na krycím sklíčku, které je potažené polylysinem. K barvení se pak využívá nejčastěji kombinace dvou fluorescenčních barviv jako například SYTO9/PI nebo SYBER Green/PI. Obvykle se vybírá taková kombinace, která dovolí rozlišení mrtvých buněk od buněk živých. Připravené preparáty se pak dále vizuálně hodnotí pomocí fluorescenčního mikroskopu. [47]



Obrázek 14: Snímek tvořícího se mikrobiálního biofilmu na povrchu katétru pořízený elektronovou mikroskopií.

Biofilm tvořený bakterií Staphylococcus aureus.

Převzato z Donlan R. et al., 2001 [58].

9.2.2.4 Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce patří mezi genotypové metody. Je tedy vhodná pro průkaz genů potřebných ke tvorbě biofilmu. Touto metodou mohou být například prokazovány geny *ica* operonu, které jsou významné pro tvorbu biofilmu koaguláza negativních stafylokoků. Metoda je vhodná spíše pro vědecké účely. [42, 48]

9.2.3 Prevence vzniku mikrobiálního biofilmu

Tvorbu biofilmu lze ovlivnit výběrem vhodného implantátu. Důležité je jeho aseptické zavedení zkušeným personálem a kvalitní následná ošetrovatelská péče. U rizikových pacientů se zvažuje preventivní podávání antibiotik. [44]

Eradikace biofilmu je často velmi obtížná, jelikož antibiotická léčba většinou působí pouze na planktonické buňky, ale buňky ve formě biofilmu zasaženy nejsou. V odborných publikacích se uvádí, že koncentrace antibiotik potřebná k potlačení růstu bakterií v biofilmu může být 100 až 1000 násobně větší než na bakterie žijící volně, tedy v planktonické formě. [41, 44]

10. ODBĚR A TRANSPORT VZORKŮ URČENÝCH PRO HODNOCENÍ OSÍDLENÍ KATÉTRŮ MIKROORGANISMY DO MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘE

Extrakce CVK je indikovaná v situacích, kdy příslušný vstup již není nutný a dále v případě podezření na infekční komplikace, sdružené se zavedením CVK. V případě, že se u pacienta projeví nevysvětlitelná horečka nebo zhoršení zdravotního stavu, je nutné se rozhodnout, zda centrální katétr ponechat a nebo vyjmout. Vyjmutí CVK provádí vždy lékař za asistence zdravotní sestry a za aseptických podmínek. Pacient je uložen do vodorovné polohy, aby se snížilo riziko vzduchové embolie. Před extrakcí se dezinfikuje místo vstupu. Při mírné kompresi sterilním mulem se katétr vytáhne a místo je ještě několik minut stlačováno až do úplné zástavy krvácení. Otvor po katétru je asepticky překryt a zalepen. V případě, že je CVK odstraňován z důvodu infekce, nebo podezření na infekci, je třeba katétr zaslat na kultivační vyšetření do laboratoře. Odběr se provede odstřížením konce katétru sterilními nástroji a je vložen do sterilní nádoby bez transportního média. Poté by měl být tento vzorek neprodleně dopraven do laboratoře. Doporučuje se materiál zpracovat do dvou hodin od odběru z důvodu možného ovlivnění výsledků vyšetření. V tomto případě se mikrobiologickým šetřením zjišťuje, zda je extrahovaný CVK osídlen mikroorganismy. [47]

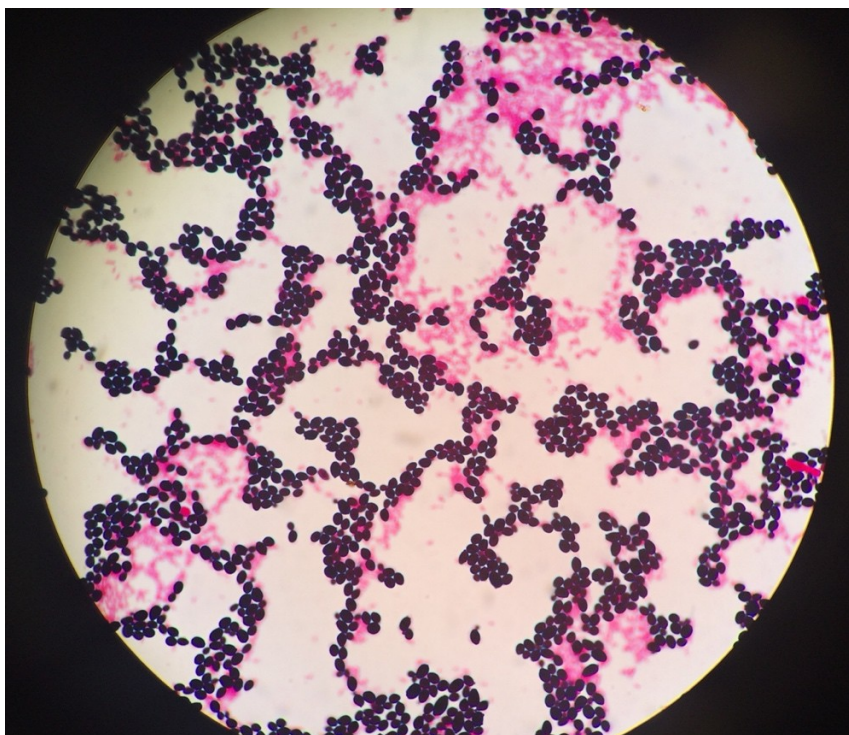
Další možností je odběr vzorků krve, tento postup je založený pouze na vyšetření krve hemokultivací a není nutné katétr vyjmout. Tento postup se volí v případě, kdy je nutné u pacienta ponechat centrální vstup a zhoršení stavu pacienta nepoukazuje jednoznačně na infekce sdružené se zavedením CVK. [34]

11. MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ OSÍDLENÍ CENTRÁLNÍCH VENÓZNÍCH KATÉTRŮ MIKROORGANISMY

Mikrobiologická diagnostika osídlení katétrů hraje důležitou roli. Spočívá v průkazu přítomných mikroorganismů a následném vyšetření antimikrobní citlivosti na izolovaný mikroorganismus. Většinou je vyšetření založeno na přímém vyšetření distálního konce katétru. Mezi nejspolehlivější diagnostické metody se řadí semikvantitativní a kvantitativní metody. [41]

11.1 Mikroskopické techniky průkazu osídlení katétru

Mezi dvě nejčastěji používané metody patří barvení dle Grama a barvení akridinovou oranží. K obarvení se může využít krev odebraná z CVK. Takto odebraná krev se fixuje na podložní sklo a následně je obarvena dle Grama nebo akridinovou oranží. Tyto rychlé metody podávají přehled o intraluminálním osídlení, aniž by bylo nutné CVK vyjmout. Další možnost spočívá v extrakci CVK s následným poválením části extrahovaného katétru po podložním skle, fixaci mikroorganismů na sklíčku a barvení. Názory na přínos mikroskopických metod se různí. Tato technika není vhodná pro všechny druhy katétrů. Některé komparativní studie také poukazují na fakt, že záchyt mikroorganismů pomocí mikroskopických metod může být nižší a měl by být ověřen pomocí jiných metod. [41, 52]



Obrázek 15: Snímek obrazu pořízený pomocí světelné mikroskopie - mikroskopický preparát z krve odebrané z centrálního venózního katétru.

Mikroskopický preparát kvasinek obarvený dle Grama. Celkové zvětšení - 1000x.

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*

11.2 Metoda průkazu osídlení katétru kultivací v tekuté půdě

Tuto metodu řadíme mezi kvalitativní metody. Principem je pomnožení mikrobů osídlujících vyšetřovaný CVK ve sterilní zkumavce zalité živným bujónem. Kvalitativní kultivace mají svá omezení. Na základě výsledků tohoto postupu nelze rozlišit, zda se v případě pozitivního nálezu mikroorganismů jedná o kontaminaci či kolonizaci katétru, neboť po vyočkování na kultivační půdu již nelze nárůst kvantifikovat. Negativní výsledek pak vylučuje kontaminaci i kolonizaci katétru.

11.3 Semikvantitativní kultivační metoda průkazu osídlení katétru mikroorganismy

Příkladem semikvantitativní metody průkazu osídlení katétru mikroorganismy je Makiho metoda.

- **Makiho metoda** – princip této metody spočívá v rolování distálního konce katétru po povrchu kulturační půdy (Obrázek 16). Katétru je pomocí sterilní pinzety vyjmut ze sterilní zkumavky a rolován po celém svém obvodu po krevním agaru. Kultivace z povrchu kanyly se využívá ke zjištění, zda je katétru osídlen mikroorganismy a zda by mohl být zdrojem infekce krevního řečiště. Tato metoda není náročná na technické vybavení a lze ji provádět v jakékoli laboratoři. I tato metoda má své omezení. Nevýhodou je, že lze prokázat pouze přítomnost mikroorganismů na vnějším povrchu venózního katétru (extraluminální osídlení). Nález však nevypovídá o mikroorganismech v lumen katétru. Další nevýhodou se může jevit složitější manipulace s katétre, která může zvyšovat riziko kontaminace. Hraniční hodnota určující signifikantní kolonizaci katétru byla stanovena na ≥ 15 CFU (colony forming unit, kolonii tvořící jednotka). Signifikantní kolonizace nemusí být pro pacienta nutně život ohrožující stav. Důležité je hodnotit, zda se v místě vpichu objevují lokální příznaky infekce anebo se u pacienta projevují klinické příznaky systémové infekce. Hodnoty < 15 CFU pak určují kontaminaci katétru (Tabulka 1). [41]



Obrázek 16: Makiho metoda rolování konce katétru po agaru.

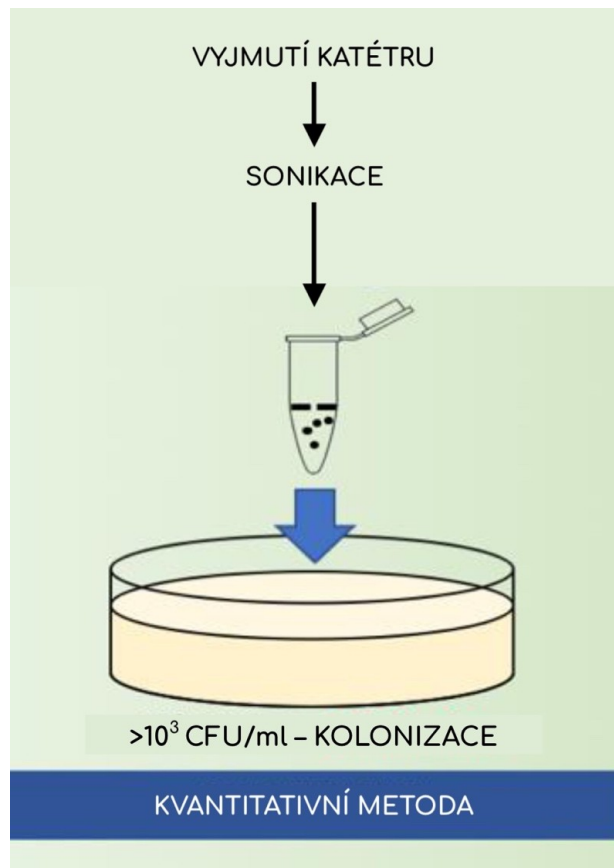
Převzato z Jaśkiewicz M. et al., 2019 [59] a upraveno.

Tabulka 1: Hodnotící kritéria pro odlišení kontaminace a signifikantní kolonizace centrálního venózního katétru.

Hodnoty CFU	Interpretace
< 15 CFU	Kontaminace katétru
≥ 15 CFU	Signifikantní kolonizace

11.4 Kvantitativní metody

Při dlouhodobém zavedení CVK připadá v úvahu častěji intraluminální kolonizace. Bylo vypracováno několik metodických přístupů, které jsou schopné detekovat i bakterie přítomné na vnitřním povrchu katétru. Mezi tyto metody řadíme např. Cleriho metodu, Brunovu-Buissonovu metodu, metodu Linaresové, sonikační metodu a také intraluminální „brush“, vytření vnitřního prostoru katétru. V běžné praxi se nejčastěji využívá sonikační technika. Principem metody je sonikace segmentu katétru, který je ponořený do známého objemu kultivačního bujónu. Mikroorganismy uvolněné sonikací CVK do bujónu se kvantifikují vyočkováním na Columbia krevní agar. Hodnotící kritérium, tzv. hranice positivity, je u této metody dána hodnotou $>10^3$ CFU/ml. Ve srovnání s Makiho metodou je sonikační metoda náročnější na provedení i na technické vybavení. [41, 49]



Obrázek 17: Kvantitativní sonikační metoda.

Mikroorganismy uvolněné z katétru sonikací se kvantifikují vyočkováním známého objemu bujónu na krevní agar.

Převzato z Jaśkiewicz M. et al., 2019 [59] a upraveno.

11.5 Kultivační techniky krve

V případě, že nedochází k extrakci venózního katétru, je zde možnost párové kultivace získané z intravenózního katétru a periferní žíly. Pacientovi se odebere krev, a to z katétru a odběrem z periferie, která se následně převede do dvou sad lahvíček pro hemokultivační vyšetření krve. Na základě negativního výsledku z obou odběrů lze vyloučit podezření na infekci krevního řečiště. Další možností šetření je přístup založený na měření rozdílného času detekce positivity inokulovaných lahvíček z periferní krve a z katétru. Pokud je pozitivita detekována u krve odebrané z katétru o 2 hodiny kratší než u krve z periferní žíly, jde o katérovou sepsi.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Tato část diplomové práce je zaměřená na metodiku zpracování CVK pro průkaz mikrobiálních agens a na hodnocení nálezů z mikrobiologického šetření CVK provedeného na Mikrobiologickém oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. Klíčovým úkolem této práce je zhodnotit nálezy z hlediska četnosti výskytu jednotlivých mikrobiálních agens a určit, zda tyto výsledky korelují s daty uváděnými v publikovaných studiích. Dílčím cílem práce je zjistit míru osídlení venózního katétru mikroorganismy, tzn. v kolika případech pozitivního kultivačního výsledku bylo vyhodnoceno, že šlo o kontaminaci či signifikantní kolonizaci. Případně, zda byla potvrzena, po korelaci s výsledky z hemokultivačního vyšetření, také systémová katérová infekce. Pro tuto práci byla využita data z archivu výše zmíněného mikrobiologického oddělení za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019.

12. METODIKA ZPRACOVÁNÍ CENTRÁLNÍCH VENÓZNÍCH KATÉTRŮ

Na pracovišti mikrobiologického oddělení jsou všechny CVK, u kterých je požadováno mikrobiologické vyšetření, zpracovávány jednotným způsobem podle standardního operačního postupu laboratoře.

Celkem bylo za dané sledované období (1. 1. 2019 až 31. 12. 2019) hodnoceno 171 CVK. Každý z těchto katétrů byl podroben kultivačnímu šetření pomocí semikvantitativní metody dle Makiho a následně byl volen metodický přístup kultivace konce CVK v živném bujónu. Tento metodický přístup zajišťuje zachycení mikroorganismů, které mohou poukazovat na intraluminální osídlení nebo se na povrchu CVK vyskytovaly mikroorganismy v takovém množství, které nebylo možné Makiho metodou zachytit. Narostlé mikrobiální kultury byly dále identifikovány a byla stanovena jejich antimikrobiální citlivost (s ohledem na cíl této práce, prezentace výsledků profilu citlivosti klinických izolátů není součástí této práce).

12.1 Použitý materiál

Přístroje:

- Laminární box třídy II – ESCO (dodavatel BioVendor Laboratorní medicína a. s.)
- Vortex V-1 plus – Biosan (dodavatel BioVendor Laboratorní medicína a. s.)
- Biologický termostat bez řízené atmosféry, teplota 36 ± 1 °C (výrobce BMT Medical Technology s. r. o.)
- Biologický termostat s řízenou atmosférou 5% CO₂, teplota 36 ± 1 °C (výrobce BMT Medical Technology s. r. o.)
- Sterilizátor kliček – plynový (dodavatel Vekron s. r. o.)
- Denzitometr Biosan (dodavatel BioVendor Laboratorní medicína a. s.)
- automatizovaný přístroj pro identifikace mikroorganismů a stanovení antimikrobní citlivosti Vitek 2 Compact (dodavatel BioMérieux CZ s. r. o.)
- světelný mikroskop Olympus BX40 (výrobce Olympus Japonsko)

Pomůcky:

- pipety s nastavitelným objemem Finnpiquette F3 (dodavatel Dynex Technologies, spol. s r. o.)
- sterilní plastové špičky (dodavatel Sarstedt spol. s r. o.)
- sterilní pinzeta
- sterilní jednorázový skalpel (BATIST Medical a. s.)
- sterilní zkumavka (dodavatel Medplus s. r. o.)
- sterilní plastové kličky (dodavatel VWR International s. r. o.)
- sterilní vatové tampony

Reagencie a diagnostika:

- diagnostické disky – Bacitracin 10 UI (B-H) (dodavatel Erba Lachema s. r. o.)
- karty pro druhovou identifikaci – Vitek 2 Compact (dodavatel BioMérieux CZ s. r. o.)

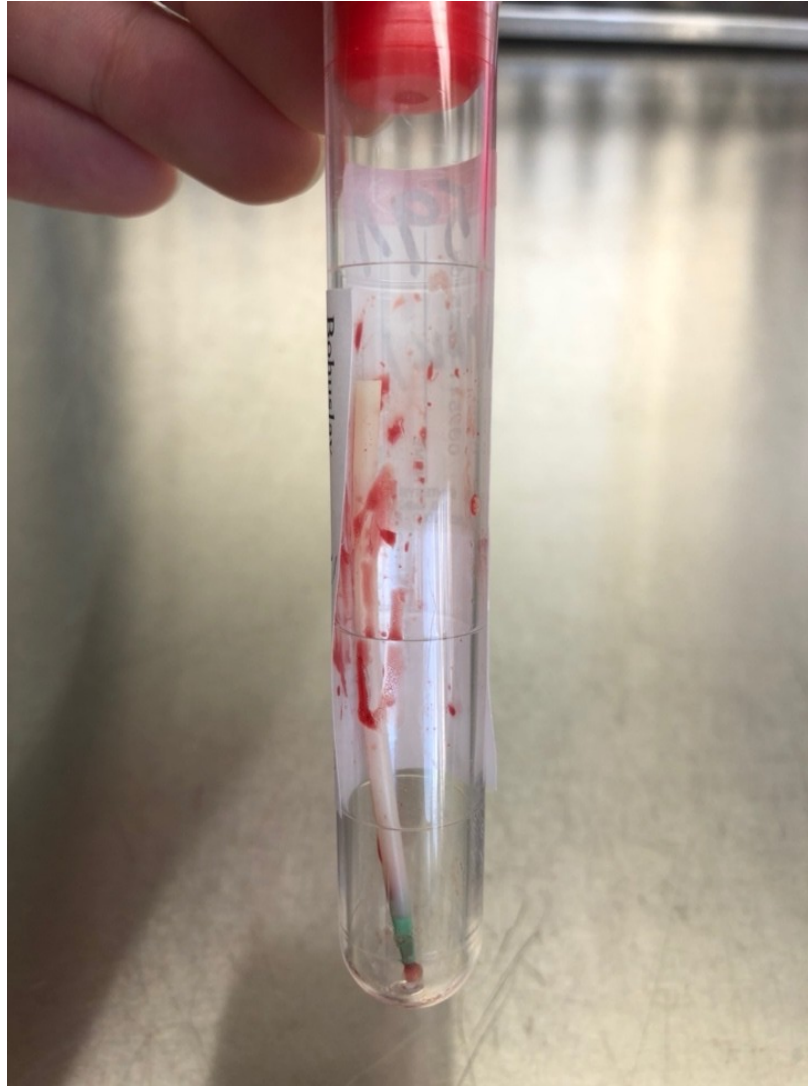
- sterilní fyziologický roztok (dodavatel Bio-rad spol. s r. o.)
- kmen *Staphylococcus pseudintermedius* (dodavatel Česká sbírka mikroorganismů)

12.2 Použitá kultivační média

- **krevní agar (Columbia agar + 5 % beraní krve)** – využívá se jako médium k primokultivaci i subkultivaci pro všechny typy vzorků. Růst většiny mikroorganismů je podporován živinami, které dodává směs peptonů. Beraní krev zajišťuje další esenciální živiny pro růstově náročné mikroorganismy. (dodavatel Bio-rad spol. s r. o.)
- **MacConkey agar** – selektivní a diagnostická půda, která se využívá pro kultivaci a diferenciaci gramnegativních mikroorganismů. Diferenciace je založena na schopnosti štěpit laktózu, což se projeví nárůstem červených kolonií. (dodavatel Bio-rad spol. s r. o.)
- **Živný bujón č.2** – médium bohaté na živiny umožňující růst mikroorganismů s nízkou kvalitou inokula. Kaseinový pepton a hovězí extrakt je zdrojem základních živin důležitých pro růst. Chlorid sodný zajišťuje osmotickou rovnováhu. (dodavatel Bio-rad spol. s r. o.)

12.3 Pracovní postup

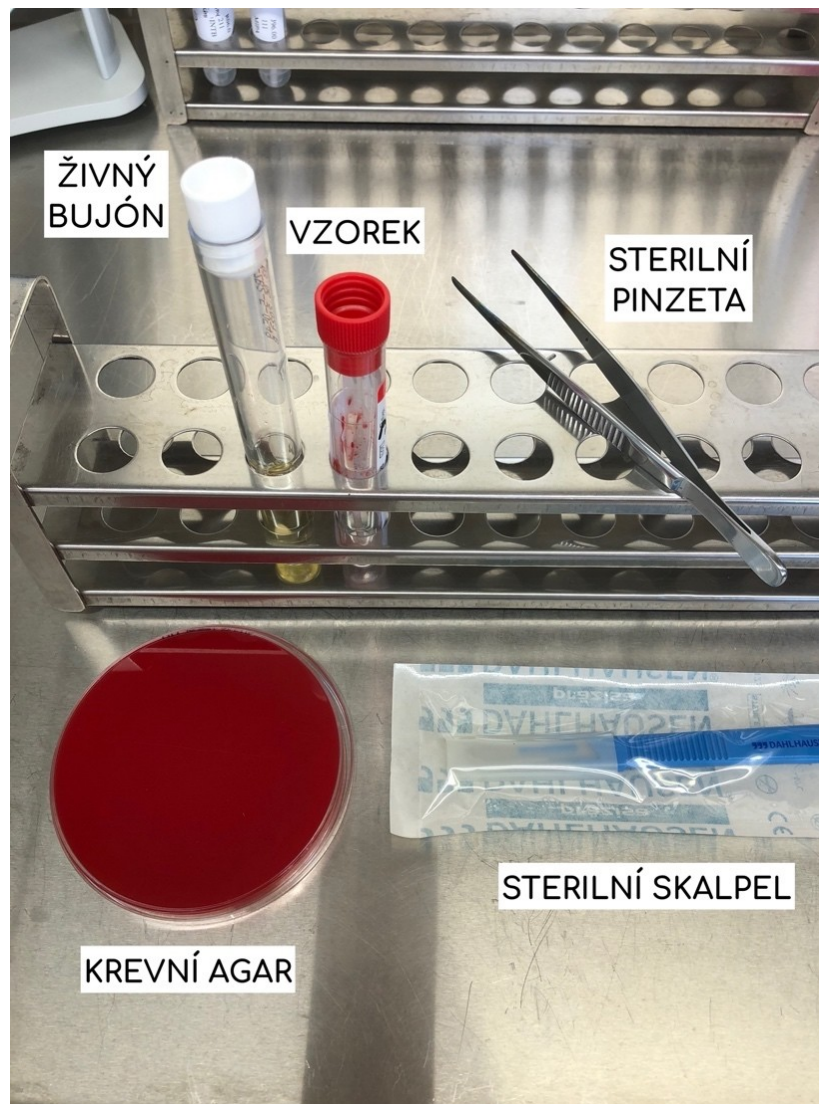
Vyšetřovaný materiál byl dodáván do laboratoře z jednotlivých lůžkových oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. ve sterilních zkumavkách (Obrázek 18) a zpracováván v laminárním boxu třídy II, aby se snížila možnost kontaminace vyšetřovaného materiálu a byla zajištěna bezpečná práce s biohazard materiálem.



Obrázek 18: Distální konec centrálního venózního katétru odebraný do sterilní zkumavky.

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*

Nejdříve byly připraveny všechny potřebné pomůcky ke zpracování, které zahrnují sterilní pinzetu, sterilní jednorázový skalpel, kultivační půdu krevní agar (Columbia agar + 5 % beraní krve) a zkumavku s živným bujónem č.2 (Obrázek 19).



Obrázek 19: Sterilní pomůcky potřebné pro zpracování vyšetřovaného materiálu.

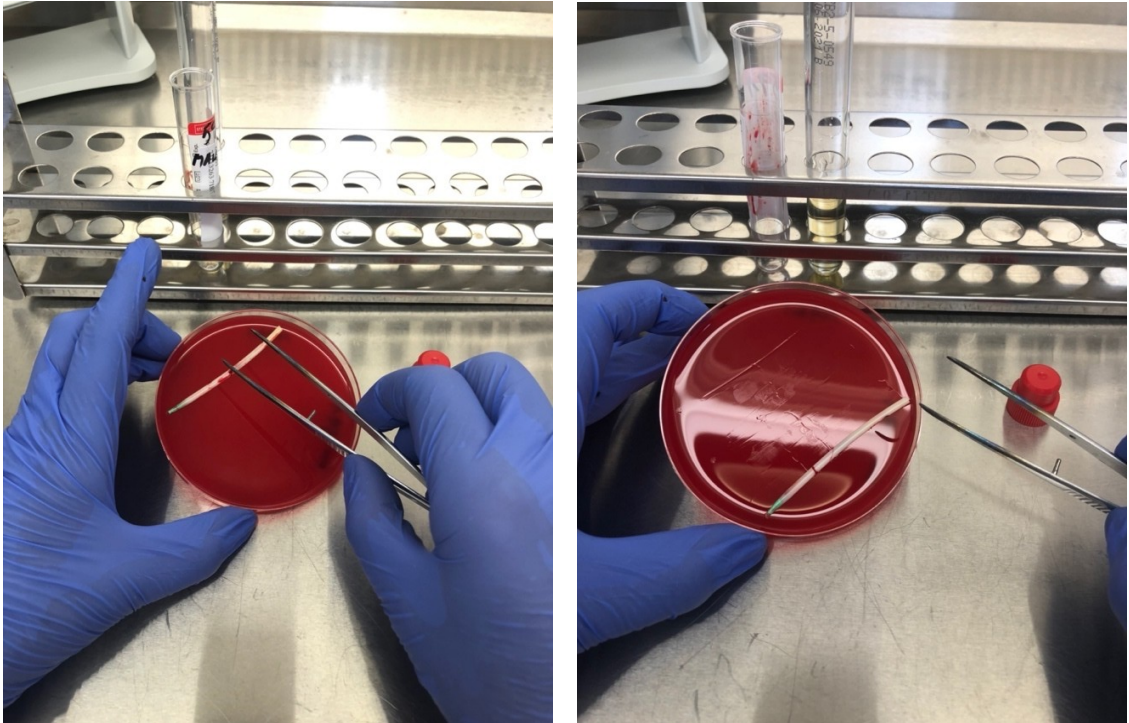
Zpracování centrálního venózního katétru v rámci prostor laminárního boxu třídy II.

Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.

(Zdroj: Miroslava Hošková)

V první fázi šetření mikrobiálního zatížení vyšetřovaného materiálu bylo využito semikvantitativní metody rolování povrchu katétru po krevním agaru dle Makiho. Distální konec CVK byl vytažen sterilní pinzetou ze zkumavky a přenesen na krevní agar. V případě, že byl do laboratoře zaslán nepřiměřeně dlouhý distální konec katétru, byla upravena jeho délka pomocí sterilního jednorázového skalpelu. Po přenesení konce katétru na krevní agar následovalo jeho rolování po agaru, aby se na povrchu agaru otiskl celý povrch CVK (Obrázek 20). Poté byl každý hodnocený CVK přenesen zpět do sterilní zkumavky. Plotna krevního agaru byla následně kultivována po dobu 18-24 hodin v termostatu (BMT Medical Technology s.r.o., model INCUCELL®) při

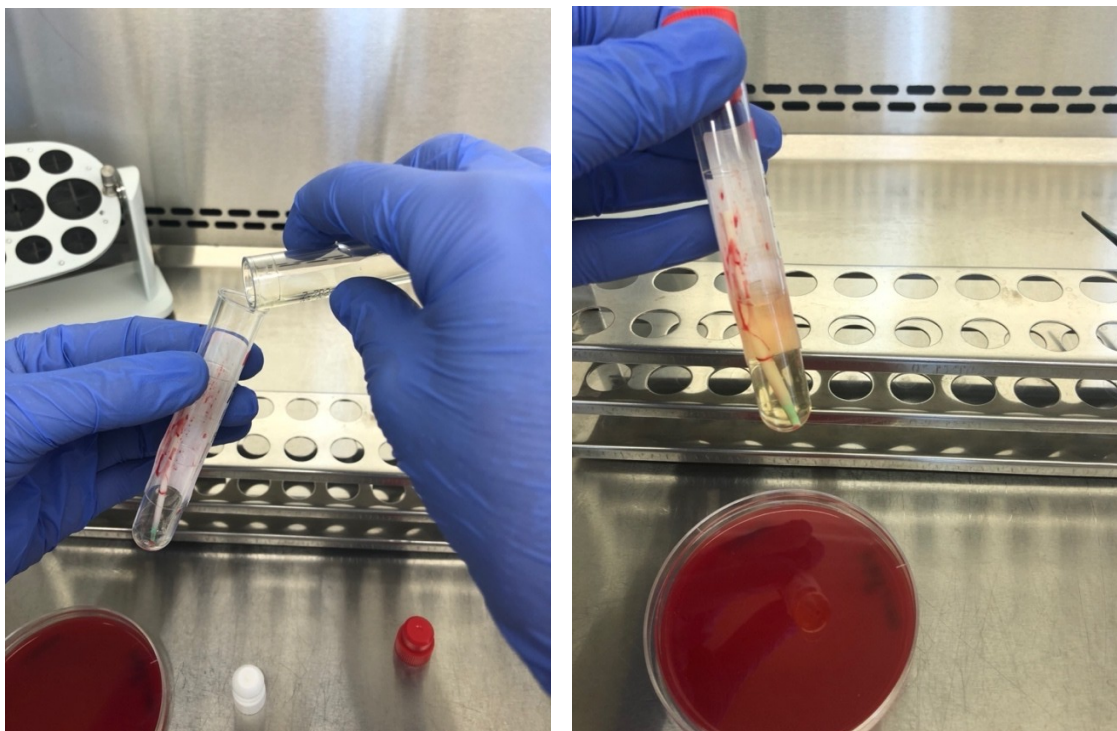
teplotě 36 ± 1 °C, v atmosféře s 5% CO₂. Tento metodický přístup umožňuje určit mikrobiální zátěž povrchu katétru, tedy zda je katétr osídlen mikroorganismy (viz Obrázek 9).



Obrázek 20: Rolování konce katétru po krevním agaru.

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*

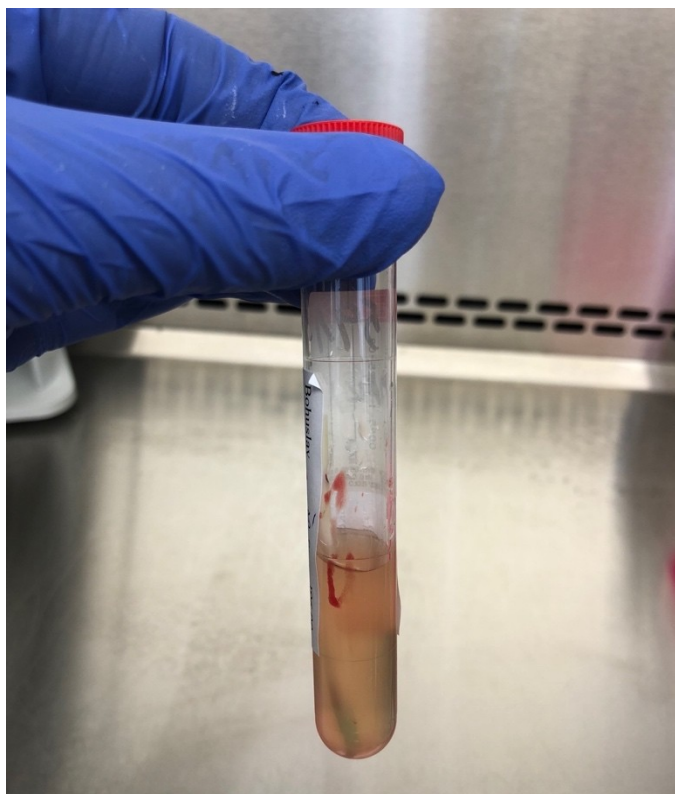
V druhé fázi došlo k přenesení distálního konce katétru zpět do sterilní zkumavky, do které se přidal živný bujón č.2 (Obrázek 21). Zkumavka se dále řádně protřepala pomocí vortexu a následně byla provedena kultivace v termostatu po dobu 18–24 hodin, při teplotě 36 ± 1 °C. Výhodou tohoto metodického přístupu je, že lze hodnotit také intraluminální (viz Obrázek 10) osídlení CVK mikroorganismy nebo zachytit mikroorganismy z povrchu katétru, které se nepodařilo z důvodu malé kvantity zachytit rolováním povrchu katétru po agaru.



Obrázek 21: Zalití distálního konce centrálního venózního katétru živným bujónem.

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*

Následující den po proběhlé kultivaci byl vzorek řádně protřepán, aby se rozvířil případný zákal (Obrázek 22) a pomocí sterilní, jednorázové bakteriologické kličky byla přenesena kapka bujónu na krevní agar a MacConkey agar a bylo provedeno rozočkování sterilními bakteriologickými kličkami. Na krevní agar byl také naočkován čarou *Staphylococcus pseudintermedius*, na kterou byl následně položen disk Bacitracinu 10 UI (B-H, dodavatel Erba Lachema s. r. o.) (Obrázek 23) z důvodu možné přítomnosti růstově náročných mikroorganismů a následovalo dalších 18–24 hodin kultivace při teplotě 36 ± 1 °C, v atmosféře s 5% CO₂.



Obrázek 22: Ukázka zakaleného živného bujónu (indikující mikrobiální nárůst) po proběhlé kultivaci v termostatu.

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*



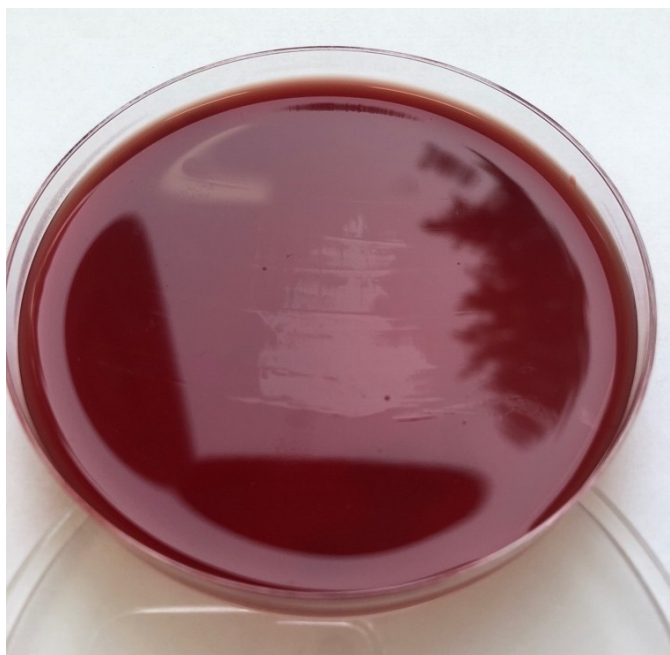
Obrázek 23: Krevní agar zaočkovaný čarou *Staphylococcus pseudintermedius* a s diskem Bacitracinu 10 UI.

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*

13. HODNOCENÍ A INTERPRETACE NÁLEZŮ ZÍSKANÝCH KULTIVAČNÍM VYŠETŘENÍM CENTRÁLNÍCH VENÓZNÍCH KATÉTRŮ

První hodnocení nálezů kultivačního vyšetření probíhá po 24 hodinách, kdy se hodnotí nárůst mikroorganismů na plotně krevního agaru, po kterém byl rolován CVK. V případě, že není zaznamenán žádný růst mikroorganismů, je zaznamenán výsledek vyšetření do laboratorního systému jako „bez průkazu mikroorganismů“ (Obrázek 24).

V případě, že je zaznamenán růst mikroorganismů (Obrázek 25), se provede kvantifikace kolonií, provede se hodnocení dle hodnotících kritérií pro Makiho metodu a s kulturou či kulturami se dále pracuje. Je nutné identifikovat všechny mikroorganismy a také zjistit jejich antibiotickou citlivost či rezistenci. Při počtu <15 CFU se většinou jedná o kontaminaci katétru, která bývá nejčastěji způsobena při extrakci CVK. Počet ≥ 15 CFU již značí signifikantní kolonizaci, ale je nutné hodnotit kultivační nálezy komplexně, zohlednit druh identifikovaných mikroorganismů a také klinický stav pacienta. Důležitá je vždy konzultace výsledků s ošetřujícím lékařem. V následující tabulce (Tabulka 2) je uvedena interpretace hodnotících kritérií pro nálezy na Mikrobiologickém oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. Tato interpretace je vždy součástí výsledkového listu.



Obrázek 24: Výsledek kultivačního vyšetření na krevním agaru - „bez průkazu mikroorganismů“.

Na krevním agaru nebyl zaznamenán nárůst mikrobiálních kolonií. Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)



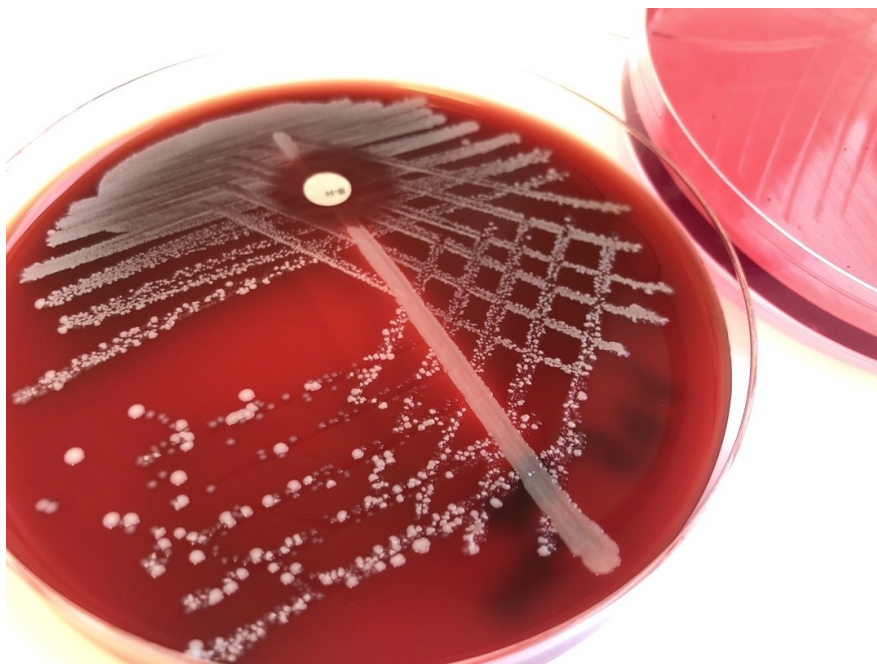
Obrázek 25: Výsledek kultivačního vyšetření na krevním agaru, „pozitivní nález kultivace“.

Na agaru byl zaznamenán nárůst mikrobiálních kolonií bakterie *Staphylococcus epidermidis*, v celkovém počtu >15 CFU. Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)

Tabulka 2: Interpretace výsledků a hodnotící kritéria pro Makiho metodu u kultivačních nálezů v rámci mikrobiologického oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o.

Počet CFU	Příznaky	Interpretace
<15 CFU nebo pozitivní kultivační nález až po pomnožení v živném bujónu	Žádné příznaky infekce	Kontaminovaný katétr
≥15 CFU	Žádné příznaky infekce	Kolonizovaný katétr
≥15 CFU	Lokální příznaky infekce	Lokální katéetrová infekce
≥15 CFU	Klinické příznaky infekce krevního řečiště, pozitivní hemokultivační vyšetření s nálezem stejného mikroorganismu	Systemová katéetrová infekce

V případě jak pozitivního, tak i negativního nálezu kultivačního vyšetření Makiho metodou bylo vždy provedeno také vyočkování z pomnoženého živného bujónu (po proběhlé 24 hodinové inkubaci v termostatu), kterým byl distální úsek CVK zalit. V tomto případě již nebyla hodnocena kvantita případně narostlých kolonií, ale byl porovnáván nárůst jednotlivých kultur s již identifikovanými mikroorganismy z primokultury (Obrázek 26). Při zjištění nárůstu rozdílných mikroorganismů, které nebyly identifikovány v rámci Makiho metody, byla snaha o doplnění výsledků ohledně mikrobiální diverzity mikroorganismů kolonizujících CVK na základě jejich dodatečné identifikace, spolu s provedením stanovení jejich antimikrobní citlivosti.



Obrázek 26: Směsná mikrobiální kultura po vyočkování na krevní agar z pomnoženého bujónu.

*Izolativní rozočkování mikrobiální kultury pomnožené v živném bujónu. Zaočkování čarou bakterie *Staphylococcus intermedius*, s položeným diskem obsahujícím Bacitracin 10 UI (B-H). Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o. (Zdroj: Miroslava Hošková)*

13.1 Identifikace mikroorganismů osídlujících centrální venózní katétr katétrů

V klinické mikrobiologii je identifikace mikroorganismů velmi důležitá. Nejčastěji jsou mikroorganismy identifikovány na základě jejich biochemických a fyziologických vlastností.

Na Mikrobiologickém oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. byl ke konečné identifikaci mikroorganismů využit automatizovaný přístroj Vitek 2 Compact (dodavatel BioMérieux CZ s. r. o.) (Obrázek 27). Tento přístroj umožňuje také stanovení antimikrobní citlivosti. K analýze byly využity tenké plastové karty, které jsou dodávány komerčně. Jamky v těchto kartách obsahují různé substráty pro identifikaci mikrobiálních agens.

Identifikace mikroorganismů pomocí tohoto přístroje je principiálně založená na měření hodnoty fluorescence, zákalu a kolorimetrických signálů (Obrázek 28).

Pro analýzu tímto přístrojem bylo nejdříve připraveno inokulum z čisté narostlé kultury. Kolonie byly suspendovány v solném roztoku do požadovaného zákalu dle výrobce. Následně byla mikrobiální suspenze převedena do identifikačních karet. Stojánek s kartami byl vložen do přístroje, kde je následně vzorek a příslušná karta spojena načtením čárového kódu na plastové kartě.

Nespornou výhodou automatizovaného přístroje Vitek 2 Compact je skutečnost, že lze získat výsledky identifikace mikroorganismů již za 5–8 hodin.

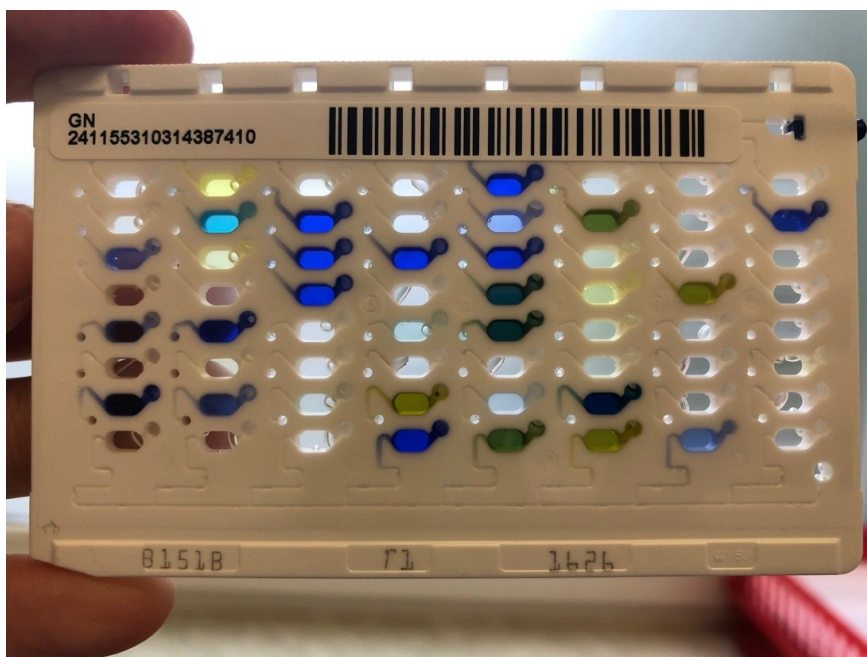
Pro stanovení antimikrobní citlivosti byl využit diskový difúzní test, který patří mezi standardní metody. Principem této metody je difúze antibiotika, kterým je napuštěn disk, do agaru, který je naočkován mikrobiální suspenzí. Vlivem použitého antibiotika se buď v blízkosti disku mikroorganismy množí anebo ne, v závislosti na jejich citlivosti k antibiotiku. V případě závažných stavů byl využit kvantitativní test, mikrodiluční bujónový test, pro určení hodnoty minimální inhibiční koncentrace, který dovoluje kvantitativní hodnocení citlivosti/rezistence daného kmene k testované antimikrobní látce.

Stanovení antimikrobní citlivosti je důležité zejména z pohledu nastavení tzv. racionální terapie, a proto je nedílnou součástí mikrobiologického vyšetření. Data z tohoto šetření (s ohledem na cíl práce) však nejsou více rozvedena a prezentována v této práci.



Obrázek 27: Automatizovaný přístroj Vitek 2 Compact pro stanovení identifikace mikroorganismů a jejich antimikrobní citlivosti (dodavatel BioMérieux CZ s. r. o.).

*Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.
(Zdroj: Miroslava Hošková)*



Obrázek 28: Plastová identifikační karta s obarvenými jamkami po proběhlé inkubaci v automatizovaném přístroji Vitek 2 Compact.

Typ zobrazené karty umožňuje stanovení druhové identifikace gramnegativních mikroorganismů.

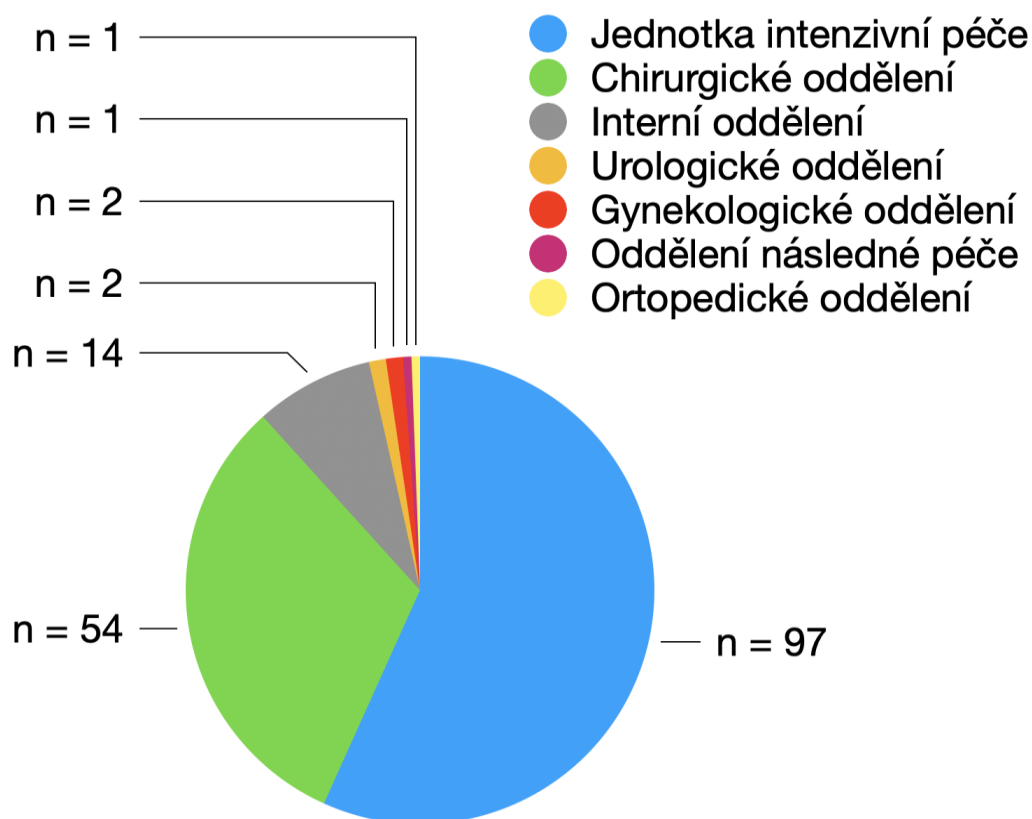
Snímek pořízen na Mikrobiologickém oddělení nemocnice Boskovice s. r. o.

(Zdroj: Miroslava Hošková)

14. VÝSLEDKY

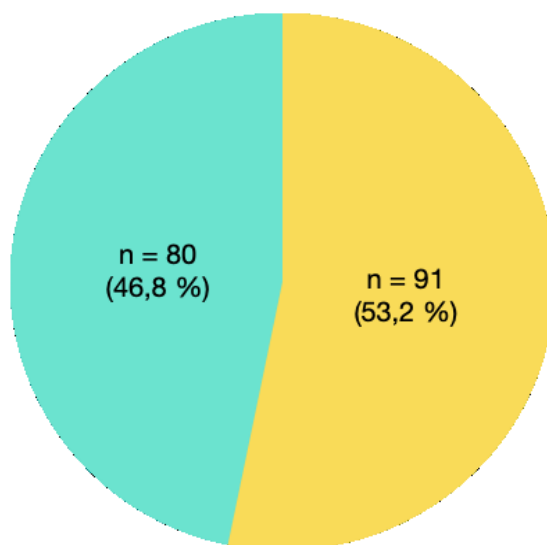
Pro tuto práci byla zpracována data získaná v rámci časového období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019. Data byla získána vyšetřením a zpracováním materiálu, CVK, v rámci Mikrobiologického oddělení v Nemocnici Boskovice s. r. o.

V tomto období bylo na výše zmíněné mikrobiologické oddělení dodáno a následně zpracováno celkem 171 CVK z různých oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. (Graf 1). Negativní výsledek (bez průkazu mikroorganismů osídlujících CVK) kultivace byl zaznamenán u 80 vyšetřovaných materiálů (46,8 %) a pozitivní výsledek (prokázané osídlení CVK) u 91 (53,2 %) zaslaných CVK k vyšetření (Graf 2).



Graf 1: Počet všech vyšetřených centrálních venózních katétrů dle jednotlivých oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o., v časovém období od 1. 1. 2019 do 31. 12. 2019.

- Pozitivní kultivační nález (n = 91, 53,2 %)
- Negativní kultivační nález (n = 80, 46,8 %)



Graf 2: Počet pozitivních a negativních kultivačních nálezů u vyšetřených centrálních venózních katétrů Makiho metodou a metodou spočívající v pomnožení distálního konce katétru v bujónu. Šetření z Mikrobiologického oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o., v časovém období od 1. 1. 2019 do 31. 12. 2019.

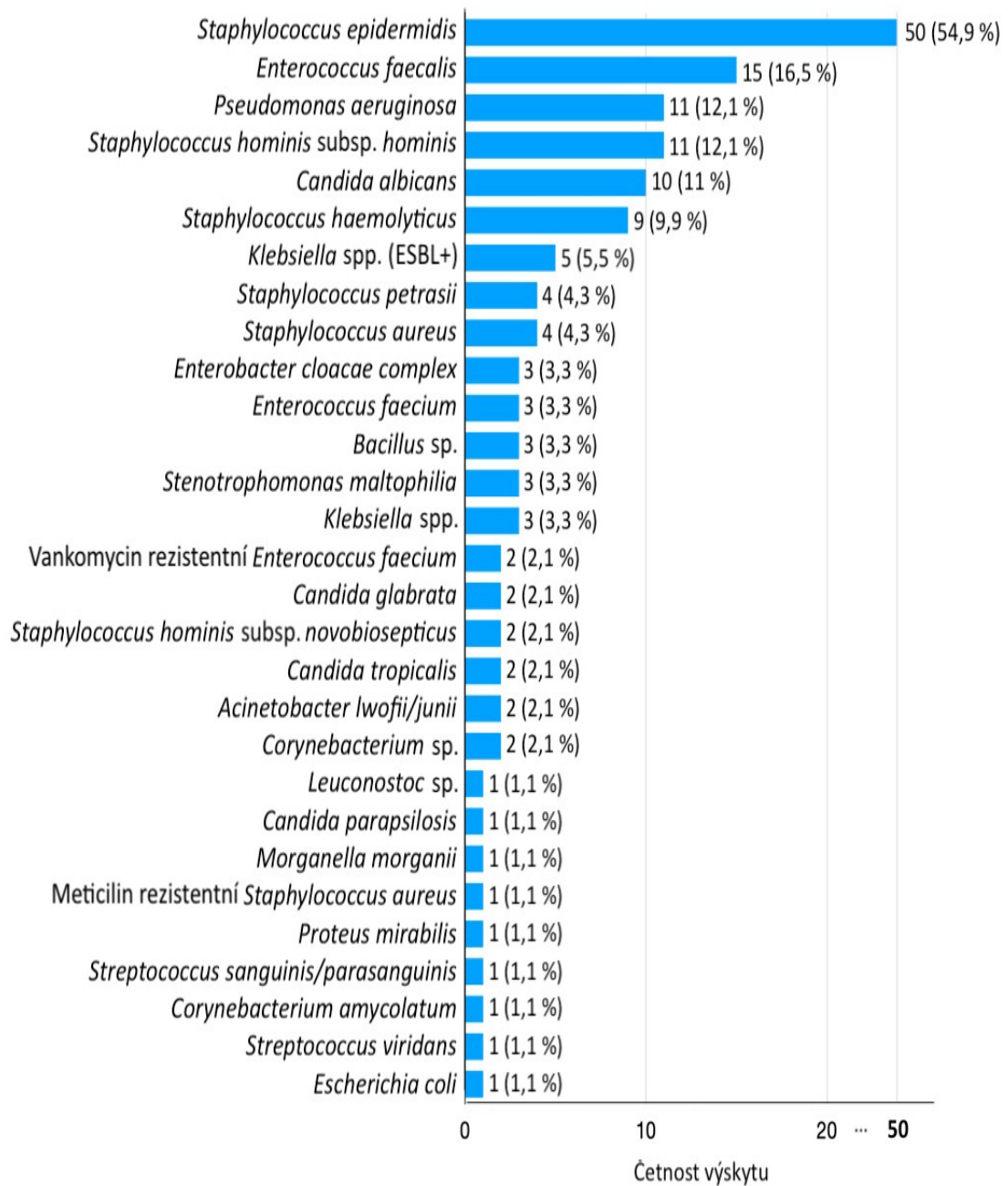
Nejvíce CVK pro mikrobiologické vyšetření bylo zasláno z jednotky intenzivní péče, což úzce souvisí s častějším zaváděním katétrů právě na tomto oddělení. Péči o katétr by se měla na tomto typu oddělení věnovat velká pozornost. V následující tabulce jsou uvedeny počty zaslaných CVK z jednotlivých oddělení a jejich rozdělení podle počtu pozitivních a negativních výsledků kultivačního vyšetření (Tabulka 3).

Tabulka 3: Rozdělení výsledků týkajících se vyšetřených centrálních venózních katétrů za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019, dle jejich distribuce z jednotlivých oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o., a z hlediska zaznamenaných výsledků pozitivního a negativního kultivačního nálezu.

Oddělení	Negativní	Pozitivní	Celkem
Chirurgické oddělení	30	24	54
Jednotka intenzivní péče	43	54	97
Interní oddělení	5	9	14
Urologické oddělení	0	2	2
Gynekologické oddělení	1	1	2
Oddělení následné péče	0	1	1
Ortopedické oddělení	1	0	1

Pro vytvoření přehledu o mikroorganismech nejčastěji osídlujících CVK byly využity výsledky z identifikace pomocí automatizovaného přístroje Vitek 2 Compact (dodavatel BioMérieux CZ s. r. o.). Z tohoto přístroje byla data exportována do laboratorního informačního systému, kde jsou archivována dle platné směrnice.

Z analyzovaných dat bylo zjištěno, že nejčastějšími mikroorganismy osídlujícími CVK jsou grampozitivní bakterie, a to zejména koaguláza negativní stafylokoky a enterokoky. Z gramnegativních bakterií jsou to pak nejčastěji pseudomonády. Co se týče fungálních agens, i ty mohou často osídlovat CVK. Nejčastěji se pak jedná o kvasinky rodu *Candida*. V následujícím grafu (Graf 3) je uveden podrobný přehled všech mikrobiálních agens, které byly identifikovány jakožto mikroorganismy osídlující CVK (vztaženo pro období šetření od 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019) spolu s četností jejich výskytu na vyšetřených katétrech.



Graf 3: Zastoupení nejčastěji identifikovaných mikroorganismů z hlediska četnosti u centrálních venózních katétrů s pozitivním kultivačním výsledkem v Nemocnici Boskovice s. r. o., za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019.

Jak již bylo uvedeno dříve, pozitivní výsledek kultivace byl zaznamenán u 91 vyšetřených CVK z celkového počtu 171 CVK (n = 171).

Z tohoto počtu 91 CVK s pozitivním výsledkem kultivace byl však u 27 CVK (29,7 %) pozitivní výsledek kultivace získán až z metodického přístupu spočívajícím na pomnožení distálního konce CVK v živném bujónu. U těchto vzorků tedy nelze využít kritérium pro hodnocení, zda jde o kontaminaci či signifikantní kolonizaci, na základě

hraniční hodnoty cut off ≥ 15 CFU. Pozitivní nález v tomto případě pak s největší pravděpodobností poukazuje na intraluminální osídlení, které nelze Makiho metodou prokázat (Tabulka 4).

Tabulka 4: Počty centrálních venózních katétrů vyšetřených Makiho metodou a metodou spočívající v pomnožení distálního konce katétru v bujónu a jejich rozdělení do skupin z hlediska možnosti využití hodnotícího kritéria pro Makiho metodu.

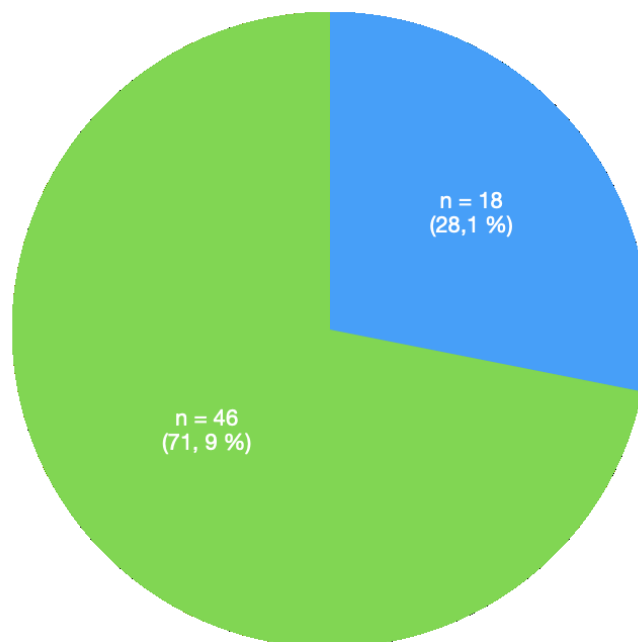
POČET KATÉTRŮ n = 91	POZITIVNÍ VÝSLEDEK KULTIVACE	HODNOTÍCÍ KRITÉRIUM PRO MAKIHO METODU ≥ 15 CFU
n = 64	MAKIHO METODA (ROLOVÁNÍ KONCE KATÉTRU PO AGARU)	LZE VYUŽÍT
n = 27	AŽ PO POMNOŽENÍ V ŽIVNÉM BUJÓNU	NELZE VYUŽÍT

U zbývajících počtu šetřených katétrů (n = 64) byl pozitivní výsledek kultivace již po rolování katétru po krevním agaru (Makiho metoda) a bylo možné využít hodnotící kritérium pro zběžné odlišení mezi kontaminací a signifikantní kolonizací vyjádřené jako cut off ≥ 15 CFU.

Hodnoty nižší než 15 CFU značí s největší pravděpodobností na povrchovou kontaminaci katétru. Průkaz mikrobiálních kolonií bakterie *Staphylococcus aureus* nebo kvasinky *Candida* sp. je však nutné vždy považovat za signifikantní i při malém počtu kolonií (<15 CFU) a je vždy žádoucí tyto nálezy konzultovat s ošetřujícím lékařem. Prokázaný počet kolonií, který je roven 15 CFU nebo vyšším hodnotám je nejčastěji sdružen s lokální či systémovou katéetrovou infekcí. V případě systémové infekce je třeba dát nálezy do souvislosti s hemokultivačním vyšetřením (hemokultivační vyšetření krve probíhá paralelně, výsledky hemokultivačního šetření byly laskavě poskytnuty vedoucím pracovníkem laboratoře z archivu laboratorního informačního systému Mikrobiologického oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o.).

V našem případě bylo prokázáno, že z celkového počtu 64 katétrů byl zjištěn u 18 CVK počet <15 CFU (odpovídající zastoupení z 28,1 %) a u 46 katétrů počet ≥ 15 CFU (zastoupení ze 71,9 %) (Graf 4).

- <15 CFU = kontaminace katétru (n = 18, 28,1 %)
- ≥15 CFU = signifikantní kolonizace katétru (n = 46, 71,9 %)



Graf 4: Počet katétrů testovaných Makiho metodou s pozitivním výsledkem kultivace rozdělených do skupin podle hodnotícího kritéria, cut off ≥15 CFU (colony forming unit), vyšetřených v Nemocnici Boskovice s. r. o., za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019.

U CVK s počtem kolonií <15 CFU byly nejčastěji jako agens kontaminující CVK identifikovány koaguláza negativní stafylokoky (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus petrasii*, *Staphylococcus hominis* subsp. *novobiosepticus*), nejvíce zastoupené kmenem *Staphylococcus epidermidis*.

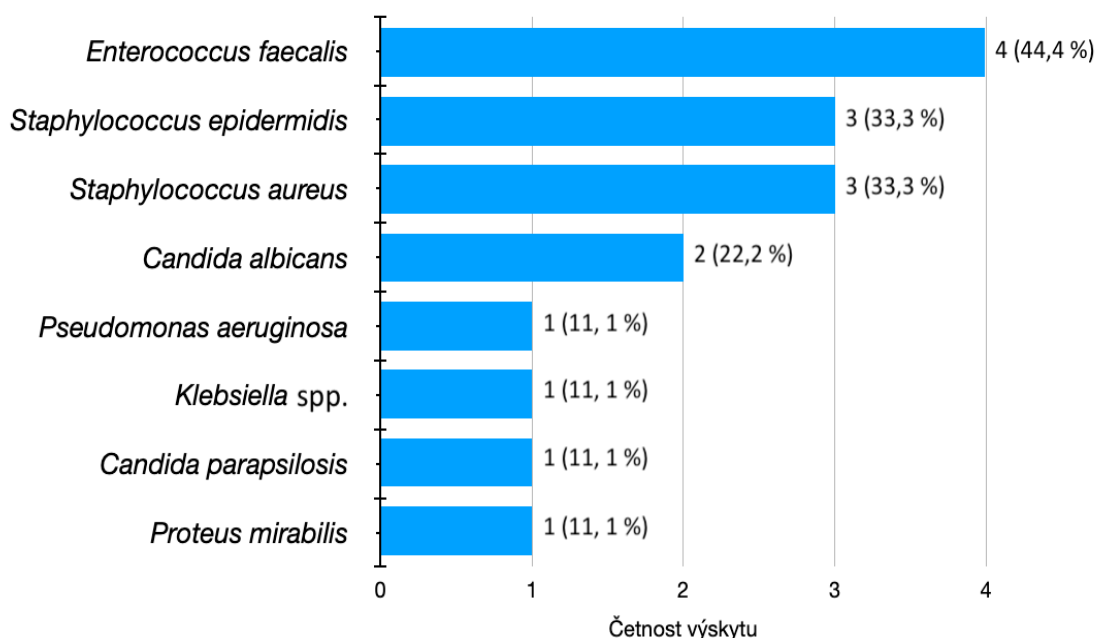
Také v případě katétrů, kde byl zjištěn Makiho metodou počet ≥15 CFU, patřily mezi nejčastěji identifikované mikrobiální agens kmeny ze skupiny koaguláza negativních stafylokoků, jmenovitě pak především *Staphylococcus epidermidis*. V případě těchto nálezů se může jednat buď o kolonizaci katétru (žádné příznaky infekce) nebo o lokální či systémovou katéetrovou infekci. Pro posuzování těchto nálezů je žádoucí konzultace s ošetřujícím lékařem, protože laboratoř nemá veškeré informace o klinickém stavu pacienta.

Pouze v případě 12 katétrů (z celkového počtu 46 CVK s počtem ≥ 15 CFU, kde byla stanovena signifikantní kolonizace) byla společně s katétrelem odeslána také krev na hemokultivační vyšetření. Hemokultivační vyšetření krve je doprovodné,

konfirmující vyšetření u infekcí sdružených se zavedením katétru, ne vždy je ale ošetřujícím lékařem indikováno. Důvodem může být nepřítomnost příznaků lokální či systémové infekce.

Při srovnávání nálezů, vycházejících z kultivačního vyšetření CVK a souběžně prováděného hemokultivačního vyšetření krve (výsledky tohoto šetření byly laskavě poskytnuty vedoucím pracovníkem laboratoře), bylo zjištěno, že v devíti případech z celkových dvanácti šetřených případů, byl potvrzen pozitivní záchyt stejného mikrobiálního agens. Tyto nálezy svědčily pro systémovou katérovou infekci, což bylo na základě klinického stavu pacienta a po konzultaci s ošetřujícím lékařem potvrzeno.

U prokázané systémové katérové infekce byla nejčastěji izolovaným agens bakterie *Enterococcus faecalis* (44,4 %). Dalšími izolovanými bakteriemi byly grampozitivní koky, *Staphylococcus epidermidis* (33,3 %), *Staphylococcus aureus* (33,3 %), kvasinky rodu *Candida*, jmenovitě *Candida albicans* (22,2 %) a *Candida parapsilosis* (11,1 %). Další bakterie, které byly izolovány byly *Pseudomonas aeruginosa* (11,1 %), *Klebsiella* spp. (11,1 %) a *Proteus mirabilis* (11,1 %).



Graf 5: Zastoupení jednotlivých mikroorganismů s hlediska četnosti u vzorků s prokázanou systémovou katérovou infekcí. Výsledky byly získány souběžně prováděným hemokultivačním vyšetřením krve a kultivačním šetřením venózních katétrů v Nemocnici Boskovice s. r. o., za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019.

15. DISKUZE

Cílem této diplomové práce je poskytnout přehledné pojednání o problematice mikrobiologické diagnostiky původců, kteří stojí za infekčními procesy sdruženými se zavedením CVK. Klíčovým úkolem této práce je zhodnotit nálezy z hlediska četnosti výskytu jednotlivých mikrobiálních agens a určit, zda tyto výsledky korelují s daty uváděnými v publikovaných studiích. Dílčím cílem práce je zjistit míru osídlení venózního katétru mikroorganismy, tzn. v kolika případech pozitivního kultivačního výsledku bylo vyhodnoceno, že šlo o kontaminaci či signifikantní kolonizaci. Případně, zda byla potvrzena, po korelaci s výsledky z hemokultivačního vyšetření, také systémová katéetrová infekce.

CVK jsou v současné době nenahraditelné, a to převážně u pacientů, kteří vyžadují intenzivní péči nebo u onkologických pacientů. Centrální katetrizace však není bez rizik. Zvláště při dlouhodobém zavedení CVK mohou vznikat komplikace, které mohou být až život ohrožující. Proto by měla být péče o katétr důsledná a prováděná vždy řádně školeným personálem.

Na vzniku infekce sdružené se zavedením CVK má vliv hned několik aspektů. Je to například délka doby zavedení katétru, místo zavedení, zkušenosti při zavádění katétru, správná hygienická dezinfekce rukou personálu a v neposlední řadě také materiál, ze kterého je katétr vyroben a jak je upraven jeho povrch. Závěry odborných studií ukazují, že katétr s povrchovou úpravou snižují četnost infekcí sdružených se zavedením CVK. Touto problematikou se zabývali také Hanna et al. (2016), kteří ve své studii srovnávali silikonové katétrů bez povrchové úpravy a katétrů s povrchovou úpravou rifampin/minocyklin z hlediska četnosti výskytu infekcí sdružených se zavedením CVK u onkologických pacientů. Došli k závěru, že u pacientů, u kterých byly zavedeny katétrů s povrchovou úpravou rifampin/minocyklin, bylo riziko vzniku infekce sdružené se zavedením katétru výrazně nižší. [70]

Na mikrobiologické oddělení bylo v časovém období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019 odesláno ke kultivačnímu vyšetření celkem 171 CVK z lůžkových oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. Pozitivní kultivační nález (Makiho metoda nebo až po pomnožení distálního konce katétru v živném bujónu) byl zjištěn u 91 CVK, odpovídající 53,2 %

z celkového počtu 171 šetřených CVK. U 80 šetřených CVK (odpovídající 46,8 %) byl zjištěn negativní kultivační nález (Makiho metoda i po pomnožení distálního konce katétru v živném bujónu). K vyšetření se zasílají nejen katétrů s podezřením na katérovou sepsi, ale často také katétrů, které byly odstraněny z důvodu ukončení léčby. Vyšší procento pozitivit by tak mohlo značit méně kvalitní péči o katétr anebo se lze domnívat, že by to mohlo být dáno úspěšnějším záchytem v laboratoři. Nejvíce CVK však bylo zasláno do laboratoře z jednotky intenzivní péče, kde se předpokládá indikace k šetření na základě klinického stavu pacienta (např. nevysvětlitelná horečka), tudíž tomu procento pozitivního kultivačního nálezu odpovídá.

Pro průkaz osídlení katétrů mikroorganismy se využívá Makiho metoda rolování katétru po agaru a následně metoda pomnožení distálního konce katétru v živném bujónu. V rámci hodnocení Makiho metodou byl u 27 CVK (odpovídající 29,7 %) z celkového počtu šetřených CVK s pozitivním kultivačním výsledkem ($n = 91$) prokázán negativní kultivační nález. Tyto katétrů byly ale následně šetřeny metodou pomnožení distálního konce katétru v bujónu a zde byl již zjištěn pozitivní kultivační nález. Tento nález s největší pravděpodobností svědčí pro intraluminální kontaminaci či kolonizaci u katétrů, které byly zavedeny delší dobu než jeden týden. Intraluminální osídlení katétru většinou nastává při dlouhodobém zavedení katétrů (více jak 10 dní), kde může docházet ke kontaminaci spojek a tím k vniknutí mikrobiálních agens do lumen katétru. [38]

U 64 CVK (odpovídající 70,3 %) s pozitivním kultivačním nálezem již po rolování konce katétru po agaru, byly nálezy dále hodnoceny s využitím hraničního kritéria (hodnota cut off), dovolující rozlišit mezi kontaminací a signifikantní kolonizací. Cut off hodnotou je počet 15 CFU. [60] V případě počtu <15 CFU se s největší pravděpodobností jedná o kontaminaci, při počtu ≥ 15 CFU se jedná o signifikantní kolonizaci katétru.

Makiho metoda je považována za nejběžnější konvenční metodický přístup pro určení osídlení katétrů. Pomocí této metody je možné hodnotit osídlení povrchu katétru, tzv. extraluminální osídlení. [61] Při zpracování katétrů pomocí Makiho metody nelze získat povědomí o intraluminálním osídlení, a tak některá pracoviště volí k vyšetření CVK kvantitativní metodu tzv. sonikaci. V odborných studiích, které

porovnávaly tyto dvě metody, však nebyl zjištěn zásadní rozdíl v získaných výsledcích [62]. Tento závěr může poukazovat na to, že většina infekcí vzniká migrací bakterií podél katétru, tedy extraluminálně.

Jak je v řadě autorských prací uvedeno, mezi nejčastěji identifikované agens schopné osídlovat CVK patří koaguláza negativní stafylokoky. [63] Na povrchu katétrů se obecně nejčastěji vyskytují koaguláza negativní stafylokoky. [64] Je to dáno jejich afinitou k umělým povrchům a schopnosti tvořit biofilm. [65] Také v mikrobiologické laboratoři Nemocnice Boskovice s. r. o. byly, při mikrobiologickém šetření CVK za období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019, nejčastěji identifikovanými bakteriálními kmeny koaguláza negativní stafylokoky, konkrétně *Staphylococcus epidermidis*. Tento koaguláza negativní stafylokok je běžnou součástí kožního mikrobiomu. Patří mezi oportunní patogeny a u imunokompromitovaných pacientů bývá uváděn jako nejčastější příčina infekcí souvisejících s katetrizací. Schopnost adherovat na povrch katétru a vytvářet biofilm spočívá v jeho genetické výbavě. [66]

V rámci našeho šetření byl v 18 případech zaznamenán počet <15 CFU, což poukazovalo na kontaminaci katétru.

U 46 vyšetřených CVK byl počet narostlých kolonií stanoven v hodnotě odpovídající ≥ 15 CFU. Tyto nálezy již mohou svědčit o lokální či systémové infekci a je vhodné je posuzovat v kontextu s klinickým stavem pacienta. Při podezření na systémovou katérovou infekci je vhodné odebrat pacientovi krev na hemokultivační vyšetření pro potvrzení diagnózy. [67] V našem případě bylo hemokultivační vyšetření indikováno u 12 pacientů. V devíti, námi šetřených, případech, se nálezy na CVK shodovaly s nálezy u hemokultivačního vyšetření. V tomto případě byla nejčastěji izolovaným agens bakterie *Enterococcus faecalis* (odpovídající 44,4 %). Enterokoky jsou také stále častěji řazeny mezi významné původce infekcí sdružených se zavedeným katétrem. Podílí se například na vzniku infekční endokarditidy, která může být pro pacienta velmi závažná. [68]

Pro správnou interpretaci nálezů je vždy vhodné konzultovat výsledky s ošetřujícím lékařem a hodnotit je v kontextu s klinickým stavem pacienta. Na průvodním listu k vyšetřovanému materiálu, zaslanému do mikrobiologické laboratoře, by měly být uvedeny údaje jako místo inserce, délka doby zavedení

či důvod extrakce. Často se však stává, že tyto údaje chybí, a i z tohoto důvodu může být interpretace výsledků ztížena.

16. ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo poskytnout přehledné pojednání o problematice mikrobiologické diagnostiky původců, kteří stojí za infekčními procesy sdruženými se zavedením CVK. Dalším cílem bylo hodnotit nálezy získané na pracovišti Mikrobiologického oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o. semikvantitativním kultivačním vyšetřením centrálních venózních katétrů (Makiho metoda), a metodickým přístupem spočívajícím v kultivaci distální části CVK v živném bujónu, a to za časové období od 1. 1. 2019 do 31. 12. 2019.

Ze získaných dat bylo zjištěno, že nejčastěji identifikovanými bakteriálními agens jsou bakterie ze skupiny grampozitivních koků, jmenovitě pak zcela nejčastěji bakterie *Staphylococcus epidermidis*. Mezi další často izolované patří bakterie ze skupiny gramnegativních fakultativně aerobních tyček, a to *Pseudomonas aeruginosa* nebo kvasinky, zejména *Candida albicans*. Výsledky jsou tak v souladu s poznatky jiných autorů.

Makiho metoda rolování katétru po agaru poskytuje informaci o osídlení povrchu CVK mikroorganismy. Při rozšíření této metody o přístup kultivace katétru v bujónu bylo možné identifikovat další mikrobiální agens, které nebyly Makiho metodou v primokultuře zachyceny. Tento metodický přístup umožňuje, na rozdíl od Makiho metody, odhalit intraluminální kolonizaci, či prokázat agens, které se vyskytovaly na povrchu katétru jen v takovém množství, které nebylo Makiho metodou možné zachytit. Jako nevýhodu této metody lze považovat skutečnost, že po pomnožení mikrobiálních agens v živném bujónu nelze hodnotit kvantitu narostlých mikrobiálních kolonií, tedy nelze odlišit kontaminaci katétru od signifikantní kolonizace.

Při hodnocení nálezů je důležité rozlišit mezi kontaminací a signifikantní kolonizací. V některých případech je vhodné konzultovat s ošetřujícím lékařem, který může podat informace o klinickém stavu pacienta, což umožní správnou interpretaci výsledků.

17. POUŽITÉ ZKRATKY

CDC	<u>C</u> enters for <u>D</u> isease <u>C</u> ontrol and <u>P</u> reventions, Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí
CFU	<u>c</u> olony <u>f</u> orming <u>u</u> nit, kolonii tvořící jednotka
CLABSI	<u>c</u> entral <u>l</u> ine <u>a</u> ssociated <u>b</u> lood <u>s</u> tream <u>i</u> nfection, infekce krevního řečiště sdružená s centrálním katétrem
CRB	<u>c</u> atheter- <u>r</u> elated <u>b</u> acteremia, katéťrová bakteriémie
CRBSI	<u>c</u> atheter- <u>r</u> elated <u>b</u> lood <u>s</u> tream <u>i</u> nfection, katéťrová infekce krevního řečiště
CVK	<u>c</u> entrální <u>v</u> enózní <u>k</u> atétry
PICC	<u>p</u> eripheral <u>i</u> nsert <u>c</u> entral <u>c</u> atheter, periferně implantovaný centrální katétr
QS	<u>q</u> uorum <u>s</u> ensing

18. SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: První historicky doložený skiagram katetrizace centrálního žilního řečiště.	13
Obrázek 2: Midline katétr.	15
Obrázek 3: Periferně implantovaný centrální venózní katétr.	16
Obrázek 4: Tunelizovaný centrální venózní katétr.	17
Obrázek 5: Intravenózní port.	18
Obrázek 6: Huberova jehla k jednorázové aplikaci do portu.	18
Obrázek 7: Stupnice pro měření velikosti katétru.	27
Obrázek 8: Možné zdroje kontaminace venózního katétru.	29
Obrázek 9: Extraluminální osídlení katétru.	29
Obrázek 10: Intraluminální osídlení katétru.	30
Obrázek 11: Schéma znázorňující tvorbu biofilmu v jednotlivých fázích	33
Obrázek 12: Christensenova metoda v mikrotitrační destičce.	34
Obrázek 13: Kultivační průkaz kmenů produkujících biofilm na půdě s kongo červení.	35
Obrázek 14: Snímek tvořícího se mikrobiálního biofilmu na povrchu katétru pořízený elektronovou mikroskopií.	36
Obrázek 15: Snímek obrazu pořízený pomocí světelné mikroskopie - mikroskopický preparát z krve odebrané z centrálního venózního katétru.	39
Obrázek 16: Makiho metoda rolování konce katétru po agaru.	40
Obrázek 17: Kvantitativní sonikační metoda.	42

Obrázek 18: Distální konec centrálního venózního katétru odebraný do sterilní zkumavky.	46
Obrázek 19: Sterilní pomůcky potřebné pro zpracování vyšetřovaného materiálu.	47
Obrázek 20: Rolování konce katétru po krevním agaru.	48
Obrázek 21: Zalití distálního konce centrálního venózního katétru živným bujónem...	49
Obrázek 22: Ukázka zakaleného živného bujónu (indikující mikrobiální nárůst) po proběhlé kultivaci v termostatu.	50
Obrázek 23: Krevní agar zaočkovaný čarou <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> a s diskem Bacitracinu 10 UI.	50
Obrázek 24: Výsledek kultivačního vyšetření na krevním agaru - „bez průkazu mikroorganismů“.....	52
Obrázek 25: Výsledek kultivačního vyšetření na krevním agaru, „pozitivní nález kultivace“.....	52
Obrázek 26: Směsná mikrobiální kultura po vyočkování na krevní agar z pomnoženého bujónu.....	54
Obrázek 27: Automatizovaný přístroj Vitek 2 Compact pro stanovení identifikace mikroorganismů a jejich antimikrobní citlivosti. (dodavatel BioMérieux CZ s. r. o.)	56
Obrázek 28: Plastová identifikační karta s obarvenými jamkami po proběhlé inkubaci v automatizovaném přístroji Vitek 2 Compact.....	56

19. SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Hodnotící kritéria pro odlišení kontaminace a signifikantní kolonizace centrálního venózního katétru.	41
Tabulka 2: Interpretace výsledků a hodnotící kritéria pro Makiho metodu u kultivačních nálezů v rámci mikrobiologického oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o.	53
Tabulka 3: Rozdělení výsledků týkajících se vyšetřených centrálních venózních katétrů za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019, dle jejich distribuce z jednotlivých oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o., a z hlediska zaznamenaných výsledků pozitivního a negativního kultivačního nálezu.	58
Tabulka 4: Počty centrálních venózních katétrů vyšetřených Makiho metodou a metodou spočívající v pomnožení distálního konce katétru v bujónu a jejich rozdělení do skupin z hlediska možnosti využití hodnotícího kritéria pro Makiho metodu.	61

20. SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Počet všech vyšetřených centrálních venózních katétrů dle jednotlivých oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o., v časovém období od 1. 1. 2019 do 31. 12. 2019. 57

Graf 2: Počet pozitivních a negativních kultivačních nálezů u vyšetřených centrálních venózních katétrů Makiho metodou a metodou spočívající v pomnožení distálního konce katétru v bujónu. Šetření z mikrobiologického oddělení Nemocnice Boskovice s. r. o., v časovém období od 1. 1. 2019 do 31. 12. 2019. 58

Graf 3: Zastoupení nejčastěji identifikovaných mikroorganismů z hlediska četnosti u centrálních venózních katétrů s pozitivním kultivačním výsledkem v Nemocnici Boskovice s. r. o., za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019. 60

Graf 4: Počet katétrů testovaných Makiho metodou s pozitivním výsledkem kultivace rozdělených do skupin podle hodnotícího kritéria, cut off ≥ 15 CFU (colony forming unit), vyšetřených v Nemocnici Boskovice s. r. o., za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019. 62

Graf 5: Zastoupení jednotlivých mikroorganismů s hlediska četnosti u vzorků s prokázanou systémovou katérovou infekcí. Výsledky byly získány souběžně prováděným hemokultivačním vyšetřením krve a kultivačním šetřením venózních katétrů v Nemocnici Boskovice s. r. o., za časové období 1. 1. 2019 až 31. 12. 2019. 63

21. POUŽITÉ ZDROJE A LITERATURA

- [1] Charvát J. (2016) *Žilní vstupy: dlouhodobé a střednědobé*. Praha: Grada Publishing. ISBN: 978-80-247-5621-9.
- [2] Bourassa M. G. (2005) The history of cardiac catheterization. *The Canadian journal of cardiology* 21(12): 1011-1014 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/16234881/>
- [3] Drábková J. (2001) *Centrální žilní katétrů funkce, základy zavádění a ošetřování*. Příbram: MSM spol. s.r.o. ISBN: ISBN 80-902586-3-6.
- [4] Gallieni M., Pittiruti M., Biffi R. (2008) Vascular access in oncology patients. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 58(6): 323–346 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/CA.2008.0015>
- [5] Maňásek V., Soumarová R., Kociánová L. (2012) Žilní vstupy v onkologii. *Klinická onkologie* 25(1): 9-16 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://www.linkos.cz/files/klinicka-onkologie/168/3916.pdf>
- [6] Moir D., Bodenham A. (2018) A narrative review of long-term central venous access devices for the intensivist. *Journal of the Intensive Care Society* 19(3): 236-246 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1751143717741249>
- [7] Charvát J. (2013) Dlouhodobé cévní vstupy - současná situace v ČR. *Medical Tribune* 2013(23) [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://www.tribune.cz/clanek/31541-dlouhodobé-cevni-vstupy-soucasna-situace-v-cr>
- [8] Lenz H., Myre K., Draegni T., Dorph E. (2019) A Five-Year Data Report of Long-Term Central Venous Catheters Focusing on Early Complications. *Anesthesiology Research and Practice* 2019: 1-8 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://www.hindawi.com/journals/arp/2019/6769506/>

- [9] Maňásek V. (2015) Žilní přístupy pro střednědobou a dlouhodobou protinádorovou léčbu. *Onkologie* 9(6): 282-286 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: <https://www.onkologiecs.cz/pdfs/xon/2015/06/08.pdf>
- [10] Blausen Medical. (2016) PICC catheter vs. midline catheter. *WikiMedia.org*, 8. 4. 2016 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/54/PICC vs. Midline Catheter.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/54/PICC_vs._Midline_Catheter.png)
- [11] Caprara J. (2017) PICC versus Midline. *Home Healthcare Now* 35(10): 575-576 [cit. 2021-04-05]. Dostupné z: https://www.nursingcenter.com/journalarticle?Article_ID=4388386&Journal_ID=2695880&Issue_ID=4388241
- [12] Petlachová M. (2012) Péče o centrální venózní katétry. *Pediatric pro praxi* 13(1): 52-54 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2012/01/15.pdf>
- [13] Ching-Yang W., Chia-Hui CH., Jui-Ying F., Yen Ch., Ching-Feng W., Chien-Hung Ch., Po-Jen K., Yun-Hen L. (2018) Recommended irrigation volume for an intravenous port: Ex vivo simulation study. *PLoS ONE* 13(8): 1-11 [cit. 2021-04-07]. Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0201785>
- [14] The McGraw-Hill Companies, Inc. (2002) Venous port. *McGraw-Hill Concise Dictionary of Modern Medicine*. Dostupné z: <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/venous+port>
- [15] Akaraborworn O. (2017) A review in emergency central venous catheterization. *Chinese Journal of Traumatology* 20(3): 137-140 [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1008127516301596>
- [16] Pacht J., Roubík K. (2003) *Základy anesteziologie a resuscitační péče dospělých i dětí*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-0479-5.
- [17] Akutne.cz (2018) Zavedení centrálního žilního katetru. *Akutne.cz* [cit. 2021-04-09]. Dostupné z: <https://www.akutne.cz/index.php?pg=vyukove-materialy--multimedialni-vyukove-pomucky&tid=20>

- [18] Zadák Z., Havel E. (2007) *Intenzivní medicína na principech vnitřního lékařství*. Praha: Grada. ISBN 978-80-247.
- [19] Safety Committee of Japanese Society of Anesthesiologists. (2020) Practical guide for safe central venous catheterization and management 2017. *Journal of Anesthesia* 34(2): 167-186 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00540-019-02702-9>
- [20] Patel A. R., Patel A. R., Singh S., Singh S., Khawaja I. (2019) Central Line Catheters and Associated Complications: A Review. *Cureus* 11(5): e4717 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <https://www.cureus.com/articles/19744-central-line-catheters-and-associated-complications-a-review>
- [21] Kornbau C., Lee K. C., Hughes G. D., Firstenberg M. S. (2015) Central line complications. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* 5(3): 170-178 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <http://www.ijciis.org/text.asp?2015/5/3/170/164940>
- [22] Ministerstvo zdravotnictví České republiky (2020) Národní ošetrovatelský postup asistence při zavedení a péče o centrální žilní katétr. *Ministerstvo zdravotnictví ČR*, 28. 4. 2020 [cit. 2021-04-11]. Dostupné z: <https://www.mzcr.cz/wp-content/uploads/wepub/18576/41066/NOP%20Asistence%20p%C5%99i%20zaveden%C3%AD%20a%20p%C3%A9%C4%8De%20o%20C%C5%BDK.pdf>
- [23] Braunoviny.cz (2013) Ošetrovatelská péče o centrální žilní katétr v podmínkách JIP/ARO. *Braunoviny.cz*, 3. 10. 2013 [cit. 2021-04-12]. Dostupné z: <https://www.braunoviny.cz/osetrovatelska-pecce-o-centralni-zilni-katetr-v-podminkach-jip-aro>
- [24] Kolikof J., Peterson K., Baker A. M. (2021) Central Venous Catheter. *StatPearls* [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557798/>
- [25] Nasr-esfahani M., Kolahdouzan M., Mousavi S. A. (2016) Inserting central venous catheter in emergency conditions in coagulopathic patients in comparison to noncoagulopathic patients. *Journal of Research in Medical Sciences* 21(120) [cit. 2021-04-15]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5331764/>

- [26] Vymazal T. (2013) Kvalitní katétr usnadní práci a snižuje komplikace. *Braunoviny.cz* [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://www.braunoviny.cz/kvalitni-katetr-usnadni-praci-a-snizuje-komplikace>
- [27] Linder L., Curelaru I., Gustavsson B., Hansson H., Stenqvist O., Wojciechowski J. (1984) Material thrombogenicity in central venous catheterization: a comparison between soft, antebrachial catheters of silicone elastomer and polyurethane. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 8(4): 399-406 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6431130/>
- [28] Mauro M. A. (2016) Central Venous Catheters: Materials, Designs, and Selection. *Thoracickey.com*, 26. 7. 2016 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://thoracickey.com/central-venous-catheters-materials-designs-and-selection/>
- [29] B.Braun, Inc. (2021) Certofix protect Duo. *BBraun.cz* [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://www.bbraun.cz/cs/products/b/certofix-protectduo.html>
- [30] Křikava I., Ševčík P. (2008) Možnosti antimikrobiální ochrany centrálních žilních katétrů. *Anesteziologie a intenzivní medicína* 19(4): 210-217 [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/anesteziologie-intenzivni-medicina/2008-4/moznosti-antimikrobialni-ochrany-centralnich-zilnich-katetru-695>
- [31] Stephens R., Mythen M., Kallis P., Davies D. W. L., Egner W., Rickards A. (2001) Two episodes of life-threatening anaphylaxis in the same patient to a chlorhexidine–sulphadiazine-coated central venous catheter. *British Journal of Anaesthesia* 87(2): 306-308 [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://academic.oup.com/bja/article/87/2/306/263272?login=true>
- [32] Turnbull I. R., Buckman S. A., Horn CH. B., BOchicchio G. V., Mazuski J. E. (2018) Antibiotic-Impregnated Central Venous Catheters Do Not Change Antibiotic Resistance Patterns. *Surgical Infections* 19(1): 40-47 [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29028461/>
- [33] Knapová J. (2019) Invazivní vstupy. *Inovace VOV v ČR*, 30. 9. 2019 [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: <https://www.vovcr.cz/odz/zdrav/501/page01.html>

- [34] Jindrák V., Hedlová D., Urbášková P. (2014) *Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici*. Praha: Mladá fronta. ISBN 978-80-204-2815-8.
- [35] Šrámová H. (2013) *Nozokomiální nákazy*. Praha: Maxdorf. ISBN 978-80-7345-286-5.
- [36] Jirouš J. (2012) Prevence infekcí cévního řečiště spojených s intravaskulární katetrizací. *Česká společnost nemocniční epidemiologie a hygieny*, 15. 10. 2012 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: <https://www.sneh.cz/soubory/clanky/31.pdf>
- [37] O'Grady N. P., Alexander M., Burns L. A., Dellinger E. P., Garland J., Heard S. O., Lipsett P. A., Masur H., Mermel L. A., Pearson M. L., Raad I. I., Randolph A., Rupp M. E. (2017) Guidelines for the Prevention of Intravascular Catheter-Related Infections. *Cdc.gov*, Oct. 2017 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/bsi-guidelines-H.pdf>
- [38] Gahlot R., Nigam CH., Kumar V., Yadav G., Anupurba S. (2014) Catheter-related bloodstream infections. *International Journal of Critical Illness and Injury Science* 4(2): 162-167 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4093967/>
- [39] Svoboda P. (2004) *Sepse v traumatologii a chirurgii*. Praha: Triton. SBN 80-725-4550-7.
- [40] Gominet M., Compain F., Beloin CH., Lebeaux D. (2017) Central venous catheters and biofilms: Where do we stand in 2017? *APMIS* 125(4): 365-375 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/apm.12665>
- [41] Čermák P. (2008) *Mikrobiologická diagnostika infekcí krevního řečiště*. Praha: Maxdorf. ISBN 978-80-7345-142-4.
- [42] Rulík M. (2011) *Mikrobiální biofilmy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci. ISBN 978-80-244-2747-8.
- [43] Stepanović S., Vuković D., Dakić I., Savić B., Švabić-Vlahović M. (2000) A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods* 40(2): 175-179 [cit. 2021-04-22].

Dostupné

z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167701200001226>

- [44] Donlan R. M. (2008) Biofilms on Central Venous Catheters: Is Eradication Possible? *Bacterial Biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology* 322: 133-161 [cit. 2021-04-22]. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_7
- [45] Csepregi R., Lemli B., Kunsági-Máté S., Sente L., Kőszegi T., Németi B., Poór M. (2018) Complex Formation of Resorufin and Resazurin with B-Cyclodextrins: Can Cyclodextrins Interfere with a Resazurin Cell Viability Assay? *Molecules* 23(2): 1-16 [cit. 2021-04-23]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/382/html>
- [46] Vuotto C., Donelli G. (2014) Field Emission Scanning Electron Microscopy of Biofilm-Growing Bacteria Involved in Nosocomial Infections. Pp. 73-84 In Donelli G. (2014) *Microbial Biofilms. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*. New York: Springer. ISBN 978-1-4939-0466-2. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0467-9_6
- [47] Smith K., Hunter I. S. (2008) Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates. *Journal of Medical Microbiology* 57(8): 966-973 [cit. 2021-04-23]. Dostupné z: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.47668-0>
- [48] Cafiso V., Bertuccio T., Santagati M. et al. (2004) Presence of the ica operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. *Clinical Microbiology and Infection* 10(12): 1081-1088 [cit. 2021-04-23]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15606635/>
- [49] Scharfen J. (2014) Národní standardní vyšetřovací postup: Základní mikrobiologické vyšetření intravaskulárních kanyl a souvisejících vzorků z primárně kultivačně negativních lokalit semikvantitativní kultivační metodou. *Společnost pro lékařskou mikrobiologii - Česká lékařská společnost Jana*

- Evangelisty Purkyně*, 30. 5. 2014 [cit. 2021-04-23]. Dostupné z: <https://www.splm.cz/download/0000016e-78d3-d7e2-a16e-7cf74c690000>
- [50] Anonymous. (2021) *PPT: Centrální žilní katetr*. [cit. 2021-04-21]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1411/jaro2014/BZPN0433c/um/OSP_II_Pdf/Centralni_zilni_katetr.pdf
- [51] Frebourg N. B., Lefebvre S., Baert S., Lemeland J. F. (2000) PCR-Based Assay for Discrimination between Invasive and Contaminating *Staphylococcus epidermidis* Strains. *Journal of Clinical Microbiology* 38(2): 877-880 [cit. 2021-7-27]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10655405/>
- [52] Bong J.J., Kite P., Ammori B. J., Wilcox M. H., McMahan M. J. (2016) The use of a rapid in situ test in the detection of central venous catheter-related bloodstream infection: a prospective study. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 27(2): 146-150 [cit. 2021-7-27]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12665171/>
- [53] CompactCath.com (2018) Urinary Catheter Types and Sizes. *CompactCath.com* [cit. 2021-08-10] Dostupné z: <https://www.compactcath.com/blog/catheter-types-and-sizes/>
- [54] Čermák P. (2021) *PPT: Klinická mikrobiologie*. [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/cermak/klinicka_mikrobiologie-bezna_flora_IKR.pdf
- [55] Hollmann B., Perkins M., Walsh D. (2021) Biofilms and their role in pathogenesis. *British Society for Immunology*. Dostupné z: <https://www.immunology.org/file/2363/download?token=CSXz5Feg>
- [56] Šviráková E., Bambasová L., Krupinský J. (2020) Metody detekce bakteriálních biofilmů v potravinářství. *Ústav konzervace potravin VŠCHT Praha*, 1. 10. 2020 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: https://www.vumlekarensky.cz/upload/soubory/pdf/Svirakova_Metody_detekce_biofilm.pdf
- [57] Katongole P., Nalubega F., Najjuka CH., Asiimwe B., Andia I. (2020). Biofilm formation, antimicrobial susceptibility and virulence genes of Uropathogenic *Escherichia coli* isolated from clinical isolates in Uganda. *BMC Infectious Diseases*

- 20 (453): 1-6 [cit. 2021-08-10] Dostupné z: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12879-020-05186-1.pdf>
- [58] Donlan R., Murga R., Bell M., Toscano C., Carr J., Novicki T., Zuckerman C., Corey L., Miller J. (2001). Protocol for Detection of Biofilms on Needleless Connectors Attached to Central Venous Catheters. *Journal of clinical mikrobiology* 39(2): 750-753 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/J-Miller-12/publication/12171823_Protocol_for_Detection_of_Biofilms_on_Needleless_Connectors_Attached_to_Central_Venous_Catheters/links/00b4952dd484fecbad000000/Protocol-for-Detection-of-Biofilms-on-Needleless-Connectors-Attached-to-Central-Venous-Catheters.pdf
- [59] Jaśkiewicz M., Janczura A., Nowicka J., Kamysz W. (2019) Methods Used for the Eradication of Staphylococcal Biofilms. *Antibiotics* 8(4): 174 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040174>
- [60] Maki D. G., Weise C. E., Sarafin H. W. (1977) A semiquantitative Culture Method for Identifying Intravenous-Catheter-Related Infection. *The New England Journal of Medicine* 296: 1305-1309 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM197706092962301>
- [61] Mansilla C. A., Alarcón J. M., Ahufinger I. G., Ramírez M. G. (2019) Microbiological diagnosis of catheter-related infections. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinika (English ed.)* 37(10): 668-672 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2018.07.021>
- [62] Slobbe L., Barzouhi A., Boersma E., Rijnders B. J. A. (2020) Comparison of the Roll Plate Method to the Sonication Method To Diagnose Catheter Colonization a Bacteremia in Patients with Long-Term Tunelled Catheters a Randomized prospective Study. *Journal of Clinical Microbiology* 47(4) [cit. 2021-08-09]. Dostupné z: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JCM.00998-08>
- [63] Christian C. P. (1990) Coagulase-negative staphylococci: Pathogens with increasing clinical significance. *The Journal of Pediatrics* 116(4): 497-507 [cit.

2021-08-10].

Dostupné

z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022347605815938>

- [64] Hebeisen U. P., Atkinson A., Marschall J., Buetti N. (2019) Catheter-related bloodstream infections with coagulase-negative staphylococci: are antibiotics necessary if the catheter is removed?. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 8(21): 1-8 [cit. 2021-08-09]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0474-x>
- [65] Soumya K. R., Philip S., Sugathan S., Mathew J., Radhakrishnan E. K. (2017) Virulence factors associated with Coagulase Negative Staphylococci isolated from human infections. *3 Biotech* 7(140): 1-10 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0753-2>
- [66] Otto M. (2008) Staphylococcal Biofilms. In: Romeo T. (eds) *Bacterial Biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 322. Springer, Berlin, Heidelberg. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_10
- [67] Mermel L., Allon M., Bouza E., Craven D. E., Flynn P., O'Grady N. P., Raad I. I., Rijnders B. J. A., Sherertz R. J., Warren D. K. (2009) Clinical Practise Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection. *Clinical Infectious Diseases* 49: 1–45 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: <https://www.unmc.edu/intmed/divisions/id/asp/clinical-pathways/docs/management-crbsi-2009.pdf>
- [68] Ch'ng J. H., Chong K. K. L., Lam L. N., Wong J. J., Kline K. A. (2019) Biofilm-associated infection by enterococci. *Nature Reviews Microbiology* 17: 82–94 [cit. 2021-08-10] Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0107-z>
- [69] Ramstedt M., Ribeiro I. A. C., Bujdakova H., Mergulhao F. J. M., Jordao L., Thomsen P., Alm M., Burmolle M., Vladkova T., Cab F., Reches M., Riool M., Barros A., Reis R. L., Meanrio E., Kikhney J., Moter A., Zaat S. A. J., Sjollemma J. (2019) Evaluating Efficacy of Antimicrobial and Antifouling Materials for Urinary Tract Medical Devices: Challenges and Recommendations. *Macromolecular Bioscience* 19(1800384): 1-26 [cit. 2021-08-10]. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/mabi.201800384>

- [70] Hanna H., Benjamin R., Chatzinikolaou I., Alakech B., Richardson D., Mansfield P. (2016) Long-Term Silicone Central Venous Catheters Impregnated With Minocycline and Rifampin Decrease Rates of Catheter Blood stream Infection in Cancer Patients: A Prospective Randomized Clinical Trial. *The Journal of Clinical Oncology* 22(15) [cit. 2021-08-15]. Dostupné z: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2004.04.124>