

## **Значение и механизмы транслокации кишечной микрофлоры в развитии синдрома системного воспалительного ответа и сепсиса**

*1-я городская клиническая больница, г. Минск  
Белорусский государственный медицинский университет*

Значение и механизмы транслокации кишечной микрофлоры в развитии синдрома полиорганной дисфункции и сепсиса.

В обзорной статье представлены данные о транслокации микроорганизмов кишечника, определение транслокации, механизм возникновения, роль в развитии синдрома системного воспалительного ответа и сепсиса у критически больных пациентов.

Ключевые слова: транслокация кишечной микрофлоры, синдром полиорганной дисфункции, сепсис.

«Транслокация» – феномен или термин, который появился в медицинской литературе в конце XIX века. Впервые транслокация микрофлоры из кишечника описана Дюрвандингом 1881 году [1]. R.Berg [3] определял транслокацию как прохождение жизнеспособных бактерий и их токсинов из ЖКТ через слизистую оболочку в экстраинтестинальные участки макроорганизма (в мезентериальные лимфатические узлы, печень, селезенку, кровоток). Транслокация бактерий выявляется при стрессе, травмах, ожогах, различных шоках, кишечной непроходимости. Некоторые авторы (Marin H. Kollef, 1999) [30] считают транслокацию фактором патогенеза развития внутрибольничных пневмоний. Хирургическое вмешательство также провоцирует проникновение жизнеспособных бактерий в органы и ткани. В одной из крупных работ по изучению бактериальной транслокации у хирургических больных (С. O'Boyle с соавт., 1998) [29] на основании данных 448 пациентов после лапаротомии, транслокация бактерий в мезентериальные лимфоузлы была обнаружена у 15, 4%, и у них в 74% случаев выделялись кишечные бактерии. В 1985 году R.Berg опубликовал обзор, посвященный бактериальной транслокации микрофлоры из кишечника. В.И. Никитенко с соавторами в 1986 году [2] обнаружили транслокацию бактерий из ЖКТ в рану и окружающие ткани. Этот факт заставляет клиницистов пересматривать такие понятия как стандартная асептика и антисептика, так как речь идет об эндогенном инфицировании. Кроме того, в общей хирургии у взрослых пациентов, страдающих различными видами кишечной непроходимости, «внезапно» развивается синдром полиорганной дисфункции без «явного» очага инфекции, в результате которого увеличивается летальность [13, 17, 19, 23, 28].

Физиологический кишечный барьер состоит из механического клеточного барьера, внутриклеточных защитных функций, иммунологического барьера, нормальной микрофлоры и печеноно-кишечной оси. Имеются данные о том, что повреждение этих компонентов кишечного барьера делает возможным транслокацию бактерий и токсинов [5, 13]. Недостаточность кишечного барьера первично характеризуется нарушением всасывания питательных веществ, компрометирует кишечный иммунный ответ и усиливает кишечную

проницаемость. Микрофлора пищеварительного тракта представляет собой сложную экологическую систему, включающую как сами кишечные бактерии, так и слизи-стые оболочки хозяина, компоненты пищи, вирусы, грибы. Основная масса нормальных кишечных бактерий фиксирована к специфическим рецепторам энтеро-ци-тов слизистой оболочки желудочно-кишеч-но-го тракта, образуя микроколонии (мукозная, пристеночная микро-флора), и лишь незначительная ее часть находится в свободном состоянии в просвете кишки (внутрипро-свет-ная микрофлора).

Кишечная микрофлора под-раз-де-ляется на облигатную (синонимы: главная, рези-дент-ная, индигенная, аутохтонная), факультатив-ную (са-про-фитная и условно-патогенная) и транзиторную (слу-чай-ная). В состав облигатной микрофлоры входят ана-эро-бы: бифидобактерии, лактобактерии, пропионобактерии, пепто-стреп-тококки, аэробы (энтерококки и эше-ри-хии). Факультативная микрофлора представлена са-профитами (бактериоиды, пептококки, стафилококки, стрептококки, дрожжевые грибы), аэробными и анаэробными бациллами. К условно патогенным энтеробактериям относятся представители семейства кишечных бактерий: клебсиеллы, протеи, цитро-бак-теры, энтеробактеры и др. По характеру метаболизма кишечная микрофлора подразделяется на две группы: протеолитические и амилаолитические бактерии. Протеолитические штаммы (бактероиды, протей, эшерихии, клостридии и др.) используют в качестве питательного субстрата продукты гидролиза белка и в качестве конечных метаболитов своей жизнедеятельности образуют токсичные вещества (аммиак, ароматические аминокислоты, эндогенные канцерогены, сульфиды и др.), вызывают гнилостные процессы, способствуя развитию воспаления, диареи, неоплазий. Большинство протеолитических микроорганизмов являются условно-патогенными. Амило-лито-ческие бактерии (бифидобактерии, лактобактерии и др.), составляющие основную массу микробных клеток толстой кишки, используют в своей жизнедеятельности пищевые углеводные субстраты и полисахариды кишечной слизи. Метаболические функции, вы-полняемые амилаолитическими микробами, являются полезными для организма хозяина. Они поддерживают гомеостаз и нейтрализуют негативные влияния протеолитической микрофлоры. Состав микрофлоры каждого биотопа пищеварительного тракта различается, но остается постоянным, что связано со способностью бактерий фиксироваться к строго определенным рецепторам эпителиальных клеток слизистой оболочки. В слизистой оболочке тонкой кишки имеются рецепторы для адгезии преимущественно аэробной флоры, в то же время в толстой кишке преобладают рецепторы для фиксации анаэробных штаммов. В двенадцатиперстной, тощей и начальных отделах подвздошной кишки общее число бактерий составляет  $10^3$ — $10^4$  колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г содержимого. Важно отметить, что в данном биотопе практически отсутствуют облигатно анаэробные бактерии, а также представители семейства энтеробактерий и в первую очередь — кишечная палочка. В тонкой кишке микроорганизмы локализуются преимущественно пристеночно. В дистальных отделах тонкой кишки концентрация микроорганизмов возрастает и составляет  $10^5$ — $10^9$  КОЕ в 1 г кишечного содержимого и к описанным выше обитателям присоединяются облигатно анаэробные бактерии (бактероиды, бифидобактерии и др.). Толстая кишка

является основным местом обитания нормальной кишечной флоры. Общая биомасса микробных клеток толстой кишки составляет около 1,5 кг, что соответствует 10<sup>11</sup>-12 КОЕ/г кишечного содержимого и приблизительно 1/3 сухой массы фекалий. Именно толстая кишка в силу такой высокой микробной контаминации несет самую большую функциональную нагрузку по сравнению с другими биотопами. В данном биотопе обнаруживаются бактериоиды в количестве 10<sup>10</sup>—10<sup>12</sup>, бифидобактерии — в 10<sup>8</sup>—10<sup>10</sup>, энтерококки и клостридии — 10<sup>7</sup>—10<sup>8</sup>, лактобациллы — в 10<sup>6</sup>—10<sup>9</sup>, кишечные палочки — в 10<sup>6</sup>—10<sup>8</sup>, стрептококки и кандиды — в 10<sup>4</sup>—10<sup>5</sup>, стафилококки — в 10<sup>2</sup>—10<sup>4</sup> КОЕ/1 г и ряд других бактерий.

Стабильность состава кишечной микрофлоры у здорового человека поддерживается с участием ряда механизмов. К ведущим факторам хозяина, лимитирующим бактериальный рост в тонкой кишке, относятся соляная кислота и кишечная моторика. На состав кишечной микрофлоры определенное влияние оказывают целостность слизистой оболочки кишечника, секреция слизи, пищеварительных ферментов, иммуноглобулинов, особенно секреторного IgA, объем десквамированного кишечного эпителия, а также компоненты пищи. К факторам бактерий, поддерживающим их нормальный состав в кишке, относятся: конкуренция за использование питательных веществ; изменение внутрипросветного уровня pH, продукция токсичных метаболитов, энзимов, антибиотиков типа «колицинов», утилизация кислорода аэробами. Нормальные кишечные бактерии не проникают во внутреннюю среду организма благодаря существованию барьерной функции слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. Кишечная цитопротекция включает презепителиальный, эпителиальный и постэпителиальный защитный слизистый барьер.

Основными компонентами презепителиального защитного барьера являются: слизь; иммуноглобулины A1 и A2, связанные с гликопротеинами слизи; гликокаликс с его нормальными реологическими параметрами, обеспечивающими резистентность эпителия к бактериальным и химическим агентам и ряд низкомолекулярных кишечных метаболитов, от которых в основном зависит колонизационная резистентность слизистой оболочки в отношении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Эпителиальный (внутренний) защитный барьер включает апикальные клеточные мембраны и тесные межклеточные соединения, блокирующие пассаж в клетку макромолекул и препятствующие их межклеточному проникновению. В состав постэпителиального барьера входит кровоток, обеспечивающий фагоцитоз, гуморальные иммунные реакции и другие механизмы защиты, а также функционирование презепителиального и эпителиального барьеров. Большую защитную роль выполняет кишечная лимфатическая система, включающая внутриэпителиальные Т-лимфоциты, Пейеровы (Peyer) бляшки и собственную пластинку (Lamina propria) слизистой оболочки кишки, а также ряд регуляторных субстанций (простагландины, энкефалины, факторы роста, секретин, сульфидрилы и др.), которые усиливают защитные функции слизистого барьера. Нормальная кишечная микрофлора выполняет ряд важных функций в организме человека. Ведущая роль нормальных кишечных бактерий сводится к защите организма от колонизации условно-патогенными и патогенными бактериями и предупреждению избыточного бактериального роста

в кишке. Кишечная микрофлора синтезирует витамины (В1, В2, В6, К, фолиевую, никотиновую кислоты и др.); способствует активации иммунных реакций, создавая иммунологическую резистентность. Кишечные бактерии участвуют в процессах пищеварения (в первую очередь в гидролизе клетчатки). Компоненты пищи расщепляются широким спектром бактериальных полисахаридаз, гликозидаз, протеаз и пептидаз до олигомеров глюкозы и аминокислот. Последние, в свою очередь, ферментируются до короткоцепочечных жирных кислот, водорода, углекислого газа и других компонентов. Продукты бактериального гидролиза пищи и жизнедеятельности бактерий оказывают различное влияние на функции кишки, главным образом нарушая моторику и всасывание жидкости в просвете кишки. Бактериальная продукция D-лактата может приводить к накоплению в крови D-молочной кислоты, вызывающей развитие состояния, напоминающего алкогольную интоксикацию. Продукты микробного гидролиза белка (аммиак, амины, индол, скатол) усиливают эндогенную интоксикацию. В то же время органические кислоты, всасываясь в толстой кишке, увеличивают энергетический потенциал макроорганизма. Микрофлора разрушает пищеварительные ферменты, различные стеролы и стероиды, деконъюгированные желчные кислоты, андрогены и эстрогены. Учитывая, что три последних вещества участвуют в энтерогепатической циркуляции, разрушение их микрофлорой приводит к уменьшению в крови андрогенов и эстрогенов и повышению уровня холестерина.

Некоторые исследователи предположили, что усиление межклеточной кишечной проницаемости, наблюдаемой у пациентов в критических состояниях, приводит к увеличению случаев транслокации бактерий и токсинов из просвета кишечника в системный кровоток, что приводит к инфекционным осложнениям, таким как сепсис и синдром полиорганной недостаточности (ПОН) [5, 6, 23]. Эту возможность впервые исследовал Ziegler et al. [6], который измерял экскрецию с мочой перорально вводимой смеси лактулозы и маннитола и обнаружил, что кишечная проницаемость у больных с ожогами повышается при наличии инфекции (уровень отношения лактулоза/маннитол =  $0.113 \pm 0.033$  у ожоговых больных с инфекцией против  $0.035 \pm 0.005$  у здоровых людей) [16]. В течение всего периода исследования у неинфицированных ожоговых больных уровень отношения лактулоза/маннитол соответствовал таковому у здоровых лиц ( $0.036 \pm 0.007$ ). Несмотря на оригинальность и важность, это исследование имело некоторые ограничения. Несколько больных ( $n = 15$ ) были обследованы только  $18 \pm 5$  дней (инфицированные ожоговые больные) и  $18 \pm 5$  дней (неинфицированные больные с ожогами) после ожога. Усиление кишечной проницаемости показано у больных в критических состояниях [7, 11, 13, 19, 28], поступающих в отделение интенсивной терапии. Это наблюдается при различных клинических состояниях, например у больных с ожогами [7, 8], у больных, требующих проведения полного парентерального питания [18], у больных с тяжелой политравмой [19], у реципиентов трансплантации костного мозга [24], у алкоголиков с циррозами [26]. Повышение проницаемости кишечной слизистой является триггером таких изменений как окислительный стресс с повышением продукции оксида азота и его производных, продукции цитокинов, снижения внутрислизистого pH и гипоксии. Повышение кишечной

проницаемости прямо связано с наличием ишемии слизистой. В ситуациях возрастания уровня метаболизма при сепсисе, клетки слизистой нуждаются в увеличенном поступлении кислорода. Интересно, что в этих случаях снижение кислорода возможно до величин ниже критических уровней вследствие уменьшения освобождения и поглощения кислорода клетками кишечной слизистой. Концентрация внутриклеточного кислорода, которая неадекватно поддерживает нормальное митохондриальное дыхание, индуцирует анаэробный гликолиз со снижением АТФ и внутриклеточным ацидозом, то есть факторами, предрасполагающими к увеличению проницаемости кишечной слизистой. Повреждение кишечной слизистой, вызванное ишемией, может усугубляться вследствие реперфузии, возможно, путем активации ксантин-оксидазного пути, усиливающего образование соединений реактивного кислорода, таких как анион супероксида. Свободные радикалы, возникающие из кислорода, являются причиной дополнительных нарушений, повреждающих эндотелиальные клетки и активирующих нейтрофилы, которые в свою очередь, продуцируют более активные соединения кислорода. Эти изменения приводят к поражению тканевой микроциркуляции с усилением ишемического поражения кишки и повышению кишечной проницаемости. В клинических наблюдениях и экспериментальных моделях, посвященных увеличению парацеллюлярной проницаемости, мишенью повреждения является межклеточное соединение. Межклеточные соединения и парацеллюлярная эпителиальная проницаемость контролируются физиологически посредством внутриклеточных медиаторов, возможно, путем изменения основного актинового цитоскелетного каркаса. Однако при наличии системного воспаления в ответ на инфузию липополисахарида мышам, было отмечено [7, 27] повышение индуцированной синтетазы оксид азота, вызывающее генерализованную дисфункцию эпителиальных межклеточных соединений в кишечнике, печени и легких. Эффекты цитокинов усиливались под влиянием кислой среды и в присутствии супероксидного радикального аниона, вследствие возрастания превращений оксида азота в продукты с высокой окислительной способностью, таких как пероксинитрит и пероксинитратнатная кислота. Изменения в цитоскелете энтероцитов, связанные с повышенным содержанием и межклеточным проникновением *Proteus mirabilis*, *E. coli*, and *Enterococcus spp.*, были продемонстрированы после экспозиции монослоев Caco-2 кишечных клеток с токсинами *Clostridium difficile*, с этанолом, и с цитохалазином. Более того, на крысах, подвергнутых ожогам показано, что снижение уровней пероксинитрита путем ингибирования индукции синтетазы оксид азота S – метилтиомочевинной, уменьшает транслокацию кишечных бактерий в мезентериальные лимфатические узлы (4 из 8 против 11 из 11), в печень (2 из 10 против. 10 из 11), и в селезенку (0 из 10 против. 6 из 11) [1, 7, 15]. Клиническими наблюдениями установлено, что наличие внутрислизистого ацидоза, токсических производных оксид азота и цитокинов усиливает кишечную проницаемость [21]. Целенаправленная терапия с использованием желудочной тонометрии совместно с вазоактивными препаратами и антиоксидантами может защитить кишечную проницаемость. Инотропные агенты, которые улучшают спланхническую перфузию путем регуляции кровотока и кислорода в соответствии с метаболическими потребностями (в том числе, добутамин) и отсутствие других

агентов, которые перераспределяющих ток крови из кишечной слизистой, могут поддерживать межклеточную кишечную проницаемость и целостность слизистой пациентов с повреждениями [21]. Более того, на монослоях кишечных клеток Сасо-2 показано, что вещества, которые убирают перекиси азота или снижают образование перекисей азота и супероксидных радикалов, устраняют вредные влияния как систем, образующих перекиси, так и этанола [28]. Антиоксиданты, такие как N-ацетилцистеин, образующий глутатион, L-цистеин и глутамин также лимитировали продукцию пероксинитритов и кислот пероксинитратов, влияющих на выработку перекисных радикалов и повышающих кишечную проницаемость [27, 28]. Показано, что у лабораторных животных, подвергнутых кишечной ишемии/реперфузии, внутривенные инфузии несколько охраняют уровни кишечного глутатиона и снижают перекисное окисление липидных мембран [7, 9, 15, 27].

Существуют определенные закономерности транслокации кишечной флоры: во-первых, не все микроорганизмы способны к транслокации. Чаще остальных транслоцируются кишечная палочка, протей и другие энтеробактерии.

Грамположительные аэробы проникают реже, а облигатные анаэробы имеют очень низкую проникающую способность. Во-вторых, имеется прямая зависимость уровня транслокации от концентрации микроорганизмов в кишечнике. Так, по данным R.Berg [3], перемещение микроорганизмов из кишечника в экстраинтестинальные ткани происходит, если их популяция в слепой кишке достигает как минимум  $10^8$ - $10^9$  КОЕ на 1 г. По данным различных авторов [1, 10, 15, 24], транслокация одинаково интенсивна на всем протяжении кишечника. В-третьих, транслокация имеет определенный маршрут. Первичной локализацией бактерий являются мезентериальные лимфоузлы. Из лимфоузлов далее они попадают в печень, затем в селезенку и в кровоток. Причем имеются временные закономерности транслокации, подтвержденные в эксперименте на животных, но не доказанные у человека, тем более у детей. В экспериментах показано [20], что транслокация в мезентериальные лимфоузлы в 1-е сутки определялась у 60%, на 3-й день – у 100%, на 7 сутки у 83% - после трансплантации кишечника у мышей.

Нормальная перистальтика кишечника предотвращает развитие транслокации бактерий. Крайне важным остается вопрос о регуляции транслокации бактерий через кишечную стенку. Считают, что характер транслокации определяют определенные факторы: состояние слизистой кишечника, иммунной системы и индигенной микрофлоры (В.И. Никитенко с соавт., 2001) [2]. Феномен «транслокации» практически не изучен у детей, в том числе у новорожденных с ВПР ЖКТ. Такие пациенты с длительной кишечной непроходимостью, даже частичной, «демонстрируют» классические признаки развития синдрома системного воспалительного ответа, и без «явного» гнойного очага инфекции. Длительное парентеральное питание в послеоперационном периоде также может приводить к развитию транслокации, ССВО и сепсиса. Некоторые авторы приравнивают кишечник в условиях тяжелой травмы, эндотоксемии, кровотечения к «недренированному абсцессу». Хотя по данным различных источников [2, 30], высеваемость микроорганизмов из крови (положительный тест гемокультуры) – не более 40%, а расхождение клинического и патологоанатомического диагнозов у недоношенных может достигать 60%.

Таким образом, транслокацию кишечной микрофлоры можно назвать «мотором» полиорганной недостаточности [19]. Дальнейшее изучение этой проблемы позволит улучшить результаты лечения пациентов в критическом состоянии и в том числе новорожденных с пороками развития желудочно-кишечного тракта.

#### Литература

1. Никитенко, Н. И. Роль транслокации бактерий в патогенезе хирургической инфекции / Н. И. Никитенко, В.В. Захаров, А.В. Бородин // Хирургия. 2001, 2: 63–66.
2. Никитенко, Н. И. Взаимоотношения макроорганизма и бактерий в ране и тканях человека и животных / Н. И. Никитенко // Хирургия. 1990, 9: 94–98.
3. Berg, R. D. Bacterial translocation from the intestine / R. D. Berg // Jikken Dobutsu. 1985. 34:1: 1–16.
4. Swank, G. M. Role of the gut in multiple organ failure / G. M. Swank, E. A. Deitch // World J Surg. 1996. 20:411–417.
5. Rombeau, J. L. Summary of round table conference: Gut dysfunction in critical illness / J. L. Rombeau, J. Takala // Intensive Care Med. 1997. 23: 476–479.
6. Ziegler, T. R. Increased intestinal permeability associated with infection in burn patients / T. R. Ziegler [et al.] // Arch Surg. 1988. 123:1313–1319.
7. Bjarnason, I. Intestinal permeability: An overview / I. Bjarnason, A. Macpherson, D. Hollander // Gastroenterology. 1995. 108:1566–1581.
8. Deitch, E. A. Intestinal permeability is increased in burn patients shortly after injury / E. A. Deitch // Surgery. 1990. 107:411–416.
9. Le Voyer, T. Alterations in intestinal permeability after thermal injury / T. Le Voyer [et al.] // Arch Surg. 1992. 127:26–30.
10. Faries, P. L. Intestinal permeability correlates with severity of injury in trauma patients / P. L. Faries [et al.] // J Trauma. 1998. 44:1031–1036.
11. Doig, C. J. Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients / C. J. Doig [et al.] // Am J Respir Crit Care Med. 1998. 158:444–451.
12. Marshall, J. C. Multiple organ dysfunction score: A reliable descriptor of a complex clinical outcome / J. C. Marshall [et al.] // Crit Care Med. 1995. 23:1638–1652.
13. Harris, C. E. Intestinal permeability in the critically ill / C. E. Harris [et al.] // Intensive Care Med. 1992. 18:38–41 F, et al: Am J Gastroenterol. 1999. 94:200–207.
14. Deitch, E. A. Effect of hemorrhagic shock on bacterial translocation, intestinal morphology, and intestinal permeability in conventional and antibiotic-lack of correlation between failure of gut barrier function and septic complications after major upper gastrointestinal surgery / E. A. Deitch [et al.] // Ann Surg. 2000. 231:88–95.
15. Menzies, I. S. Geography of intestinal permeability and absorption / I. S. Menzies [et al.] // Gut. 1999. 44:483–489.
16. Shippee, R. L. Simultaneous determination of lactulose and mannitol in urine of burn patients by gas-liquid chromatography / R. L. Shippee [et al.] // Clin. Chem. 1992. 38:343–345.
17. Goris, J. A. Multiple organ failure. Generalized autodestructive inflammation / J. A. Goris [et al.] // Ann. Surg. 1985. 120:1109–1115.
18. Lipman, T. O. Bacterial translocation and enteral nutrition in humans: An outsider looks in / T. O. Lipman // J Parenter Enteral Nutr. 1995. 19: 156–165.

19. Moore, F. A. The role of the gastrointestinal tract in postinjury multiple organ failure / F. A. Moore // *Am J Surg*. 1999. 178:449–453.
20. Deitch, E. A. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: What is important in human beings / E. A. Deitch // *Surgery*. 2002. 131:241–244.
21. Riddington, D. W. Intestinal permeability, gastric intramucosal pH, and systemic endotoxemia in patients undergoing cardiopulmonary bypass / D. W. Riddington [et al.] // *JAMA*. 1996. 275:1007–1012.
22. Rush, B. F. Endotoxemia and bacteremia during hemorrhagic shock / B. F. Rush [et al.] // *Ann Surg*. 1988. 207:549–554.
23. Deitch, E. A. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man / E. A. Deitch // *Arch Surg*. 1989. 124:699–701.
24. Cicalese, L. Bacterial translocation in clinical intestinal transplantation / L. Cicalese [et al.] // *Transplantation Proc*. 2000. 32: 1210.
25. Welsh, F. K. S. Gut barrier function in malnourished patients / F. K. S. Welsh [et al.] // *Gut*. 1998. 42:396–401.
26. Keshavarzian, A. [et al.]. Leaky gut in alcoholic cirrhosis: A possible mechanism for alcohol-induced liver damage.
27. Wang, Z. T. Risk factors of development of gut-derived bacterial translocation in thermally injured rats / Z. T. Wang, Y. M. Yao, G. X. Xiao // *World J Gastroenterol*. 2004. 10(11): 1619–1624.
28. De-Souza, Daurea A. Intestinal permeability and systemic infections in the critical care patients. Effects of glutamine / Daurea A. De-Souza, Lewis J. Greene // *Critical Care Med* 2005 Vol. 33, № 5.
29. O'Boyle, C. J. Microbiology of bacterial translocation in human / O'Boyle CJ [et al.] // *Gut*. 1998. 42:29–35.
30. Marin H. Kollef. Epidemiology and risk factors for nosocomial pneumonia / Marin H. Kollef // *Clinics in Chest Medicine*. 1999. 120:3:653–670.