

ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

**Под редакцией
В.П. Венцела**



Prevention and Control of Nosocomial Infections

Edited by
Richard P. Wenzel, M.D.

Professor of Medicine and Preventive Medicine
Director, Division of Clinical Epidemiology
Department of Internal Medicine
Director, Hospital Epidemiology Program
University of Iowa Hospitals and Clinics
Iowa City, Iowa



WILLIAMS & WILKINS

Baltimore • London • Los Angeles • Sydney

Внутрибольничные инфекции

Под редакцией
Р. П. Венцела

*Перевод с английского
проф. Б. А. Годованного*



Москва Медицина 1990

ББК 55.1

В60

УДК 616.9-0.22.369

*Издание рекомендовано для перевода
акад. АМН СССР В. И. Покровским,
президентом АМН СССР,
директором ЦНИИЭ МЗ СССР*

Внутрибольничные инфекции: Пер. с англ./Под ред.
В 60 Р. П. Венцела. — М.: Медицина, 1990. — 656 с.: ил.

ISBN 5-225-00496-2

ISBN 0-683-08923-4

Монография посвящена одной из наиболее серьезных проблем здравоохранения — внутрибольничным (нозокомиальным) инфекциям. Рассматриваются этиологические факторы этих инфекций, механизмы их распространения и ущерб, наносимый бюджету здравоохранения. Специальные главы посвящены возникновению вспышек внутрибольничных инфекций в терапевтических, хирургических, глазных отделениях, в домах-интернатах для престарелых и инвалидов и т. п. Особое внимание уделяется внутрибольничным инфекциям в родильных домах и педиатрических отделениях. Подробно рассматриваются методы борьбы с внутрибольничными инфекциями в больницах разного профиля.

Для эпидемиологов, инфекционистов, хирургов, терапевтов, педиатров.

В 4108060000—249—127—90
039(01)—90

ББК 55.1

ISBN 5-225-00496-2

ISBN 0-683-08923-4

© 1987 Williams & Wilkins
© Перевод на русский язык.
Издательство «Медицина»
Москва, 1990

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВИЭФ— встречный иммуноэлектрофорез
ДС— дифтерийно-столбнячный анатоксин
ИМП— инфекция мочевыводящих путей
ИФ— иммунофлюоресценция
ИФА— иммуноферментный анализ
КОЕ— колониобразующая единица
КУБ— кислотоустойчивые бактерии
МБК— минимальная бактерицидная концентрация
МВП— мочевыводящие пути
ПОЗВП— программа охраны здоровья больничного персонала
ПМК— псевдомембранозный колит
РСВ— респираторный синцитиальный вирус
СПИД— синдром приобретенного иммунодефицита
ЦББ— Центры по борьбе с болезнями
ЦМВ— цитомегаловирус
LT— термолабильный энтеротоксин
MMR— вакцина против кори, эпидемического паротита и краснухи
MRSA— метициллин-резистентный штамм
NANB— гепатит ни А ни В
NNIS— Национальное изучение проблемы внутрибольничных инфекций
ST— термостабильный энтеротоксин
PPD— очищенный белковый дериват туберкулина

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БОРЬБЫ
С ИНФЕКЦИЯМИ**

П. А. Ристуцциа, Б. А. Куна (P. A. Ristuccia, B. A. Cunha)

САНЭПИДНАДЗОР**Внутрибольничный санэпиднадзор**

Состояние внутрибольничной среды в значительной мере определяет вероятность развития внутрибольничных инфекций. Однако регулярные микробиологические исследования проб, взятых с предметов в больнице, согласно имеющимся данным, мало что дают с точки зрения предупреждения внутрибольничных инфекций и являются напрасной тратой средств и времени [1]. Поэтому, за некоторыми исключениями, бактериологический контроль предметов больничной среды целесообразно производить только во время вспышки инфекции [2, 3]. Обязательному рутинному контролю должны подвергаться не только паровые, газовые и сухожаровые стерилизаторы, но и вода, используемая для приготовления жидкостей для диализа [4].

Стерилизаторы

Для обеспечения адекватного процесса стерилизации большое значение имеет надлежащая работа отделения стерилизации. Правильная загрузка стерилизаторов любого типа является одним из наиболее важных условий эффективного функционирования этого оборудования. Для проверки эффективности процесса стерилизации применяют соответствующие качественные методы, в том числе физические, химические и биологические индикаторы, различные виды контроля процесса стерилизации, как такового, а также ежедневные функциональные тесты с полосками ткани (в автоклавах). Все паровые и сухожаровые стерилизаторы должны быть оборудованы регистрирующими термометрами, часовыми механизмами и манометрами, регулируемыми эти параметры в процессе стерилизации каждой загрузки. Физические индикаторы, например полоска ткани или бумаги, прикрепленная к наружной стороне каждой упаковки, помещаемой в автоклав, покажут, подвергалась ли эта упаковка полноценному про-

цессу стерилизации. Химические индикаторы, такие как цветные полоски, плавящиеся палочки или таблетки, помещают в центр каждой загружаемой партии предметов, чтобы удостовериться в проникновении пара в данный участок. При работе с вакуумными автоклавами ежедневно во время первого цикла стерилизации ставят пробу с целью проверки полноты удаления воздуха из автоклава, равномерности распределения пара и отсутствия обратного попадания воздуха в камеру (эта проба раньше обозначалась как тест Bowie — Dick) [5, 6].

Однако ни один из вышеупомянутых методов контроля не дает абсолютных указаний на то, что осуществился процесс стерилизации. Наиболее надежной пробой на полноту стерилизации является сочетание применения перечисленных индикаторов с биологическим тестом прорастания спор. В настоящее время в США в продаже имеются для проверки действительного осуществления процесса стерилизации различные готовые наборы со спорообразующими тест-культурами, а именно: а) споры в герметически запаянных стеклянных ампулах с питательной средой; б) пластмассовые ампулы с двумя ячейками, в одной из которых содержатся споры, а в другой — питательная среда и в) бумажные полоски, импрегнированные спорами [7]. В целях подтверждения процесса стерилизации при использовании паровых автоклавов необходимо не менее одного раза в неделю ставить тесты со спорами *Bacillus stearothermophilus*. Производительность стерилизаторов, основанных на действии окиси этилена, следует проверять не менее одного раза в неделю с использованием спор *B. subtilis* var. *niger* (*globigii*). Биологические индикаторы следует вкладывать в каждую загружаемую упаковку, стерилизуемую с помощью вышеперечисленных методов, с тем, чтобы убедиться в высоком качестве дезинфекции данной партии предметов [4, 7]. Сухожаровые стерилизаторы подлежат проверке со спорами *B. subtilis* var. *niger* (*globigii*) не реже одного раза в месяц. Все индикаторы должны применяться и обрабатываться в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя. Строгий контроль за качеством всех питательных сред, используемых в микробиологических лабораториях, чрезвычайно важен для обеспечения надежности результатов тестов, проводимых со спорообразующими культурами. В одной из работ удалось установить, что неудовлетворительное качество стерилизации было обусловлено непредполагаемой неисправностью автоклава, а загрязнением расщепленного триптиказой соевого бульона, применявшегося для бактериологического исследования полосок, импрегнированных спорами [8]. Контаминирующая культура, идентифицированная как *Bacillus coagulans*, была обнаружена, когда бульон инкубировали

при 55°C (что привело к неправильной интерпретации теста с культурой спорообразующих бактерий). Данный микроорганизм оставался невыявленным, когда инокулированный бульон инкубировали при 37°C в качестве одного из способов контроля его качества. Согласно рекомендациям Центров по борьбе с болезнями (ЦББ), контрольные тесты на стерильность питательных сред должны проводиться при той же температуре, при которой во время основного опыта инкубируется инокулированная среда с внесенным в нее тест-штаммом.

Жидкость для гемодиализа

Лица, которым проводится гемодиализ, подвергаются высокому риску заражения грамотрицательными бактериями, обитающими в воде. Хотя вода, используемая для приготовления диализной жидкости, так же как и сама жидкость, необязательно должны быть стерильными, следует иметь в виду, что указанные бактерии сравнительно быстро размножаются, что может привести к серьезным последствиям. Поэтому рекомендуется производить не реже одного раза в месяц анализ данных жидкостей с целью количественного определения в них жизнеспособных микроорганизмов [4]. При этом можно пользоваться специально выпускаемыми в США и поступающими в продажу пробоотборниками для подсчета колоний (Total-Count, Coli-Count Samplers; Millipore Corporation, Bedford, MA). Количество бактерий в 1 мл воды, используемой для приготовления диализной жидкости, не должно превышать 200 колоний/мл. Пробы диализной жидкости следует отбирать в конце процесса диализа; они должны содержать не более 2000 колоний/мл среды [9]. Если фактическое количество бактерий превышает эти показатели, следует принять соответствующие меры для коррекции.

Значение микроорганизмов в больнице

Персонал микробиологической лаборатории обычно испытывает трудности при решении вопроса о «микробиологическом профиле» больницы. Дело в том, что значение микробиологических факторов определяется клиническими условиями, которые лабораторным работникам неизвестны. К указанным условиям относятся, например, очаг (материал), из которого был выделен микроб, частота его выделения, чувствительность к лекарственным препаратам и т. п. В лаборатории обычно выделяют бактериальные культуры из образцов биологических жидкостей организма или из проб, взятых с различных участков тела. На основании этих данных можно делать выводы о количестве тех или иных микробов при конкретных инфекционных процессах и об их реакции на лекар-

ственные препараты. Роль лаборатории заключается в том, чтобы обеспечить точную идентификацию выделенных микробов и представить службам борьбы с инфекциями соответствующие статистические данные. Правильный отбор и качественная обработка проб чрезвычайно важны для получения значимой информации, основанной на результатах лабораторных исследований. Точные лабораторные данные представляют собой основу информатики, требующейся для выявления изменений в частоте выделения или в распространении возбудителей внутрибольничных инфекций, и необходимы при изучении внутрибольничных вспышек. Основная дилемма, стоящая перед лабораторией, заключается в решении вопроса о том, как быстро и насколько детально следует анализировать различные клинические образцы. Например, уточнение видов множественных микроорганизмов, выделенных с поверхности неосложненных открытых ран, не имеет никакой микробиологической и клинической ценности и не помогает в борьбе с инфекциями. В отличие от этого очень большое значение может иметь подробная характеристика микробов, содержащихся в небольших количествах ($<10^5$ в 1 мл) в моче больного, подвергающегося катетеризации и принимающего антибиотики. Сотрудники микробиологической лаборатории должны представлять себе потенциальное значение возбудителей внутрибольничных инфекций и поэтому уделять особое внимание их точной идентификации, частоте встречаемости и чувствительности к лекарственным средствам [10—16]. При изучении внутрибольничной вспышки, ее характера и масштабов трудно переоценить важность работы микробиологической лаборатории, которая в таких ситуациях нередко перегружена множеством проб, взятых у больных, медицинских работников и из источников внешней среды. Бригаде по борьбе с инфекцией следует координировать отбор образцов с тем, чтобы достичь минимальной загрузки микробиологической лаборатории и обеспечить анализ образцов из тех источников, которые с наибольшей вероятностью связаны с этиологическим фактором вспышки. Данные, полученные микробиологической лабораторией, особенно важны в том смысле, что они дают первичную информацию, позволяющую отличить псевдоинфекцию или ложную вспышку от истинной инфекции или вспышки. И, наконец, на основании этих данных работники, осуществляющие борьбу с инфекцией, могут определить, какое значение имеет тот или иной микроб как возбудитель внутрибольничной инфекции для конкретного больного и лечебного учреждения [12, 16].

Большинство грамотрицательных микроорганизмов в больницах обитает в жидких средах. К подобным источникам грамотрицательных бактерий обычно относятся жидкость, скап-

Таблица 12. Резервуары возбудителей внутрибольничных инфекций*

Микроорганизм	Резервуар во внешней среде	Резервуар в организме человека	Тип инфекции
Klebsiella	Оборудование для искусственного дыхания	Глотка, кал, моча	Дыхательных путей, раневая, МВП, бактериемия, диарея
Enterobacter	Жидкости для внутривенного введения, вода	Руки, кал, моча	МВП, пневмония, бактериемия
Serratia	Оборудование для искусственного дыхания	Руки, моча	МВП, бактериемия, пневмония, раневая инфекция
P. aeruginosa	Вода, дезинфицирующие растворы, оборудование для искусственного дыхания	Руки, глотка, кал, моча	МВП, раневые инфекции, пневмония
P. cepacia	Резервуары для воды, загрязненное оборудование	Руки	Раневая инфекция, бактериемия, МВП
P. maltophilia	Вода	Руки	Менингит, септицемия, раневые инфекции
Proteus/Morganella/ Providencia	Вода	Руки, моча	Бактериемия, МВП, раневые инфекции
Flavobacterium	Вода, жидкости для внутривенного введения	Руки	Септицемия, менингит
Citrobacter	Вода	Руки	Бактериемия, менингит, МВП, раневые инфекции
Acinetobacter	Оборудование для искусственного дыхания	Руки	Пневмония, бактериемия, раневые инфекции
Staphylococcus aureus/ S. epidermidis/ /MRSA	Нет	Руки, ноздри	Бактериемия, раневые инфекции, зараженные устройства
Дифтероиды JK C. difficile	Нет	Руки	Бактериемия, зараженные устройства
Legionella	Поверхности, находящиеся вблизи зараженных больных и служебных помещений	Руки, кал	Диарея, колит
Атипичные микобактерии	Водяные системы кондиционирования воздуха	Секреты дыхательных путей	Пневмония, раневые инфекции
	Водопроводная вода, загрязненные respirаторы	Секреты дыхательных путей	Раневые инфекции

* МВП — мочевыводящие пути; MRSA — метциллин-резистентные штаммы *S. aureus*.

ливающаяся в аппаратах для искусственного дыхания, жидкости для орошения и внутривенного введения, а также дезинфицирующие растворы. Некоторые микробы, например атипичные микобактерии, обитают в водопроводной воде. Общеизвестен факт нахождения *Legionella* в водяных системах кондиционирования воздуха. *Clostridium difficile* — своеобразный вид микробов, способный сохранять жизнеспособность в виде спор на полу или на окружающих предметах в течение нескольких месяцев. Некоторые микроорганизмы, например стафилококки или дифтероиды ЖК, не имеют источников во внешней среде. При изучении человека как источника бактерий становится очевидным, что руки (точнее, кисти рук) — важный фактор передачи практически всех возбудителей внутрибольничных инфекций. Поэтому мытье рук имеет большое значение для предотвращения передачи инфекции от человека к человеку. В зависимости от природы микроорганизма у стационарных больных он может находиться в секретах дыхательных путей, фекалиях и моче (табл. 12). Подобная информация обеспечивает лабораторный персонал схемой для определения роли выделенных им штаммов в инфицировании конкретного больного [16—20]. Передача определенных микроорганизмов от человека к человеку в больничных условиях обычно легко устанавливается с помощью эпидемиологических исследований. Однако для определенного вида микробов, имеющих убиквитарный характер или требующих особых условий культивирования, выявление такого пути передачи связано с большими трудностями. К таким микроорганизмам относятся: *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia psittaci*, *Pneumocystis carinii*, *Clostridium difficile*, *Cryptosporidium*. Их обычно не включают в статистические материалы по микробиологическим исследованиям или по борьбе с инфекциями, но об их роли в распространении инфекции от человека к человеку следует обязательно знать [18].

АНТИБИОГРАММЫ

Испытание чувствительности к антибиотикам

Испытание чувствительности микробов к антибиотикам — один из наиболее важных видов работы, выполняемой микробиологическими лабораториями. Цель этих исследований — корреляция чувствительности микробов-возбудителей *in vitro* с фармакокинетическими свойствами противомикробных препаратов. При выборе антимикробных средств для лечения того или иного заболевания следует учитывать данные о чувствительности возбудителя к антибиотикам *in vitro*, фармакокине-

тические свойства антибиотиков (включая всасывание, распределение, метаболизм, выделение, связывание протеинами, проникание в ткани и токсичность), динамику развития и патологию инфекционного процесса, иммунный статус больного. Если испытание чувствительности *in vitro* проведено достаточно тщательно и при этом правильно интерпретированы полученные результаты, то последние будут служить ценным ориентиром для прогнозирования соответствующей оптимальной реакции *in vivo*. Тесты по определению чувствительности выделенных штаммов к противомикробным препаратам могут быть также использованы в качестве средств для получения точных и воспроизводимых эпидемиологических маркеров, позволяющих выяснить этиологическую роль выявляемых в больницах микробов и контролировать изменения, происходящие в их популяциях.

Вплоть до недавнего времени наиболее распространенным тестом испытаний микробов на чувствительность к антимикробным препаратам был метод диффузионных дисков по Kirby — Bauer [21]. Данный метод, предложенный в 1966 г., включает ряд этапов. Вначале по поверхности агара Muller-Hinton в чашке Петри распределяют культуру испытуемых микробов в стандартной концентрации, а затем накладывают бумажные диски, импрегнированные антибиотиками в известных концентрациях. После этого чашки Петри инкубируют в определенных условиях в течение 16—18 ч, и затем измеряют зоны задержки роста бактерий вокруг дисков. В соответствии с величиной (в миллиметрах) зон задержки, стандартизованных для каждого конкретного вида микробов, испытуемые культуры могут быть отнесены к категории «чувствительных», «промежуточных» или «устойчивых» (резистентных) [21—23]. «Критические» размеры зон задержки могут соответствовать достигаемым в клинических условиях концентрациям антибиотиков в сыворотке крови.

Достоверность результатов, получаемых при использовании метода диффузионных дисков, обеспечивается обязательным соблюдением ряда технических условий проведения тестов. К этим условиям относятся плотность инокулята, ионная сила, рН и толщина слоя агара, скорость диффузии антибиотиков в слое агара, скорость роста испытуемых микробов, а также температура и длительность инкубации. Разработаны стандартные процессы, позволяющие свести к минимуму влияние перечисленных факторов на результаты тестов. Если эти процессы проводятся под надлежащим контролем, то обеспечивается воспроизводимость результатов, получаемых в ходе клинических и эпидемиологических исследований.

Наиболее важный переменный фактор, влияющий на результат теста антибиотикочувствительности, — величина ино-

кулята. При заниженной посевной дозе (инокулят) микробы, обладающие способностью производить ферменты, инактивирующие антибиотики (например, β -лактамазами) недостаточно активно воздействуют на диффундирующий антибиотик, вследствие чего появляются широкие зоны задержки роста, а следовательно, возникает картина ложной чувствительности. В то же время при завышенном инокуляте понижается величина соотношения критического уровня диффузии препарата к массе клеток, в связи с чем появляются очень малые зоны ингибирования и возникает картина ложной устойчивости [24].

Согласно имеющимся данным, температура также играет важную роль в получении достоверных данных. Колебания температуры влияют как на активность антибиотиков, так и на скорость роста различных микроорганизмов [25—27]. Показано, что от этих колебаний в существенной степени зависит обнаружение устойчивости к метициллину у штаммов *S. aureus* [28—29]. Устойчивые штаммы медленнее растут при 37°C, и, следовательно, их выделение требует более продолжительной инкубации (≥ 48 ч). Для выделения метициллин-резистентных *S. aureus* (MRSA) ранее рекомендовали температуру 30°C, при которой микробы растут быстрее; в настоящее время для этих целей используют стандартную температуру 35°C, однако предложено увеличить период инкубации (≥ 24 ч вместо 16—18 ч).

На основании результатов сравнительного изучения пригодности сред для проведения тестов на чувствительность микробов к антибиотикам было рекомендовано использовать для этих целей только среду Mueller-Hinton. Данная среда была выбрана потому, что она обладает питательными свойствами, достаточными для поддержания роста большинства микроорганизмов; это — изотоническая среда, и при добавлении крови в ней создаются условия для развития труднорастающих микробов. Кроме того, эта среда обладает буферными свойствами, достаточными для предупреждения сдвигов pH, связанных с бактериальным ростом и способных влиять на активность различных антибиотиков.

Одной из основных проблем, касающихся среды Mueller-Hinton, является расхождение данных о чувствительности микробов к антибиотику, обусловленное тем, что в разных сериях, выпущенных одной фирмой или различными фирмами-изготовителями содержатся неодинаковые концентрации двухвалентных катионов — кальция и магния. Во многих публикациях сообщается о влиянии этих свободных катионов на активность полимиксинов, аминогликозидов и тетрациклинов в отношении *Pseudomonas* sp. [30—33]. Кальций и магний, инкорпорируясь в клеточную стенку *Pseudomonas*, делают ее менее проницаемой, более устойчивой к аминогликозидам.

Таким образом, по мере увеличения концентрации катионов в тест-среде снижается активность антибиотиков. Иной механизм «резистентности» действует в отношении тетрациклинов и полимиксинов: в этих случаях антибиотик инактивируется образованием хелатокомплекса с кальцием или магнием. Рекомендуется в среду Mueller-Hinton вносить добавки с таким расчетом, чтобы данная среда постоянно содержала приблизительно 50 мг/л кальция и 25 мг/л магния; в этих условиях будут обеспечены достоверность и воспроизводимость результатов тестов на чувствительность микробов к антибиотикам [34]. Если данные требования к составу среды не будут выдерживаться, то соответствующие изменения результатов могут иметь серьезные последствия с точки зрения клиники и эпидемиологии. Следовательно, чрезвычайно важно обеспечить соответствующий ежедневный контроль качества применяемой среды. Он включает применение штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Хотя метод стандартных диффузных дисков получил признание и применяется во многих лабораториях, его серьезным недостатком является то, что с его помощью можно получить только качественные характеристики. Согласно имеющимся сообщениям [35, 36], в последнее время наблюдается тенденция к разработке и использованию методов разведения для определения чувствительности микробов к антибиотику. Эти количественные методы, основанные на использовании агаровых или бульонных сред, позволяют определить минимальные концентрации противобактериальных препаратов, требующиеся для подавления или уничтожения того или иного вида микробов. Каждый такой метод основан на серийных разведениях антибиотика в тест-среде с последующей инокуляцией стандартной дозой тест-микроба. После суточной инкубации в контролируемых условиях минимальное разведение антибиотика, подавляющее рост микроорганизма, считают минимальной подавляющей концентрацией (МПК), которая может коррелировать с концентрациями противобактериальных агентов в любой биологической жидкости организма.

Получение количественных, а не качественных данных может оказать большую помощь эпидемиологу при определении роли того или иного микроорганизма как этиологического фактора обследуемой вспышки инфекции. При использовании метода дисков несколько выделенных штаммов могут оказаться резистентными к одному и тому же антибиотику, и в этом случае их можно ошибочно принять за один вид, хотя фактически видов будет несколько. Существует еще один недостаток метода дисков, заключающийся в том, что зоны задержки роста менее 6 мм не выявляются. Поэтому микробы

с умеренной резистентностью к антибиотикам не удается отличить от микробов с более высоким уровнем резистентности, вследствие чего эпидемиолог может сделать неправильные выводы о различиях между микроорганизмами [37].

Достоинством метода разведений в агаре является низкая стоимость испытаний большого числа штаммов. Однако он имеет недостаток (в отличие от метода разведений в бульоне), заключающийся в невозможности выявления минимальных бактерицидных концентраций (МБК) антибиотиков. При проведении тестов с разведениями в бульоне жидкость в пробирках с задержкой роста может быть подвергнута дополнительному культивированию в средах, не содержащих антибиотиков, что позволит определить МБК. Этот показатель имеет большое клиническое значение, особенно в случаях эндокардита, когда патологический процесс может быть связан с «толерантными» штаммами *S. aureus*.

В течение последних нескольких лет методы разведений в бульоне были модифицированы таким образом, что на их основе были созданы микрометоды (тесты микроразведений). Микрометоды основаны на том же принципе, что и макрометоды, однако конечный объем бульона в пробирке при этом в 10 раз меньше, чем при традиционном методе. В настоящее время для проведения тестов микроразведений выпускаются многочисленные коммерческие наборы, состоящие из высушенных стабилизированных разведений антибиотиков, которые разбавляются суспензией тест-микроба. Данные наборы могут храниться в обычных условиях, вследствие чего исключается необходимость в приготовлении растворов среды или антибиотиков в лабораторных условиях.

Одно из преимуществ макро- и микрометодов состоит в том, что они легко включаются в автоматизированные системы, такие как: Autobac 1, MTS, IDX systems (General Diagnostics, Morris Plains, NJ), MS-2, Advantage Systems Abbott Laboratories, Irving, TX), Vitek AMS system (Vitek Systems, Inc., St. Louis, MO). К методам микроразведений относятся системы Sensititre (Gibco Diagnostics, Lawrence, MA), Spector (Becton Dickinson, Cockeysville, MD), Micro-Media (Micro-Media Systems, Potomac, MD), API UniScept (Analytab Products Inc., Plainview, NY). Многие из этих систем полностью автоматизированы и позволяют получать результаты количественного или полуколичественного характера. При использовании Autobac, MS-2 и AMS чувствительность микробов может быть определена через 3—10 ч, при использовании систем микроразведений — через 15—20 ч от начала постановки теста.

Хотя эти методы уже широко применяют в микробиологических лабораториях и показано, что они хорошо коррели-

руют с другими методами [38—41], тем не менее возникает ряд проблем, осложняющих применение данных тестов (как и вообще всех методов определения чувствительности микробов к антибиотикам). К числу таких проблем относятся испытания *Enterobacter/Serratia* sp., обладающих индуцируемыми β -лактамазами, частое появление ложноположительных результатов при испытании чувствительности к антибиотикам *P. aeruginosa/enterococci* и определение чувствительности к метициллину у штаммов *S. aureus*. Эти проблемы могут оказывать существенное влияние на результаты обследования больных, зараженных или подвергшихся только колонизации указанными микробами, а также на результаты эпидемиологических исследований, связанных с данными видами микроорганизмов.

Сложной проблемой, относящейся ко всем методам микроразведений, является то, что для восстановления (регидратации) антимикробных разведений приходится пользоваться весьма малыми объемами жидкости. Эта проблема становится наиболее очевидной при испытании на чувствительность *S. aureus* к пенициллину и метициллину у *Enterobacter* и *Serratia* sp. — к цефамандолу (табл. 13). Хотя исходная плотность инокулята устанавливается приблизительно 10^5 колониобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл, следует учитывать, что конечный объем каждого разведения равен только 0,1 мл, и поэтому фактическая плотность инокулята снижается по меньшей мере на один логарифм (log). Процент резистентных клеток в пределах одной конкретной популяции может быть

Т а б л и ц а 13. Комбинации «микроорганизм — антибиотик», дающие недостоверные результаты при испытании чувствительности методами разведений в бульоне [38, 40, 42—46, 49, 50].

Микроорганизм	Антибиотик
<i>Staphylococcus</i> sp.	Эритромицин Пенициллин G Метициллин
<i>Enterobacter</i> sp.	Ампициллин Цефалотин Цефамандол
<i>Serratia</i> sp.	Аминогликозиды Полимиксины
<i>P. aeruginosa</i>	Аминогликозиды Моксалактам Цефоперазон Цефтизоксим Цефотаксим

чрезвычайно низким; сходным же образом частота мутаций составляет приблизительно 10^{-5} . Следовательно, для того, чтобы можно было обнаружить появляющиеся резистентные штаммы, бактериальный инокулят должен содержать $\geq 10^5$ КОЕ/мл. Результаты проводимых в настоящее время исследований указывают на то, что недооценка резистентности [38, 42—46] характерна по существу для большинства новых методов разведений. Для предупреждения этой ошибки следует применять инокуляты более высокой плотности. Однако при этом может возникнуть проблема ложной резистентности [47]. Проблема недооценки резистентности испытуемых штаммов возникает также при использовании автоматизированных тест-систем, но не из-за микрообъемов тестов, а вследствие того, что время проведения теста недостаточно для проявления резистентности [36].

Сама по себе природа автоматизированных тестов определения чувствительности микробов к антибиотикам на основе разведений антибиотиков обуславливает сложность выявления устойчивости у некоторых видов микроорганизмов, а также вариабельность получаемых результатов. Большинство автоматизированных систем основано на учете роста (или гибели) бактериальных клеток в присутствии антибиотика по сравнению с контрольными пробирками, содержащими только бактериальные клетки. Очевидно, что в этих условиях достаточно трудно с помощью прибора дифференцировать погибающие клетки от небольшого числа реплицирующихся (резистентных) в пределах концентрированного тест-объема.

К числу других факторов, влияющих на воспроизводимость результатов, получаемых при использовании автоматизированных систем, относится действие, оказываемое субингибиторными концентрациями на морфологию и ультраструктуру бактериальных клеток [43, 48]. Воздействие на микроорганизмы концентраций антибиотиков, не достигающих уровней МПК, приводит к удлинению и набуханию бактериальных клеток, что в свою очередь может отразиться на рассеивании света и турбидиметрических показаниях приборов. Эти ошибочные показания могут привести к получению неправильной информации о чувствительности различных микроорганизмов, а также к нарушению способности указанных автоматизированных систем давать воспроизводимые результаты при определенных условиях.

Результаты тестов чувствительности микробов к антибиотикам позволяют специалистам по борьбе с инфекциями отличить потенциальных возбудителей инфекций от других микроорганизмов, обитающих в окружающей среде. Поэтому важно, чтобы методы, используемые микробиологическими лабораториями для определения чувствительности микробов, были

точными и воспроизводимыми. Все перечисленные выше методы определения чувствительности микробов к антибиотикам имеют как достоинства, так и недостатки. Если тот или иной метод выбран обоснованно и применяется правильно, то с его помощью можно составить антибиограммы, позволяющие клиницисту назначить эффективное лечение. Эпидемиолог получает при этом надежное средство для выявления потенциальных внутрибольничных инфекций и борьбы с ними.

Идентификация штаммов

Для эпидемиолога, исследующего внутрибольничную вспышку, весьма важен вопрос, является ли тот или иной штамм бактерий единственным этиологическим фактором групповых инфекций среди стационарных больных. Главную роль в решении этого вопроса играет микробиологическая лаборатория. Исходя из того, что внутрибольничные инфекции чаще всего вызываются метициллин-резистентными *S. aureus*, а также грамотрицательными бактериями (преимущественно Enterobacteriaceae и Pseudomonadaceae), каждая микробиологическая лаборатория должна иметь набор средств для выделения, а также для точной и обоснованной идентификации (по меньшей мере до видового уровня) соответствующих возбудителей. Однако определение вида не должно быть единственным способом идентификации сходства между различными выделенными штаммами. Для более целенаправленного и детального выявления эпидемиологических маркеров требуются различные дополнительные методы, такие как определение чувствительности штаммов к антибиотикам, серологическое типирование, бактериофаго- или бактериоцинотипирование, ДНК-гибридизация и анализ плазмид, а также биохимическая характеристика выделенного штамма (биотип) (табл. 14). После сопоставления анализа всех данных можно определить истинный характер внутрибольничной вспышки и принять меры по ее ликвидации.

Биохимический профиль (биотип) того или иного конкретного штамма может быть ценной информацией, полезной для идентификации и дифференцирования грамотрицательных бактерий, выделяемых в микробиологической лаборатории. В настоящее время в большинстве больниц для идентификации указанных микробов пользуются коммерчески выпускаемыми тест-наборами (такими как API-20E, Analytab Products, Inc., Plainview, NY) или автоматизированными системами (например, Advantage Systems, Abbott, Diagnostics, Irving, TX). В этих системах применяются лиофилизированные биохимические субстраты, которые восстанавливаются стандартным бактериальным инокулятом. Экспресс-системы выявляют на-

Таблица 14. Системы эпидемиологического типирования, применяемые для оценки возбудителей внутрибольничных инфекций

Система типирования	Микроорганизмы
Биотипирование	Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Neisseria, Haemophilus, S. epidermidis
Определение чувствительности к антибиотикам	Staphylococci, Enterobacteriaceae, Pseudomonas, другие неферментирующие бактерии
Серотипирование	Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, стрептококки, вирусы
Бактериофаготипирование	Стафилококки, Salmonella, другие грамотрицательные аэробные бактерии

личие соответствующих продуцируемых ферментов и продуктов метаболизма и таким образом позволяют идентифицировать штамм в течение 4 ч. Другие системы требуют роста бактерий, и, хотя предварительные результаты можно считать уже через 5 ч, окончательные и более точные данные будут получены через 18—24 ч инкубации.

Большинство систем применяется в комплексе с компьютеризированным банком данных, запрограммированным на содержание различных биохимических профилей многочисленных штаммов бактерий. Все положительные реакции имеют цифровое значение и получаемое восьмизначное число определяет идентичность штамма. Существенным преимуществом этой системы является то, что она обеспечивает быстрые и простые пути дифференцирования микроорганизмов, которые могут иметь эпидемиологическое значение. Например, если лаборатория, которая обычно выделяет бактериальный штамм с конкретным номером биотипа, неожиданно выделит группу штаммов того же рода и вида, но с иным номером биотипа, то она может сигнализировать эпидемиологу о возможном появлении нового штамма, имеющего эпидемиологическое значение в данной конкретной ситуации. Однако не следует полагаться только на изменение номера биотипа при определении различий между микроорганизмами. Даже если подобные тесты могут быть исключительно надежными при идентификации штаммов на основе определения рода и вида, то степень воспроизводимости отдельных биохимических реакций вызывает сомнение. Butler и сопр. [51], изучавшие воспроизводимость системы API-20E при идентификации Enterobacteriaceae, установили, что данная система позволяет получить идентичные номера биотипов только в 55,5% случаев при испытании 110 штаммов. При рассмотрении воспроизводи-

сти каждой из 20 биохимических реакций было обнаружено, что эта воспроизводимость варьирует от 80% (для цитрата) до 100% (для H_2S , индола, маннита и триптофандиаминазы). Увеличение объема инокулята и времени инкубации влияло на воспроизводимость системы даже в тех случаях, когда повторные исследования проводил и интерпретировал один и тот же лаборант. Увеличение времени инкубации от 15 до 22 ч приводило к изменению процента совпадений от 67,5 до 75,8%. Увеличение объема инокулята от 10^3 до 10^7 КОЕ/мл повышало вероятность совпадений от 65 до 77,5%.

Sneath, Johnson [52], производившие оценку методов идентификации *Pseudomonas*, сообщили о 3% несовпадений внутрилабораторных результатов и 15% несовпадений результатов, полученных в разных лабораториях. Было высказано мнение, что серьезные ошибки в идентификации не значимы до тех пор, пока вероятность ошибочных результатов ниже 10%.

Barry и сопр. [53], проводили оценку точности системы Autobac при идентификации грамотрицательных бактерий по сравнению с обычным методом. Общий показатель точности обычного метода идентификации колебался от 93,5 до 99,2%. Воспроизводимость каждой из биохимических реакций варьировала от 74,9% (при испытании бактерий, не сбраживающих глюкозу, на агаре с тремя сахарами при 42°C) до 99,4% (тест с оксидазой при испытании бактерий, разлагающих глюкозу).

Очевидно, что биотипирование микроорганизмов можно считать ценным методом эпидемиологических исследований. При этом, однако, нужно учитывать варибельность, присущую каждой системе и каждому виду микробов. Нецелесообразно считать биотипирование единственным методом получения эпидемиологической информации и для выявления действительного сходства между штаммами микробов следует также пользоваться другими дополнительными методами.

Важной системой маркировки, применяемой для определения эпидемиологической взаимосвязи между микробами, является испытание чувствительности микроорганизмов к различным антибиотикам. Для определения типов этой чувствительности (т. е. составления антибиограмм) могут применяться методы диффузии антибиотиков с дисков в агар (Kirby—Baueг) или разведений в бульоне. Результаты, получаемые при использовании этих методов, в известной мере варьируют, и этот факт следует учитывать в тех случаях, когда в разных лабораториях получены неодинаковые результаты.

В качестве эпидемиологического маркера может быть также использован метод серотипирования различных микроорганизмов, хотя чаще всего данный метод применяется в области диагностики инфекционных болезней. Принцип серодиаг-

ности заключается в том, что при соединении антигенов и специфически направленных против них антител (или наоборот) возникает та или иная выявляемая реакция. К традиционным серологическим реакциям относятся агглютинация, связывание комплемента и преципитация. Методы агглютинации и преципитации применяют в микробиологических лабораториях уже на протяжении многих лет для ускоренной идентификации многих видов патогенных микробов. В частности, существуют такие методы, как агглютинация на стекле для серотипирования *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* и других представителей семейства *Enterobacteriaceae* [54], а также метод серологического определения групповой принадлежности β -гемолитических стрептококков на основе реакции преципитации по Lancefield [55].

Реакцию коагглютинации применяют для идентификации β -гемолитических стрептококков групп А, В, С и D, а также *Haemophilus influenzae* (тип b), *Neisseria* и *Salmonella*. Данная реакция основана на способности *S. aureus* (штамм Cowan), содержащего большое количество протеина А, связывать Fc-фрагмент IgG субклассов 2 и 4. Несвязанный Fab-фрагмент молекулы иммуноглобулина, остающийся в свободном состоянии, вступает в реакцию с молекулами антител, специфически направленными против испытуемого микроба. Olsen и сотр. [56] показали, что данный метод дает менее выраженную аутоагглютинацию и является более специфическим по сравнению с традиционными методами определения агглютинации при обнаружении *Neisseria meningitidis* в спинномозговой жидкости.

Широкое применение в качестве серологического метода приобрела другая реакция агглютинации, основанная на использовании сенсibilизированных частиц латекса. С помощью этой методики можно идентифицировать *H. influenzae* (тип b), *N. meningitidis* (группы А, В и С) и β -гемолитические стрептококки (группы А, В, С, D и G). Неспецифическая агглютинация частиц латекса встречается реже, чем при реакции коагглютинации; поэтому метод латекс-агглютинации считается более надежным.

В целях обнаружения и типирования различных микроорганизмов в микробиологических лабораториях применяются также иммунологические методы. К ним относятся встречный иммуноэлектрофорез (ВИЭФ), иммунофлюоресценция (ИФ), радиоиммунный анализ (РИА) и иммуноферментный анализ (ИФА). В основе метода ВИЭФ лежит иммунодиффузия с последующей миграцией антигенов и антител навстречу друг другу в электрическом поле, создаваемом в системе. Данный метод наиболее широко применяется для непосредственного определения антигенов в спинномозговой жидкости (СМЖ),

а также для выявления антигенов *H. influenzae* (тип b), *N. meningitidis* (группы А, В, С, X, Y, Z, W135) и β-гемолитических стрептококков (группы В и D). Система пригодна для обнаружения малых количеств микробных клеток ($\approx 10^5$ КОЕ/мл), но при большом количестве антигенного материала ($> 10^8$ КОЕ/мл) могут наблюдаться перекрестные реакции [57]. Некоторые из них не зависят от количества имеющегося антигена; в качестве примеров можно привести взаимодействие K1-антигенов *E. coli* с антисыворотками против *H. influenzae* (тип b) и *N. meningitidis* (группа В), а также взаимодействие антисывороток против *E. coli* и *H. influenzae* (тип b) с *S. aureus* [58].

Метод иммунофлюоресценции наиболее широко применяется в микробиологических лабораториях для прямого выявления стрептококков группы А в клинических образцах. Наряду с этим данная методика может быть использована для обнаружения ряда других патогенных микробов. Путем иммунизации лабораторных животных получают антитела против различных патогенных микробов; эти антитела метят флюоресцирующими красками, обычно флюоресцином. Когда антитела вступают в реакцию с конкретным специфическим антигеном, соответствующие микроорганизмы выявляются в ультрафиолетовых лучах. Метод ИФА может также применяться для диагностики сифилиса (FTA-ABS), бешенства и коклюша.

В основе радиоиммунного анализа лежит классическая реакция антиген — антитело, однако в качестве маркеров реакции применяются радиоактивные изотопы. Эта методика не нашла широкого применения в микробиологии; ею пользуются в основном для скрининга крови на антигены вируса В и антитела против этого возбудителя.

Имуноферментный анализ в принципе является более простым, чем РИА, однако имеет много преимуществ перед ним. При постановке ИФА в качестве метки применяют ферменты, что позволяет исключить опасность, связанную с радиоактивностью, и снижает стоимость анализа за счет реагентов. С помощью ИФА можно выявлять *H. influenzae* (тип b), *N. meningitidis* (группы А и С), возбудителя гепатита В, вирус простого герпеса, вирус Эбштейна — Барра (EBV), *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* и *Toxoplasma gondii*.

Серологические методы определения групповой принадлежности и типирования различных микроорганизмов за последние 10 лет были существенно изменены и усовершенствованы благодаря процессу, разработанному в 1975 г. Kohler, Milstein и обозначенному как «технология гибридизации соматических клеток» [59]. Этот процесс заключается в слиянии двух разных типов клеток с образованием гибридных клеток, содержащих смесь нуклеарного вещества обеих родительских

клеток. Существует много методов получения этих гибридных клеток [60—63], которые, полученные однажды, могут непрерывно выращиваться в культуре клеток в соответствующей среде. Такие гибридные клетки, обладающие способностью вырабатывать антитела против исходного антигена, могут быть в дальнейшем подвергнуты клонированию. Если окажется, что эти клоны продуцируют антитела, то их можно сохранять в клеточных культурах, выращивать *in vivo* в асцитической жидкости мышей или замораживать на неопределенный срок с целью использования в будущем. Эта технология имеет ряд преимуществ [64]. Ввиду того что вышеуказанные антитела происходят из единого источника, никаких различий в активности между разными сериями этих антител не будет. Кроме того, поскольку данные гибридомы могут быть заморожены и клонированы, появляются возможности для неограниченного получения антител. И, наконец, чистые антитела могут быть получены с использованием неочищенных антигенов. Однако полученные неочищенные антитела не будут характеризоваться значительно сниженной активностью (в этом случае не будет тормозящего действия антивидовых антител). Действительно, подобные антитела будут в этих случаях находиться в значительно более высоких титрах, чем в сыворотках, полученных традиционными способами.

Указанная технология связана с такими трудностями, как сложность получения гибридов, вырабатывающих антитела; нестабильность клонов, препятствующая продукции антител; фиксированная аффинность антител, способная снижать их активность, и отсутствие агглютинирующих и преципитирующих свойств антител [65].

Получение моноклональных антител — новая область науки, однако значение ее для микробиологии и эпидемиологии общепризнано. Моноклональные антитела уже применяются для диагностики бешенства [65], а также дифференцирования этой инфекции от заболеваний, вызываемых сходными вирусами. Кроме того, с помощью моноклональных антител выявляют различные бактериальные инфекции [66—68], а в последнее время их начинают использовать при проведении эпидемиологических исследований [69].

Описанные выше серологические методы имеют большое значение для выявления этиологии заболеваний, однако каждый из них имеет свои достоинства, недостатки и ограничения. Преимущество всех этих методов заключается в том, что они могут в принципе применяться в микробиологических лабораториях больниц, что дает возможность быстро получать результаты исследований. Основными недостатками каждого из этих методов являются относительная стандартизация и наличие переменных факторов, которые могут влиять на ко-

нечный результат. К указанным переменным факторам относятся степень специфичности антител, возможность появления неспецифических реакций и постепенное снижение стабильности антител. Однако после внедрения моноклональных антител эти факторы могут быть устранены. Основным же лимитирующим фактором всех этих методов является невозможность иметь абсолютно все серотипы, которые могут понадобиться в обычной микробиологической лаборатории, хотя выпускаемые в настоящее время коммерческие антисыворотки охватывают широкий ряд различных микроорганизмов и серотипов.

Серотипирование может расцениваться как стабильная система эпидемиологического маркирования; в некоторых случаях она может дать эпидемиологу ценную информацию. Однако вследствие ряда ограничений, присущих этой методике, ее использование в качестве основного эпидемиологического способа исследования постепенно теряет свое значение.

Бактериофаго- и бактериоцинотипирование в основном применяют как методы эпидемиологических исследований и лишь в редких случаях для диагностических целей в обычных микробиологических лабораториях. Обе указанные методики позволяют выявлять определенные различия между штаммами, считающимися идентичными по результатам других эпидемиологических тестов. Бактериофаги — это вирусы, паразитирующие в бактериальных клетках. Эти вирусы проникают в бактериальную клетку, размножаются в ней и в конечном итоге ее разрушают. Бактериофаготипирование в эпидемиологических целях оказалось особенно успешным при стафилококковых и сальмонеллезных инфекциях и в определенной степени — при инфекциях, вызываемых *Pseudomonas* [70, 71].

Бактериоцины можно определить как класс протеинов — антибиотиков, продуцируемых различными видами бактерий и обладающих активностью только в отношении определенных видов бактерий, имеющих близкое родство со штаммом — продуцентом бактериоцина. Бактериоцины сходны с бактериофагами (за исключением того, что они не подвергаются репликации). В основе идентификации бактериоцинов лежит их свойство создавать зоны задержки роста бактерий (эти зоны сходны с бляшками, образуемыми бактериофагами). Действие бактериоцинов является в достаточной мере специфическим. Обозначение бактериоцинов зависит от названия продуцирующих их микроорганизмов (например, колицины — *E. coli*, вибриоцины — *Vibrio cholerae*; пестицины — *Yersinia pestis*).

Типирование *P. aeruginosa* на основе продуцируемых пиоцинов, по-видимому, является наиболее эффективным методом типирования штаммов данного вида бактерий. Методика

типирования в этом случае сходна с процедурой фаготипирования; литические реакции градуируются по типу +/- . Каждая реакция получает цифровое обозначение, совпадающее с названием бактериоцинотипа.

Бактериофаготипирование и бактериоцинотипирование наиболее важных возбудителей внутрибольничных инфекций — эффективные эпидемиологические методы. Однако обе эти процедуры имеют существенные ограничения [71, 72], к числу которых относятся необходимость стандартизации методов и постепенное изменение воспроизводимости. Наличие данных факторов обусловлено изменениями генотипа и фенотипа бактерий или переносом плазмид. Существует еще один ограничивающий фактор: появление неспецифических бактериофагов и бактериоцинов, адаптировавшихся ко всем тест-штаммам, применяемым в процессе типирования. Кроме того, обе процедуры требуют значительных затрат труда и рабочего времени, вследствие чего они пригодны только для научно-исследовательских лабораторий.

В качестве эпидемиологического метода, пригодного для получения фингерпринтинга («отпечатков пальцев») бактериальных возбудителей внутрибольничных инфекций, может применяться также анализ плазмид. Плазмиды — это внехромосомные ДНК-элементы, которые могут переноситься из одной бактериальной клетки в другую за счет процесса конъюгации (самостоятельный перенос) или трансдукции (несамостоятельный перенос). Эти плазмиды содержат ценную генетическую информацию, позволяющую хозяину (бактериальной клетке) более эффективно адаптироваться к внешним условиям. Плазмиды, переносящие свойство резистентности к антибиотикам, обозначаются как R-плазмиды или R-факторы. Размеры плазмид, несущих информацию, связанную с резистентностью, широко варьируются [73] и являются основой для разделения и идентификации различных плазмид методом электрофореза в геле агарозы [74]. Бактериальные клетки подвергаются лизису, после чего производятся сбор и специальная обработка выделившейся ДНК. Полученная ДНК в дальнейшем подвергается электрофорезу в геле агарозы в течение приблизительно 2 ч. После этого гель окрашивается этидиумбромидом, и ДНК визуально выявляется в ультрафиолетовых лучах.

Хотя указанная процедура проста, сравнительно недорога и легко адаптируется к условиям обычной больничной лаборатории, ее роль в эпидемиологическом типировании возбудителей внутрибольничных инфекций не столь значительна, как предполагали при ее разработке. Стабильность R-плазмид в растущих культурах варьирует, и поэтому воспроизводимость данных процедур вызывает сомнения. Кроме того, некоторые

плазмиды не обладают способностью мигрировать через гель агарозы, и это обстоятельство препятствует их выделению и идентификации. Наиболее серьезным препятствием для использования электрофореза в геле в целях проведения анализа плазмид является тот факт, что плазмиды сходной относительной молекулярной массы могут иметь различную структуру ДНК, и последняя может оказаться невыявленной [75]. В связи с этим предлагается проводить рестрикционный эндонуклеазный анализ ДНК-плазмид. Рестриктирующие эндонуклеазы — это ферменты, которые производят разрывы в специфических последовательностях двунитевой ДНК. Образующиеся при этом фрагменты могут быть сепарированы с помощью электрофореза в геле агарозы или полиакриламидных гелях. Плазмиды одного и того же электрофоретического типа считаются идентичными или весьма сходными. Чувствительность данного метода определяется числом использованных ферментов и образующихся электрофоретически изолированных фрагментов ДНК. В настоящее время в США имеется лишь ограниченный набор коммерчески выпускаемых эндонуклеаз, в связи с чем данная методика может оказаться неприемлемой для практических лабораторий.

Имеются два новых метода определения взаимосвязей между микроорганизмами: проточная цитометрия и гибридизация нуклеиновых кислот. В недавно опубликованной работе Van Dilla и сотр. [76] приводятся результаты использования метода проточной цитометрии для характеристики бактерий. В данной процедуре применяются флюоресцентные краски, преимущественно связывающиеся с ДНК, содержащей большое количество гуанинцитозина и аденин тимина. Флюоресценция таких бактерий с двойной окраской измеряется с помощью двулучевого флюороцитометра, который дает информацию о части гуанинцитозина от общего содержания ДНК, концентрации клеток и о степени пролиферации клеточной популяции. Проточная цитометрия — чувствительный и специфический метод идентификации бактерий в растущей культуре или в клинических образцах.

Гибридизация нуклеиновых кислот (ДНК-гибридизация) — другой эффективный метод выявления и идентификации микробов. Он позволяет количественно определить степень генетической общности микроорганизмов путем непосредственного измерения сходства нуклеотидных последовательностей разных видов. Первый этап анализа — определение фрагмента ДНК, являющегося уникальным для исследуемого микроба. ДНК выделяется при добавлении ферментов и детергентов, после чего она фиксируется на нитроцеллюлозных фильтрах. Сходным же образом ДНК индикаторного микроорганизма высвобождается и метится радиоактивным изотопом

(ДНК-зонд). ДНК указанных микроорганизмов диссоциирует на отдельные линейные фрагменты, которые затем соединяются. Степень взаимосвязи между двумя фрагментами находится в прямой зависимости от последовательностей комплементарных нуклеотидов в двух фрагментах. Выявление осуществляется с помощью метода автордиографии.

Радиоизотопными метками для большинства описанных в литературе ДНК-зондов были нуклеотиды, меченные β -³²P. В то же время Langer и сотр. [77] описали применение альтернативных меток — биотина (ранее обозначавшегося как витамин Н) и авидина (одного из гликопротеинов). Биотин связывается с ДНК-зондом, который в свою очередь прикрепляется к исследуемой ДНК. Добавление биотина не вызывает существенного подавления связывающей способности зонда. Следующий этап — добавление авидина, имеющего флюоресцентную метку. Авидин характеризуется выраженным аффинитетом к биотину и поэтому будет связываться с зондом. Выявление искомой субстанции производится с помощью ультрафиолетовых лучей. Использование системы данного типа устраняет необходимость в применении биологически опасных материалов, а также реагентов с коротким сроком годности.

ДНК-ДНК-гибридизация применяется только в научно-исследовательских учреждениях для выявления вируса простого герпеса [78, 79], цитомегаловируса [80], вируса гепатита В [81], энтеротоксигенных *E. coli* [82] и *Neisseria gonorrhoeae* [83]. В США в продаже имеются коммерчески выпускаемые зонды для вируса простого герпеса, цитомегаловируса и *Chlamydia trachomatis*.

Хотя проточная цитометрия и ДНК-ДНК-гибридизация еще не применяются в практических микробиологических лабораториях, эти методики весьма перспективны в смысле ускоренного и точного выявления возбудителей внутрибольничных инфекций. Они отличаются высокой чувствительностью, а стабильность их результатов превышает соответствующий показатель, характерный для анализа плазмид.

В заключение можно сказать, что существует много методов определения сходства штаммов, выявляемых при вспышках внутрибольничных инфекций. Однако нет ни одного метода, пригодного для обнаружения возбудителей всех вспышек внутрибольничных инфекций. В этих целях рекомендуется одновременно применять несколько методик. Если для идентификации выделенных штаммов использовать несколько методов типирования, то это приведет к выявлению родственных штаммов. И, наоборот, если не связанные друг с другом штаммы будут типироваться несколькими методами, то будет идентифицировано множество различных типов. При обследовании той или иной вспышки [84] выделенный штамм дол-

жен быть идентифицирован одним методом, а для повышения точности и воспроизводимости этой процедуры идентификации в дальнейшем следует применить несколько методов типирования. Типирование микроба-возбудителя должно проводиться только путем исследования одной пробы, взятой у одного больного. Имеются данные о том, что типирование множества штаммов, выделенных у одного и того же больного, не дает никаких преимуществ [85].

ОБСЛЕДОВАНИЕ ВСПЫШКИ ИНФЕКЦИИ

Бактериологические исследования

Аппаратура для искусственного дыхания

Смыв с поверхности экспираторных клапанов, спирометров, загубников и т. п. можно производить с помощью ватных тампонов, смоченных в сердечно-мозговом инфузионном бульоне; после этого производится инкубация тампонов [86].

Внутрисосудистые контролируемые устройства

Показано, что данные устройства могут быть резервуарами возбудителей внутрибольничных инфекций [87]. Смывы с трансдукторных диафрагм можно производить ватными тампонами, предварительно смоченными в сердечно-мозговом инфузионном бульоне [88]. Смывы можно сливать вместе и заправлять непосредственно в кровяную питательную среду.

Внутривенные катетеры

При групповой бактериемии, вызванной одним и тем же видом микроба, резервуаром инфекции может быть жидкость для внутривенного введения. Однако прежде всего следует провести бактериологическое исследование наконечника катетера, чтобы определить, не является ли он резервуаром инфекции. Распространение инфекции от одного больного к другому из-за недостаточно тщательного мытья рук больничным персоналом — известный фактор внутрибольничной бактериемии так же, как и то, что нарушения правил асептики при внутривенных инъекциях способствуют возникновению внутрибольничной бактериемии. Для выявления этиологического фактора и возможного источника инфекции могут применяться качественные или полуколичественные методы исследования.

Для проведения качественного бактериологического исследования наконечника катетера последний помещают в пробирку с питательным бульоном, которую затем тщательно встряхивают. Часть этого бульона переносят на чашку с кро-

вяным агаром и в пробирку с тиогликолевым бульоном. Чашку инкубируют при 35°C в атмосфере с 5—10% CO₂ на протяжении 2 дней, а пробирку с тиогликолевым бульоном — при 37°C в течение 7 дней [89].

Полуколичественное исследование [89, 90] производят следующим образом: наконечник катетера катают взад и вперед по поверхности кровяного агара в чашке Петри с помощью стерильного пинцета; затем чашку инкубируют при 35°C в атмосфере с 5—10% CO₂ в течение 2 дней. Существуют критерии величины роста и его значения: наличие 15 или больше колоний на поверхности агара в одной чашке указывает на значительную колонизацию катетера, а присутствие менее 15 колоний при тех же условиях — на отсутствие колонизации или на незначительную контаминацию катетера [90].

Жидкости для внутривенного введения

Жидкости для внутривенных инъекций при подозрении на нестерильность могут быть подвергнуты различным бактериологическим исследованиям. Небольшие пробы жидкости вносят во флаконы для гемокультуры (по 10 мл в каждый); после чего их встряхивают с целью перемешивания содержимого. Один флакон инкубируют при 35°C, второй — при 22—25°C.

Для полуколичественной оценки уровня контаминации исследуемой жидкости отбирают точно отмеренные количества этой жидкости (0,01 или 0,001 мл) и вносят их в чашки с питательным или кровяным агаром. Одну чашку инкубируют при 35°C, вторую — при 22—25°C. Результаты выражают как число колоний в 1 мл жидкости.

Другие растворы

Все другие жидкости, лекарственные или вспомогательные растворы, введенные больным в течение 24 ч, предшествующих появлению у них лихорадочной реакции, должны быть изъяты и подвергнуты бактериологическому исследованию в качестве возможных источников контаминации. Поскольку оставшийся объем неиспользованной жидкости может быть небольшим, к нему добавляют равный объем сердечно-мозгового инфузионного бульона, обогащенного 0,5% мясного экстракта; после этого всю пробу инкубируют при 35°C. Если остались только пустые контейнеры, то в них вносят небольшой объем питательной среды, которую перемешивают в контейнере путем вращения последнего. В целях предупреждения искусственной контаминации следует строго соблюдать правила асептики.

При подозрении на нестерильность жидкости следует тщательно зарегистрировать все данные о ней: название продук-

та, наименование фирмы-изготовителя, номер серии, дату и час приготовления или использования. Кроме того, должны быть указаны любые дополнительные сведения и приведено описание внешнего вида жидкости или контейнера [91].

Прочие объекты

Подробное обсуждение вопроса об объектах окружающей среды, могущих быть резервуарами внутрибольничных инфекций, и описание методов отбора соответствующих проб приводятся в методологическом руководстве Gradwohl [92].

Колонизация или инфекция?

Одной из основных проблем в клинике инфекционных болезней является дифференцирование колонизации от инфекции. Клинико-микробиологическая лаборатория может оказать в этом отношении помощь врачу-клиницисту путем предоставления дополнительной информации (например, о наличии воспалительного экссудата), позволяющей определить этиологическую роль выделенного микроорганизма. Выделение микробной культуры из какого-либо участка организма необязательно указывает на ее патогенетическую роль; нередко оно свидетельствует только о факте колонизации. Например, бактериурия без пиурии скорее свидетельствует о колонизации, чем об инфекции. При окраске по Граму мазка из зева больного с фарингитом при инфекционном мононуклеозе (подобные исследования предпринимаются для изучения воспалительной реакции в месте поражения) часто обнаруживается лишь небольшое количество полиморфно-ядерных нейтрофилов. Данный факт указывает на то, что зев больного не инфицирован, а скорее подвергся колонизации стрептококками группы А.

Следует, однако, признать, что мы располагаем лишь минимальными сведениями о взаимосвязи между колонизацией и инфекцией. Не совсем ясно, почему у некоторых больных заведомо патогенные микробы (например, *N. influenzae*, менингококки или стрептококки группы А) обладают «колонизирующим» действием, а у других — играют роль патогенных возбудителей. Процент носительства этих микробов варьирует в зависимости от времени года и достигает максимального в зимние месяцы. Другие микроорганизмы, например, *Citrobacter*, почти всегда обладают «колонизирующими» свойствами; патогенное действие они оказывают только в чрезвычайных условиях. Общеизвестно также, что колонизация, как правило, предшествует инфекции. Однако повышенные уровни колонизации во многих случаях не приводит к увеличению уровня инфицированности. Показатели колонизации варьиру-

ют также в зависимости от активности конкуренции со стороны микрофлоры, преобладающей в конкретном лечебном учреждении, за определенные экологические ниши. Например, если *Serratia* и *Pseudomonas* конкурируют за одни и те же участки внешней среды в больнице, то повышение активности колонизации *Pseudomonas* обычно сопровождается снижением степени колонизации *Serratia* и наоборот. Следует подчеркнуть, что колонизация имеет большое значение в том смысле, что она обуславливает потенциальный резервуар возбудителей внутрибольничных инфекций и является своеобразным сигналом развивающейся вспышки [93—95].

Колонизация людей грамотрицательными или грамположительными микробами обычно имеет преходящий характер. Колонизация, или носительство, микробов может быть пролонгирована в результате действия антибиотиков. Этот хорошо изученный феномен наблюдается при лечении некоторыми антибиотиками, например ампициллином, больных сальмонеллезами и шигеллезами. Колонизация четко ассоциируется с пребыванием в больничном учреждении и использованием антибиотиков. Антибиотики оказывают избирательное действие на микрофлору больного, селекционируя микробы, обладающие потенциальными колонизирующими и патогенными свойствами. При этом уровень колонизации наиболее четко коррелирует не просто с количеством принятых антибиотиков, а с конкретным видом антибиотиков, используемых в больнице. Следует также отметить, что другим важным фактором, стимулирующим колонизацию у больного, является продолжительное назначение антибиотиков.

Инвазивные устройства, например внутривенные полиэтиленовые катетеры, могут создавать дополнительный резервуар для колонизации микробов в организме больного [96, 97].

Колонизация также частично зависит от того, в каком отделении находится больной. Очень тяжелые больные в отделениях интенсивной терапии обычно подвергаются более активной колонизации, чем больные в общих палатах. Данное обстоятельство, по-видимому, связано с тем фактом, что больные, находящиеся в отделениях интенсивной терапии, обычно имеют ослабленные защитные реакции, часто подвергаются множественным инструментальным процедурам и, как правило, находятся на режиме длительной антибиотикотерапии. Несомненно, что нарушение нормального состояния микрофлоры глотки и кишечника также стимулирует процесс колонизации. Некоторые виды стрептококков, обитающих в глотке, а также *Bacteroides fragilis*, находящиеся в толстой кишке, выполняют защитную функцию, т. е. предупреждают колонизацию другими микроорганизмами. Поэтому необходимо поддерживать всеми возможными способами защитную функ-

цию нормальной микрофлоры больного, направленную на предупреждение колонизации [98].

К факторам, способствующим колонизации возбудителей внутрибольничных инфекций, относятся продолжительная госпитализация, длительный прием антибиотиков, нарушение нормальной микрофлоры глотки или кишечника, а также инструментальные процедуры. Кроме того, следует учитывать профиль отделения, в котором находится больной.

Наиболее важными резервуарами большинства видов бактерий, оказывающих «колонизирующее» действие в условиях больницы, являются ротоглотка, желудочно-кишечный тракт и мочевые пути. В этих участках организма обычно обитают *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* и *Pseudomonas*. В желудочно-кишечном тракте часто имеет место колонизация бактериями вида *Citrobacter*; бактерии *Acinetobacter* могут переноситься через руки. Грамположительные микробы (стрептококки группы В, стафилококки и дифтероиды ЖК) могут колонизировать руки больных и медицинского персонала. Колонизация нижних отделов желудочно-кишечного тракта грибами *Candida* обычно предшествует колонизации ими мочи. Информация о вероятных резервуарах микробов, оказывающих колонизирующее и патогенетическое действие, имеет большое значение для слежения за микроорганизмами для борьбы с внутрибольничными вспышками. Резервуары наиболее распространенных возбудителей внутрибольничных вспышек указаны в табл. 15 [93, 96].

Ввиду того что сущность процесса колонизации остается недостаточно ясной, меры по борьбе с колонизацией также нельзя считать вполне обоснованными. Даже в случаях наиболее активного проведения подобных мероприятий колониза-

Т а б л и ц а 15. Колонизация возбудителей внутрибольничных инфекций у отдельных больных

Микроорганизм	Резервуар микробов в организме человека
<i>Klebsiella</i>	Глотка, кишечник, моча
<i>Enterobacter</i>	Кишечник, моча
<i>Serratia</i>	Моча
<i>Pseudomonas</i>	Глотка, кишечник, моча
<i>Citrobacter</i>	Руки
<i>Acinetobacter</i>	Руки
Стрептококк группы В	Влагалище, руки
Стрептококк/MRSA*	Ноздри, руки
Дифтероиды ЖК	Ноздри, руки
<i>Candida</i>	Кишечник, моча

* MRSA — метициллин-резистентный *S. aureus*.

ция может продолжаться без каких-либо видимых причин. Хотя считают, что меры по борьбе с инфекцией уменьшают интенсивность колонизации, в литературе имеются лишь ограниченные данные по этому вопросу [99, 100]. С точки зрения теории важно восстановление нормальной микрофлоры, практически же, кроме прекращения лечения антимикробными препаратами, сделать почти ничего нельзя. Необычные подъемы уровней носительства определенных микроорганизмов могут быть связаны с использованием отдельных антибиотиков. Если отмечается подобная корреляция, то целесообразно ограничить использование соответствующих антибиотиков. Для больных с колонизацией полирезистентными микробами иногда необходимо лечение цефоперазоном или амикацином с тем, чтобы снизить распространение резистентных микробов [101]. И наконец, современный, наиболее логически обоснованный подход к борьбе с колонизацией основан на недавно описанном и подробно изученном феномене бактериальной адгезии (прикрепление). Показано, что патогенные микробы, не обладающие способностью прикрепляться к эпителиальным клеткам дыхательных путей, желудочно-кишечного и мочеполового тракта, не вызывают инфекционного процесса. Снижение интенсивности бактериальной адгезии возможно за счет действия некоторых химических веществ; еще легче достичь этого приемом различных антибиотиков. Некоторые антибиотики по существу стимулируют развитие инфекции вследствие того, что усиливают контакт между бактериальными клетками и клетками макроорганизма. В отличие от этого другие антибиотики, например тетрациклин, могут оказывать противоположное действие, выражающееся в снижении бактериальной адгезии. Имеющийся ограниченный объем информации указывает на то, что бактериальное прикрепление представляет собой важный промежуточный этап между колонизацией и инфекцией. Показано, что субингибирующие концентрации антибиотиков повышают частоту возникновения некоторых внутрибольничных инфекций. Что касается влияния использования конкретных видов антибиотиков на процесс адгезии и колонизации в условиях больниц, то по этому вопросу пока нет достаточно полных данных.

В то же время очевидно, что именно на этой информации могут быть основаны меры по борьбе с колонизацией, к которым относятся борьба с инфекцией, восстановление нормальной микрофлоры хозяина, ослабление адгезии патогенных микробов к эпителиальным клеткам дыхательных путей, а также желудочно-кишечного и мочеполового тракта, ограничение применения антибиотиков, усиливающих колонизацию, и использование антибиотиков, не вызывающих резис-

тентность и не связанных с активным нарушением нормальной микрофлоры. В будущем может быть разработан метод восстановления нормальной микрофлоры путем бактериальной интерференции (антагонизма). В качестве контроля авирулентные штаммы нормальной микрофлоры можно было бы вводить в соответствующие участки и полости организма для вытеснения патогенных микробов, а также таких представителей нормальной флоры, которые обладают выраженной тенденцией к колонизации [102, 103].

Антибиотикорезистентность

Развитие антибиотикорезистентности у штаммов, циркулирующих среди населения и в условиях стационаров, определяется многими факторами. Это явление может быть основано на действии одного или нескольких механизмов [104—107]. Существуют три формы резистентности микробов к антибиотикам, встречающиеся в клинической практике: хромосомная, плазмидная, связанная с проницаемостью. При внутрибольничных инфекциях наиболее часто встречается плазмидная, реже — хромосомная устойчивость. Резистентность, связанная с проницаемостью, в настоящее время не занимает существенного места в общей проблеме распространения устойчивости микроорганизмов к антибиотикам [105].

Хромосомная устойчивость выявляется в микробиологических лабораториях в тех случаях, когда внезапно обнаруживается изменение чувствительности одного или нескольких видов микроорганизмов к одному (наиболее частый вариант) антибиотику. Несколько антибиотиков в типичных случаях ассоциируются с одним или несколькими типами резистентности. Можно привести следующие примеры хромосомной резистентности: устойчивость *Klebsiella* к карбенициллину, энтерококков — к стрептомицину, стафилококков — к хлорамфениколу, грамположительных кокков и *Neisseria* — к сульфонамидам, стрептококков — к аминогликозидам и метициллин-резистентных *S. aureus* — к тетрациклинам. Плазмидная резистентность может быть определена в тех случаях, когда происходит постепенное изменение чувствительности множественных микроорганизмов к одному или более антибиотикам [107].

К многочисленным примерам плазмидной резистентности относится устойчивость *Enterobacter* к цефамандолу и резистентность *P. aeruginosa* к гентамицину или тобрамицину [108, 109]. Показано, что резистентность *Enterobacteriaceae* к первому, второму и третьему поколениям цефалоспоринов, несомненно, опосредуется плазмидами. Следует отметить, что устойчивость, передаваемая с R-фактором, не возникает под

влиянием цефокситина или цефоперазона, применяемыми по отдельности.

У других, реже встречающихся микроорганизмов, таких как *Citrobacter*, *Providencia*, *Moraxella* и *Acinetobacter*, также развивается резистентность к широкому ряду антибиотиков (в том числе к цефалоспорином и аминогликозидам) на плазмидной основе [110]. Резистентность, связанная с проницаемостью, характеризуется внезапным или постепенным развитием перекрестной резистентности одного вида микробов к двум антибиотикам. Возникновение этого типа устойчивости было связано с использованием аминогликозида и β -лактамоного антибиотика для лечения инфекций, вызванных *Serratia* и *P. aeruginosa* [105] (табл. 16). Для тетрациклинов также характерна как плазмидная резистентность, так и устойчивость, связанная с проницаемостью.

Факторы, определяющие виды и распространение различных типов устойчивости к антибиотикам, изучены еще не полностью. В природных условиях наиболее крупный резервуар резистентных микроорганизмов существует в популяциях домашнего скота и домашних птиц. В США принято добавлять антибиотики в корм животных и птиц. Показано, что упомянутый крупнейший резервуар антибиотикоустойчивости переходит также на человеческие контингенты, вследствие чего образуется хронический «человеческий» резервуар устойчивых микроорганизмов. Устойчивость к антибиотикам у человека и животных ассоциируется с микробами, подвергающимися экспозиции к низким концентрациям препарата в течение длительных периодов времени. Именно такая ситуация характерна для «резервуара животных», в корм которых добавляют небольшие количества антибиотиков с целью стимулирования роста [111]. Существует распространенное ошибочное мнение о том, что основным фактором, определяющим устойчивость к антибиотикам, является интенсивность использования этих препаратов. Общее количество применяемых антибиотиков в том или ином лечебном учреждении (т. е. «тоннаж антибиотиков») имеет лишь слабо выраженную связь с развитием резистентности. Хотя не подлежит сомнению, что в больших больницах чаще возникают проблемы устойчивости, чем в небольших лечебных учреждениях, тем не менее в примерно одинаковых больницах, расположенных в одной географической зоне и характеризующихся приблизительно сходным «антимикробным тоннажем», обычно возникают совершенно различные проблемы, связанные с устойчивостью к антибиотикам. Более важным показателем, определяющим развитие устойчивости к антибиотикам, является не столько объем используемых антибиотиков, сколько их тип (или типы). Применение некоторых антибиотиков, даже в небольших количе-

Таблица 16. Механизмы развития различных типов антибиотикоустойчивости и способы их распознавания

Механизм резистентности	Тип резистентности	Частые ассоциации	
		антибиотики	микроорганизмы
Хромосомная устойчивость	Внезапное изменение типа чувствительности одного или более видов микробов к одному антибиотику	Карбенициллин Стрептомицин Левомецетин Аминогликозиды Сульфонамиды Тетрациклин	Klebsiella Enterococci Pseudomonas, Streptococci Neisseria Staphylococci Staphylococcus/MRSA*
Плазмидная устойчивость	Постепенное изменение типов чувствительности многих видов микроорганизмов к одному или нескольким антибиотикам	Тетрациклин Ампициллин Цефалоспорины 1-го, 2-го и 3-го поколений	Enterobacteriaceae и Acinetobacter Pseudomonas H. influenzae
Устойчивость, связанная с проницаемостью	Внезапное/постепенное изменение типов перекрестной резистентности одного вида микробов к двум антибиотикам	Аминогликозид + β -лактамный антибиотик Тетрациклин Аминогликозиды	Pseudomonas Serratia Стафилококки Энтерококки

* MRSA — метициллин-резистентный *S. aureus*.

ствах, приводит к возникновению проблем резистентности. Развитие плазмидной резистентности нередко бывает связано с использованием ампициллина, антипсевдомонадных пенициллинов (применяемых изолированно) и цефалоспоринов третьего поколения [112]. Точно так же развитие плазмидной резистентности часто бывает обусловлено широким применением сульфаниламидов и «традиционных» тетрациклинов. В процессе широкого применения гентамицина и тобрамицина отмечаются случаи инактивации этих антибиотиков ферментными системами микробов. Лечебные учреждения, в которых существуют проблемы резистентности, должны не только проводить анализ общего количества используемых антибиотиков, но и обратить внимание на важнейший фактор — какие именно антибиотики применяются для лечения больных. Существует еще один недостаточно ясный фактор — отношение количества антибиотиков, используемых в целях профилактики, к количеству этих же препаратов, назначаемых больным. С профилактической целью антибиотики обычно применяются в акушерских, гинекологических и хирургических отделениях больниц. Если профилактика осуществляется на правильной основе (т. е. четко установленная предоперационная доза препарата применяется с обоснованными интервалами не более чем в течение 24 ч), то вероятность индуцирования устойчивых микроорганизмов в кишечной флоре больных будет сведена к минимуму. Вероятность формирования устойчивости возрастает по мере увеличения длительности лечения, особенно проводимого препаратами, упомянутыми выше. Следовательно, единичная доза или кратковременная схема профилактики — факторы, оказывающие благоприятное воздействие в том смысле, что они сводят к минимуму развитие резистентности и, следовательно, обуславливают целесообразность использования антибиотиков в стационаре. В литературе имеются сообщения, хотя и единичные, о развитии резистентности даже после кратковременной профилактики антибиотиками [112, 113]. Как правило, монотерапия каким-либо антибиотиком предпочтительнее комплексной терапии с точки зрения снижения формирования устойчивости, хотя существуют исключения из этого правила. Известно, что некоторые препараты не следует назначать по отдельности в связи с быстрым формированием плазмидной резистентности. В частности, триметоприм обычно назначают в сочетании с сульфаниламидами в виде препарата триметоприм-сульфаметоксазола (бисептол, TMP-SMX). К каждому из перечисленных отдельных компонентов (триметоприму или сульфаниlamиду), назначаемому самостоятельно, быстро возникают устойчивые формы микробов, однако когда препарат применяют в виде комплекса указанных компонентов, то

устойчивость сводится к минимуму. Сходным же образом при лечении псевдомонадных инфекций пенициллины комбинируют с аминогликозидами не только для расширения спектра действия и обеспечения синергического воздействия на *Pseudomonas*, но и, что более важно, для замедления развития плазмидной устойчивости к пенициллиновому компоненту. Противогрибковый и антимикробный препарат 5-флюцитозин (5-ФС) всегда применяют в комплексе с другим препаратом такого же действия, например с амфотерицином, чтобы по возможности уменьшить формирование устойчивости к 5-ФС. Рифампицин — еще один пример препарата, который всегда должен назначаться в сочетании в целях минимального развития резистентности [104—105, 113]. В противоположность этому, некоторые комбинации препаратов могут быть неудачными. Известно, например, что цефокситин — активный индуктор β -лактамазы, и это действие особенно четко проявляется, если вместе с цефокситином применяют какой-либо другой препарат, например, ампициллин или аминогликозид. Следовательно, если цефокситин назначают изолированно (без других препаратов) в целях профилактики и терапии, то проблемы возникновения резистентности могут быть сведены к минимуму [110]. Все вышеупомянутые факты весьма интересны и практически важны для правильной борьбы с инфекциями в лечебных учреждениях. Если в той или иной больнице существует специальная бригада по борьбе с инфекцией, осуществляющая активную санитарно-просветительную программу для персонала, то следует иметь в виду, что, хотя эта бригада не в состоянии устранить проблему резистентности, тем не менее она, безусловно, может свести к минимуму распространение внутри больницы устойчивых штаммов микроорганизмов.

На антибиотикорезистентность микробов влияют следующие факторы: 1) масштабы использования противомикробных препаратов — «тоннаж антибиотиков»; 2) избыточное применение некоторых антибиотиков, таких как ампициллин, гентамицин/тобрамицин, антипсевдомонадный пенициллин (кроме мезлоциллина), тетрациклины (кроме доксициклина и миноциклина), цефалоспорины третьего поколения; 3) соотношение между профилактическим и терапевтическим применением антибиотиков; 4) отношение монотерапии к комплексной терапии; 5) меры по борьбе с инфекцией.

Все цефалоспорины третьего поколения создают проблемы резистентности, даже если их применяют в небольших количествах [110, 113]. Амикацин используют в учреждениях, где превалирует устойчивость к гентамицину и тобрамицину, для того, чтобы подавить резервуар инфекции, устойчивой к аминогликозидам. Исследования показали, что в результате при-

менения амикацина как основного аминогликозида в лечебных учреждениях восстановилась чувствительность выделяемых микробов к гентамицину и тобрамицину. В других учреждениях амикацин применяли в качестве основного аминогликозида, чтобы поддерживать в больнице среду, свободную от резистентных штаммов; такой подход также оказался достаточно успешным [114—117]. Устойчивость к амикацину обычно бывает связана с барьером проницаемости; в редких случаях в ее основе лежит действие инактивирующих ферментов [105, 106].

Микробиологические лаборатории играют важную роль в борьбе с инфекцией, осуществляя надзор за использованием антибиотиков и проводя оценку эффективности работы больничных бригад по борьбе с инфекциями. Следует, однако, иметь в виду, что лаборатории, пользующиеся ускоренными полуавтоматизированными или автоматизированными экспресс-методами определения чувствительности микробов, нередко получают заниженные показатели уровней резистентности, что затрудняет распознавание проблемы и оценку мероприятий по борьбе с устойчивостью [49, 118]. Тщательное осуществление мер по борьбе с инфекциями является важнейшим фактором, ограничивающим распространение резистентных микроорганизмов в лечебном учреждении. Во время вспышки инфекции применение антибиотиков в целом должно быть ограничено [119]. Это ограничение должно носить избирательный характер; оно должно относиться только к тем антибиотикам, к которым устойчивы микробы, вызвавшие вспышку. Что касается других антибиотиков, не связанных с проблемами резистентности в данном учреждении, то их, как правило, следует применять достаточно широко как в профилактических, так и в лечебных целях [104, 106, 112]. Для борьбы с резистентностью микроорганизмов к антибиотикам рекомендуются следующие меры:

1) максимальное совершенствование практических мероприятий по борьбе с инфекциями; 2) ограничение применения антибиотиков, создающих проблему резистентности (механизм устойчивости определяется микробиологическими лабораториями); 3) стимулирование применения определенных антибиотиков, не связанных с проблемами резистентности: доксициллина/миноциклина, амоксициллина/бакампициллина, триметоприм-сульфаметоксазола, амодоциллина, нитрофурантоина, ванкомицина, амикацина, имипенема.

Псевдоэпидемии

Псевдоэпидемией считают повышенное выявление (в мазках или методом культивирования) из тканей и жидкостей организма таких часто или редко встречающихся микроорга-

низмов, которые не коррелируют с клиникой возникших заболеваний (если исходить из того, что данные заболевания должны быть вызваны указанными микробами). Сообщения о псевдоинфекциях и псевдоэпидемиях впервые появились в литературе в конце 1960-х годов. Псевдобактериемии — наиболее частый из описанных типов псевдоинфекций; за ними следуют псевдопневмонии и псевдоменингит (табл. 17—19). Имеются также единичные публикации о других псевдоинфекциях, связанных с различными органами и тканями (табл. 20 и 21) [120, 121].

Псевдобактериемии — по-видимому, наиболее интересный тип псевдоэпидемий (см. табл. 17). Возбудителями этих инфекций бывают различные микробы; в некоторых больницах зарегистрированы крупные вспышки. Неясным остался вопрос о числе больных, которые были инфицированы в результате псевдобактериемий. Если в подобных случаях кровь больных каким-то образом попадает в организм других больных, то небольшое, но значимое число больных фактически заражается в связи с псевдобактериемией. Согласно данным литературы, в период с 1969 по 1984 г. шестнадцать больных оказались зараженными при вспышках псевдобактериемий. Интересно также проследить, как часто клиницисты, получившие результаты лабораторных исследований при псевдобактериемиях, назначают фактически ненужную противомикробную терапию. При псевдобактериемиях, зарегистрированных с 1969 по 1984 г., подобный необоснованный курс лечения был назначен 67 больным. При большинстве псевдоэпидемий выделение редко встречающегося вида микроорганизмов расценивается как доказательство псевдоинфекции. Наиболее затруднительной бывает постановка диагноза, когда известные патогены выделяют как микроорганизмы, ответственные за псевдоэпидемию, например, *E. coli*, *S. aureus*, *Klebsiella* и *Pseudomonas* sp. При подобных псевдобактериемиях в большом проценте случаев назначалось лечение антимикробными препаратами. Псевдобактериемии чаще всего бывают связаны с контаминированными системами сбора для обработки проб крови. Иногда такую роль играют контаминированные растворы дезинфектантов, а также контаминированные автоматизированные анализаторы (культуры) крови [122—148].

Начиная с 1973 г. в литературе опубликовано 10 отдельных сообщений о псевдоинфекции легких. Хотя точные цифры получить трудно, но по меньшей мере у одного больного заболевание было связано с загрязненным фиброоптическим бронхоскопом. Относительно частоты контаминации обезболивающих растворов и фиброоптических бронхоскопов следует отметить, что, согласно данным литературы, только один больной был инфицирован в результате контакта с контамини-

нированными жидкостями и инструментами. В отличие от псевдобактериемии псевдопневмонии достаточно редко бывают следствием необоснованной антимикробной терапии. В литературе описаны лишь два подобных случая (см. табл. 18) [148—158].

Псевдоменингит представляет собой редкую, но достаточно серьезную проблему. Хотя по сравнению с псевдопневмониями или псевдобактериемиями, данным заболеванием поражается меньше больных, тем не менее число таких больных, инфицированных вследствие необоснованной противомикробной терапии, пропорционально выше, чем с любой другой формой суперинфекции. В обзоре соответствующей литературы указано, что 14 из 27 больных заболели после эмпирического лечения, проведенного в связи с ложноположительной окраской бактерий по Граму или с ложноположительными результатами бактериологического исследования спинномозговой жидкости. Наиболее часто псевдоменингит бывает связан с контаминированными пробирками для отбора проб или с загрязненными транспортными средами (см. табл. 19) [159—164].

Псевдоэндокардит был впервые описан в 1976 г.; о более крупной вспышке заболевания сообщил Aber в 1980 г. В его сообщении упоминается о трех больных; одному из них была назначена необоснованная терапия. Следует отметить, что в контаминированном бульоне, применявшемся для увлажнения проб тканей, получаемых при открытых операциях на сердце, были обнаружены нежизнеспособные грамположительные кокки. Предположение об эндокардите возникло в связи с тем, что грамположительные кокки являются наиболее частой причиной инфекции после открытых операций на сердце; поэтому была начата антибиотикотерапия (см. табл. 20) [127, 165]. Начиная с середины 1970-х годов в литературе появляются описания различных других видов псевдоэпидемий. Приводятся данные о псевдогепатите, псевдоадениите, псевдобактериурии и ложных раневых инфекциях. Такие случаи довольно редки, но на них следует обращать внимание, и можно предположить, что в дальнейшем подобные псевдоинфекции будут возникать чаще, и их характер будет более разнообразным. Серьезность проблемы подтверждается гиперэндемической частотой выделения различных патогенных возбудителей, а также выделением необычных микроорганизмов, которые не коррелируют с клинической картиной заболеваний, протекающих в больницах. При этих псевдоинфекциях не было отмечено заражения других больных; необоснованная терапия была начата у трех человек. Различные механизмы псевдоэпидемий приведены в табл. 21 [127, 159, 162, 163, 166—168].

Таблица 17. Псевдобактериемии

Автор (год)	Источник литературы, №	Микроорганизм	Число пораженных больных	Число инфицированных больных	Число пораженных больных, подвергнутых лечению	Проблема
Norden (1969)	122	<i>Escherichia coli</i>	7	0	7	Контаминированная пенициллиназа в кровяной питательной среде
Faris, Sparling (1972)	123	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	27	3	4	Контаминированная пенициллиназа в кровяной питательной среде
DuClos и сопр. (1973)	124	<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	8	1	1	Контаминированные штативы для пробирок с кровью или с гемокультурой
Noble, Reeves (1974)	125	<i>Bacillus sp.</i>	26	0	0	Контаминированные кровяные питательные среды
Kaslow и сопр. (1976)	126	<i>Pseudomonas cepacia</i>	79	3	4	Контаминированный бензалькониум-хлорид, используемый при венепункциях
Coyle-Gilchrist и сопр. (1976)	127	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	6	0	0	Контаминированный хлорогексидиновый раствор, используемый при венепункциях
Hoffman и сопр. (1976)	128	<i>Serratia marcescens</i>	40	0	0	Перекрестная контаминация между гемокультурами и бактериями из нестерильных пробирок для забора крови
Snydman и сопр. (1977)	129	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	11	0	2	Дефектная методика гемокультур (тампоны контаминированы бактериями)
Semel и сопр. (1978)	130	<i>Pseudomonas maltophilia</i>	25	1	3	Перекрестная контаминация между гемокультурами и бактериями из нестерильных пробирок для забора крови
CDC и сопр. (1979)	131	<i>Staphylococcus aureus</i>	11	0	5	Гемокультуры, контаминированные «колонизированным» (носоглотка) лабораторантом
Lynch и сопр. (1980)	132	<i>Clostridium sor-dellii</i>	11	0	0	Контаминированный тимеросалевый раствор/пленки кровяных сред
Jones и сопр. (1980)	133	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	22	0	0	Гемокультуры, контаминированные во влажном инкубаторе
Spivack и сопр. (1980)	134	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	0	Кровяные среды, контаминированные врачом
CDC и сопр. (1980)	135	<i>Aerococcus viridans</i>	7	0	0	Недостаточно дезинфицированные штативы для флаконов с гемокультурой
Berkelman и сопр. (1981)	138	<i>Pseudomonas cepacia</i>	30	0	0	Контаминированный раствор йод-повидона, используемый при венепункциях и для дезинфекции штативов для флаконов с гемокультурой
Graham и сопр. (1981)	137	<i>Enterobacter cloacae</i>	7	0	1	Контаминированный тромбин во флаконах для гемокультуры
Greenhood и сопр. (1982)	139	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	7*	6	Контаминированная игла для забора проб в автоматизированном анализаторе культуры крови
Griffin и сопр. (1982)	140	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0	1	Недостаточно стерилизованная игла в автоматизированном анализаторе крови
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	1			
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1			

Автор (год)	Источник литературы, №	Микроорганизм	Число пораженных больных	Число инфицированных больных	Число пораженных больных, подвергнутых лечению	Проблема
MacDonald (1982)	141	Bacillus sp.	36	0	0	Контаминированные шприцы
Berger (1983)	142	Bacillus sp.	15	0	0	Контаминированные ватные пробки стерильных флаконов для гемокультуры в автоматизированном анализаторе культуры крови
Keys и сотр. (1983)	143	Pseudomonas stutzeri	24	1	21	Контаминированный раствор зеленого мыла
Whiteside и сотр. (1983)	144	Streptococcus faecalis (Enterococcus)	8	0	2	Перекрестная контаминация в автоматизированном анализаторе культуры крови
Crowley и сотр. (1983)	145	Bacillus sp.	15	0	0	Контаминированный сердечно-мозговой инфузионный бульон
Craven и сотр. (1984)	146	Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis Streptococcus sp. Escherichia coli	11 10 1 1	0	3	Недостаточно стерилизованная игла в автоматизированном анализаторе культуры крови
Donowitz, Schwartzman (1984)	147	Streptococcus bovis	1	0	1	Недостаточно очищенная игла в автоматизированном анализаторе крови
Gurevich и сотр. (1984)	148	Bacillus sp.	26	0	1	Контаминированная спорами игла в автоматизированном анализаторе культуры крови

* Вероятно инфицированные (по критериям авторов).

Таблица 18. Псевдопневмонии

Автор (год)	Источник литературы, №	Микроорганизм	Число пораженных больных	Число инфицированных больных	Число пораженных больных, подвергнутых лечению	Проблема
Schaffner и сотр. (1973)	149	Pseudomonas ceracia	22	0	0	Контаминация местных обезболивающих средств, применяемых при фиброоптической бронхоскопии
Gangadarma и сотр. (1976)	150	Mycobacterium gordonae	7	0	0	Водопроводная вода, контаминированная мокротой (при полоскании рта больными перед сбором мокроты)
Surratt и сотр. (1977)	151	Pseudomonas aeruginosa	103	0	0	Контаминированный фибробронхоскоп
Kellerhals и сотр. (1978)	152	Serratia marcescens	8	1	1	Контаминированный фибробронхоскоп
Steele и сотр. (1979)	153	Mycobacterium gordonae	52	0	1	Загрязнение проб, получаемых при бронхоскопии, местными красителями-анестетиками
Schleupner, Hamilton (1980)	154	Penicillium/Trichosporon	8	0	0	Контаминация бронхиальных смывов местными анестезирующими препаратами (кокаином)
Nunez и сотр. (1982)	155	Coccidioides immitis	7	0	0	Предметные стекла, контаминированные спорами
Schanbacher и сотр. (1983)	156	Mycobacterium gordonae Mycobacterium avium	>100	0	0	Бронхоскоп, контаминированный водой с глутаральдегидом
Vogel, Neu (1983)	157	Penicillium sp.	21	0	0	Контаминированные щипцы для получения биоптатов при бронхоскопии
Goodman и сотр. (1984)	158	Mycobacterium marinum	5	0	1	Пробы, контаминированные лабораторным персоналом

Т а б л и ц а 19. Псевдоменингит

Автор (год)	Источник литературы, №	Микроорганизм	Число пораженных больных	Число инфицированных больных	Число пораженных больных, подвергнутых лечению	Проблема
Musher, Schell (1973)	159	Грамотрицательные кокки	4	0	0	Контаминированные стеклянные пробирки для проб
Weinstein и сопр. (1975)	160	Грамотрицательные бактерии	5	0	1	Контаминированные пробирки для проб в распределительном штативе
Coyle-Gilchrist и сопр. (1976)	127	Flavobacterium meningosepticum	1	1	1	Контаминированный мыльный раствор, используемый для обработки кожи
Ericsson и сопр. (1978)	161	Грамотрицательные бактерии	11	0	8	Контаминация флаконов для спирта и предметных стекол
Ноке и сопр. (1979)	162	Грамотрицательные бактерии	2	0	2	Контаминированные транспортные среды
CDC и сопр. (1983)	163	Грамотрицательные бактерии	1	0	1	Контаминированные транспортные среды
Harris и сопр. (1983)	164	Salmonella typhimurium	3	0	1	Контаминированные резиновые баллоны шаровых инпеток

Т а б л и ц а 20. Псевдоэндокардит

Автор (год)	Источник литературы, №	Микроорганизм	Число пораженных больных	Число инфицированных больных	Число пораженных больных, подвергнутых лечению	Проблема
Coyle-Gilchrist и сопр. (1976)	127	Flavobacterium meningosepticum	1	0	0	Контаминированный раствор, используемый для обработки кожи при введении внутрисердечного катетера
Aber, Appelbaum (1983)	165	Грамположительные кокки	3	0	1	Контаминация бульона нежизнеспособными грамположительными кокками

Т а б л и ц а 21. Псевдоэпидемии

Автор (год)	Источник литературы, №	Микроорганизм	Число пораженных больных	Число инфицированных больных	Число пораженных больных, подвергнутых лечению	Проблема
Псевдогепатит Weinstein и сотр. (1975)	160	Кислотоустойчивые бактерии	2	0	0	Пробы на кислотоустойчивые бактерии, контаминированные лабораторным персоналом
Лахолп и сотр. (1981)	167	Вирус гепатита В	7	0	0	Контаминация автоматизированных пипеток для разведения
Псевдоаденит Goodman и сотр. (1984)	158	Mycobacterium marinum	2	0	0	Посев на кислотоустойчивые бактерии, контаминированный лаборантом
Псевдобактериурия John, Twitty (1982)	168	Pseudomonas ceracia	44	0	0	Контаминированный раствор дезинфектанта
Ложная раневая инфекция Coyle-Gilchrist и сотр. (1976)	127	Flavobacterium meningosepticum	3	0	0	Контаминированный мыльный раствор, используемый для обработки кожи
CDC и сотр. (1978)	163	Грамотрицательные бактерии	4	0	1	Контаминированные транспортные среды
Ноке и сотр. (1979)	162	Грамотрицательные бактерии	2	0	2	Контаминированные транспортные среды

Микробиологические исследования при псевдоэпидемиях

Выявление факта существования псевдоэпидемий имеет решающее значение для анализа и решения этой проблемы. Бригада по борьбе с инфекцией и лабораторный персонал должны внимательно следить за возникновением каждого необычного подъема выделения любого микроорганизма из того или иного вида органов и тканей или из предметов внешней среды в больнице. Выделение «необычных» микробов с большей частотой, чем это обычно наблюдается, также может сигнализировать специалистам о возможности вспышки или псевдоэпидемии. Методы исследования вспышек общеизвестны, однако микробиологический контроль за псевдоэпидемиями вплоть до настоящего времени еще не разработан. В связи с этим ниже представлены некоторые положения для руководства по данному вопросу [12, 120, 121].

Псевдобактериemia

Предметы окружающей среды

1. Бактериологическое исследование материалов, применяемых для нейтрализации антибиотиков, а также антикоагулянтов, добавляемых во флаконы для гемокультуры.

2. Бактериологическое исследование фиксаторов, диафрагм и колпачков флаконов для гемокультуры.

3. Бактериоскопическое и бактериологическое исследование кровяных сред с целью выявления жизнеспособных и нежизнеспособных бактерий-загрязнителей. Бактериологическое исследование флаконов для гемокультуры после их опорожнения.

4. Бактериологическое исследование дезинфицирующих растворов, применяемых в целях обработки флаконов для гемокультуры и для протирания кожи перед венепункцией. Проверка отсутствия перекрестной контаминации между пробирками для гемокультуры и нестерильными флаконами.

5. В случаях использования автоматических приборов для бактериологического исследования крови следует проверять иглы на загрязнение детритом, а также контролировать температуру, при которой иглы подвергаются стерилизации. Выявляют наличие спор бактерий в пыли, содержащейся внутри приборов.

Массовое бактериологическое исследование лабораторного и медицинского персонала проводят только в тех случаях, если вспышка вызвана *S. aureus*.

Псевдоменингит

Окружающая среда

Сравнивают результаты бактериоскопического и бактериологического исследования пробирок, пипеток, предметных стекол и воды, используемых для обработки спинномозговой жидкости.

Персонал

Необходимость в бактериологическом обследовании лабораторного персонала, обрабатывающего пробы, отсутствует.

Псевдоэндокардит

Окружающая среда

Бактериологическому исследованию подвергают все материалы, добавляемые персоналом микробиологических и патологоанатомических лабораторий к биоптатам сердечной мышцы и пробам различных тканей.

Персонал

Необходимость в бактериологическом обследовании лабораторного персонала, обрабатывающего пробы, отсутствует.

Псевдопневмония

Окружающая среда

Бактериологическому исследованию подвергают все дезинфицирующие и обезболивающие препараты, а также растворы красок, применяемые при бронхоскопии.

Пинцеты, используемые для получения биоптатов при бронхоскопии, подвергают бактериологическому исследованию в целях определения полноты процедуры дезинфекции и определения контаминации после этой процедуры.

Персонал

Бактериологическое обследование лабораторного персонала, обрабатывающего пробы, проводят только в тех случаях, когда все другие исследования дали отрицательный результат.

После того, как установлено, что та или иная вспышка не является истинной, а представляет собой псевдоэпидемию, следует попытаться выявить источник или резервуар этой ложной вспышки путем бактериологического обследования отдельных лиц или предметов внешней среды.

При лабораторном исследовании псевдоэпидемий чаще всего выявляется загрязнение предметов окружающей среды кровью больных. Поэтому следует особенно тщательно исследовать все материалы и приборы, связанные с обработкой кожи, а также со сбором или обработкой крови. Если в больнице используют автоматизированный анализатор культуры крови, то необходимо выяснить, насколько тщательно стерилизуются иглы и не контаминируются ли они спорами или детритом. Массовое бактериологическое обследование лабораторного и медицинского персонала не может считаться обоснованным (за исключением случаев бактериемии, вызванных *S. aureus*).

Выше приведены указания по бактериологическим исследованиям при псевдоменингите, псевдоэндокардите и псевдопневмониях. Следует еще раз подчеркнуть, что бактериологическое обследование лабораторного персонала обычно ничего не дает и, следовательно, необязательно. Лишь в редких случаях, обычно при псевдопневмониях, лабораторный персонал

играет роль фактора, обуславливающего возникновение вспышки.

В заключение следует сказать, что бригада по борьбе с инфекцией в больнице и лабораторный персонал должны всегда быть настороже относительно возможности возникновения псевдоэпидемий. Истинные вспышки, как правило, чаще встречаются и легче распознаются, чем псевдоэпидемии. Что касается последних, то они также являются проблемой, поскольку связаны тем или иным образом с истинной инфекцией, а также с необоснованным проведением противомикробной терапии некоторым больным или с излишне длительным сроком госпитализации. Кроме того, псевдоэпидемии позволяют лучше понять потенциальные недостатки оборудования, применяемого в клинической медицине. Раннее выявление и ликвидация псевдоэпидемий имеют большое значение не только для больных, но и для всего лечебного учреждения, поскольку уменьшают экономический ущерб, наносимый этими вспышками. В подобных случаях, как известно, затрачиваются многие тысячи долларов, и огромное число рабочих часов уходит на проведение бактериологических исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mallison G. F.* Monitoring of sterility and environmental sampling in programs for the control of nosocomial infections. — In: *Infection Control in Health Care Facilities: Microbiological Surveillance*/Eds. K. R. Cundy, W. Ball. Baltimore, University Park Press, 1977, pp. 23—31.
2. American Hospital Association, Committee on Infections within Hospitals: Statement on microbiologic sampling in the hospital. — *Hospitals*, 1974, 48, 125—126.
3. Joint Commission on Accreditation of Hospitals Infection Control—Standards Adopted by Board of Commissioners. Chicago, Joint Commission on Accreditation of Hospital, December, 1975.
4. *Simmons B. P.* Centers for Disease Control guidelines for hospital environmental control—microbiologic surveillance of the environment and of personnel in the hospital. — *Infect. Control*, 1981, 2, 145—146.
5. *Branson D.* In: *Methods in Clinical Bacteriology: A Manual of Tests and Procedures*/Ed. A. Balows. — Springfield, IL, Charles C. Thomas, 1972, pp. 93—94.
6. *McGuckin M. B., Kaplan L.* The central service department. — In: *The Theory and Practice of Infection Control*/Eds. I. Gurevich, P. Tafuro, B. A. Cunha. — New York, Praeger, 1984, pp. 117—129.
7. *Goldmann D. A.* Laboratory procedures for infection control. — *Manual of Clinical Microbiology*/Eds. E. H. Lennette, A. Balows, W. J. Hausler Jr., J. P. Truant, ed. 3. — Washington, DC, American Society for Microbiology, 1980, pp. 939—951.
8. *Gurevich I., Holmes J. E., Cunha B. A.* Presumed autoclave failure due to false-positive spore strip tests. — *Infect. Control*, 1982, 3, 388—392.
9. *Favero M. S., Peterson N. J.* Microbiologic guidelines for hemodialysis systems. — *Dialysis Transplant.*, 1977, 6, 34—36.
10. *Bartlett R. C., Bennett J. V., Weinstein R. A., Mallison G. F.* The microbiology laboratory: its role in surveillance, investigation and control. —

- In: Hospital Infections/Eds. J. V. Bennett, P. S. Brachman. — Boston, Little, Brown, and Co., 1979, p. 147.
11. Centers for Disease Control The role of the microbiology laboratory in surveillance and control of nosocomial infections. National Nosocomial Infections Study Report, Annual Summary, 1974. — Atlanta, Centers for Disease Control, 1977, p. 27.
 12. *Dixon R. E.* Investigation of endemic and epidemic infections. — In: Hospital Infections/Eds. J. V. Bennett, P. A. Brachman. — Boston, Little, Brown, and Co., 1979, p. 63.
 13. *MacGregor R. B., Beaty H. N.* Evaluation of positive blood cultures: guidelines for early differentiation of contamination from valid positive cultures. — Arch. Intern. Med., 1972, 130, 84—87.
 14. *Tajuro P., Ristuccia P.* Recognition and control of outbreaks of nosocomial infections in the intensive care setting. — Heart Lung., 1984, 13, 486—494.
 15. *Gurevich I.* Appropriate collection of specimens for culture and sensitivity. — Am. J. Infect. Control, 1980, 8, 113—119.
 16. *Bartlett R. C.* Medical Microbiology. — New York, John Wiley and Sons, 1974.
 17. *Tajuro P., Ristuccia P.* Recognition and control of outbreaks of nosocomial infections in the intensive care setting. — Heart Lung., 1984, 13, 486—94.
 18. *Neu H. C.* Unusual nosocomial infections. — DM, 1984, 30, 3—68.
 19. *Stamm W. E., Weinstein R. A., Dixon R. E.* Comparison of endemic and epidemic nosocomial infections. — Am. J. Med., 1981, 70, 393—397.
 20. *McGowan J. E.* The role of the laboratory in control of nosocomial infection. — Infect. Control, 1984, 5, 144—148.
 21. *Bauer A. W., Kirby W. M. M., Sherris J. C., Turck M.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. — Am. J. Clin. Pathol., 1963, 45, 493—496.
 22. Federal Register Rules and regulations: antibiotic susceptibility disks.— Fed. Regist., 1972, 37, 20525—20529.
 23. National Committee for Clinical Laboratory Standards Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. — In: Approved Standards ASM-2, ed. 2. — Villanova, PA., National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1979.
 24. *Brown D., Blowers R.* Disc methods of sensitivity testing and other semiquantitative methods. — In: Laboratory Methods in Antimicrobial Chemotherapy/Eds. D. S. Reeves, I. Phillips, J. D. Williams, R. Wise. — New York, Churchill Livingstone, 1978, pp. 8—30.
 25. *Mackowiak P. A.* Direct effect of hyperthermia on pathogenic microorganisms: teleologic implications with regard to fever. — Rev. Infect. Dis., 1981, 3, 508—520.
 26. *Mackowiak P. A., Rudeman A. E., Martin R. M. et al.* Effects of physiologic variations in temperature on the rate of antibiotic-induced bacterial killing. — Am. J. Clin. Pathol., 1981, 76, 57—62.
 27. *Mackowiak P. A., Marling-Cason U., Cohen R. L.* Effects of temperature on antimicrobial susceptibility of bacteria. — J. Infect. Dis., 1982, 145, 550—553.
 28. *Annear D. I.* The effect of temperature on resistance of *Staphylococcus aureus* to methicillin and some other antibiotics. — Med. J. Aust., 1968, 1, 444—446.
 29. *Thornsberry C.* Methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci.— Antimicrob. Newslett., 1984, 1, 43—47.
 30. *Reller L. B., Schoenknecht F. D., Kenny M. A., Sherris J. C.* Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. — J. Infect. Dis., 1974, 130, 454—463.
 31. *D'Amato R. F., Thornsberry C., Baker C. N., Kirven L. A.* Effect of calci-

- um and magnesium ions on the susceptibility of *Pseudomonas* species to tetracycline, gentamicin, polymyxin B and carbenicillin. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1975, 7, 596—600.
32. Pollock H. M., Minshew B. H., Kenny M. A., Schoenknecht F. D. Effect of different lots of Mueller-Hinton agar on the interpretation of the gentamicin susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1978, 14, 360—367.
 33. Washington J. A., Snyder R. J., Kohner P. C. et al. Effect of cation content of agar on the activity of gentamicin, tobramycin and amikacin against *Pseudomonas aeruginosa*. — *J. Infect. Dis.*, 1978, 137, 103—111.
 34. Thornsberry C., Gavan T. L., Gerlach E. H. New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. — In: *Cumitech 6/Ed. J. C. Sherris*. — Washington, DC, American Society for Microbiology, 1977.
 35. Jones R. N. The status of the art: a look at the past, present and antimicrobial susceptibility testing trends as monitored by the College of American Pathologists Laboratory Proficiency Survey, 1979 Aspen Conference. — Skokie, IL, College of American Pathologists, 1981.
 36. Sanders C. C. Failure to detect resistance in antimicrobial susceptibility tests. — *Antimicrob. Newslett.*, 1984, 1, 27—31.
 37. Thiemeke W. A., Nathan D. M. Simultaneous nosocomial outbreaks caused by multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* types 2 and 30. — *J. Clin. Microbiol.*, 1978, 8, 769—771.
 38. Thornsberry C., Gavan T. L., Sherris J. C. et al. Laboratory evaluation of a rapid, automated susceptibility testing system: report of a collaborative study. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1975, 7, 466—480.
 39. Kelly M. T., Latimer J. M., Balfour L. C. Comparison of three automated systems for antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacilli. — *J. Clin. Microbiol.*, 1982, 15, 902—905.
 40. Thornsberry C., Anhalt J. P., Washington J. A. et al. Clinical laboratory evaluation of the Abbott MS-2 automated antimicrobial susceptibility testing system: report of a collaborative study. — *J. Clin. Microbiol.*, 1980, 12, 375—390.
 41. Isenberg H. D., D'Amato R. F., McKinley G. A. et al. Collaborative evaluation of the UniScept quantitative antimicrobial susceptibility test. — *J. Clin. Microbiol.*, 1984, 19, 733—735.
 42. Sherris J. C., Ryan K. J. Evaluation of automated and rapid methods. — In: *Rapid Methods and Automation in Microbiology—1981/Ed. R. C. Tilton*. — Washington, DC, American Society for Microbiology, 1982, p. 1.
 43. Boyce J. M., White R. L., Bonner M. C., Lockwood W. R. Reliability of the MS-2 system in detecting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. — *J. Clin. Microbiol.*, 1982, 15, 220—225.
 44. Cleary T. J., Maurer D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* susceptibility testing by an automated system, Autobac 1. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1978, 13, 837—841.
 45. Mayo J. B., Kiehn T. E., Wong B. et al. Examination of *Pseudomonas aeruginosa*-gentamicin discrepancies encountered in an Autobac 1-disc diffusion comparison. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1982, 21, 312—415.
 46. Hanson S. L., Freedy P. K. Concurrent comparability of automated systems and commercially prepared microdilution trays for susceptibility testing. — *J. Clin. Microbiol.*, 1983, 17, 878—886.
 47. Tilton R. C., Isenberg H. D. Evaluation of the performance parameters of a prediluted quantitative antibiotic susceptibility test device. — *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1977, 11, 271—276.
 48. Lorian V. Effects of subminimum inhibitory concentrations of antibiotics on bacteria. — In: *Antibiotics in Laboratory Medicine/Ed. V. Lorian*. — Baltimore, Williams and Wilkins, 1980, p. 342.
 49. Stone L. L., Junkind D. L. False-susceptible results from the MS-2 system used for testing resistant *Pseudomonas aeruginosa* against two

- third-generation cephalosporins, moxalactam and cefotaxime. — *J. Clin. Microbiol.*, 1983, 18, 389—394.
50. *Schoenknecht F. D., Sherris J. C.* Recent trends in antimicrobial susceptibility testing. — *Lab. Med.*, 1980, 11, 824—832.
 51. *Butler D. A., Lobregat C. M., Gavan T. L.* Reproducibility of the Analytab (API 20E) system. — *J. Clin. Microbiol.*, 1975, 2, 322—326.
 52. *Sneath P. H. A., Johnson R.* The influence on numerical taxonomic similarities of errors in microbiological tests. — *J. Gen. Microbiol.*, 1972, 72, 377—392.
 53. *Barry A. L., Gavan T. L., Smith P. B. et al.* Accuracy and precision of the Autobac system for rapid identification of gram-negative bacilli: a collaborative evaluation. — *J. Clin. Microbiol.*, 1982, 15, 1111—1119.
 54. *Edward P. R., Ewing W. H.* Identification of Enterobacteriaceae, ed. 4. Minneapolis, Burgess, 1972.
 55. *Finegold S. M., Martin W. J.* (eds.) *Diagnostic Microbiology*, ed. 6. — St. Louis, CV Mosby, 1982, p. 560.
 56. *Olcen P., Danielsson D., Kjellander J.* The use of protein A-containing staphylococci sensitized with anti-meningococcal antibodies for grouping *Neisseria meningitidis* and demonstration of meningococcal antigen in cerebrospinal fluid. — *Acta Pathol. Microbiol. Scand. (B)*, 1975, 83, 387—396.
 57. *Feldman W. E.* Relation of concentrations of bacteria and bacterial antigen in cerebrospinal fluid to prognosis in patients with bacterial meningitis. — *N. Engl. J. Med.*, 1977, 296, 433—435.
 58. *Finch C. A., Wilkinson H. W.* Practical considerations in using counter-immunoelectrophoresis to identify the principle causative agents of bacterial meningitis. — *J. Clin. Microbiol.*, 1979, 10, 519—524.
 59. *Kohler G., Milstein C.* Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. — *Nature*, 1975, 256, 495—497.
 60. *Blann A. D.* Cell hybrids: an important new source of antibody production. — *Clin. Lab. Sci.*, 1979, 36, 329—338.
 61. *Kennett R. H.* Monoclonal antibodies. — Hybrid myelomas—a revolution in serology and immunogenics. — *Am. J. Hum. Genet.*, 1979, 31, 539—547.
 62. *Goding J. W.* Antibody production by hybridomas. — *J. Immunol. Methods*, 1980, 39, 285—308.
 63. *Milstein C.* Monoclonal antibodies. — *Sci. Am.*, 1980, 243, 66—74.
 64. *Fike D. J.* Hybridomas: their role in the clinical and research laboratories. — *Am. J. Med. Technol.*, 1981, 47, 891—896.
 65. *Koprowski H.* Monoclonal hybridoma antibodies in the diagnosis of rabies. — In: *Immunologic Analysis: Recent Progress in Diagnostic Laboratory Immunology*/Eds. R. M. Nakamura, W. R. Dito, E. S. Tucker.— New York, Masson, 1982, pp. 87—90.
 66. *Bibb W. F., Arnow P. M., Thacker L., McKinney R. M.* Detection of soluble *Legionella pneumophila* antigens in serum and urine specimens by enzyme-linked immunosorbent assay monoclonal and polyclonal antibodies. — *J. Clin. Microbiol.*, 1984, 20, 478—472.
 67. *Norgard M. V., Selland C. K., Kettman J. R., Miller J. N.* Sensitivity and specificity of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of *Treponema pallidum nichols* in the diagnosis of syphilis.— *J. Clin. Microbiol.*, 1984, 20, 711—717.
 68. *Lyerty D. M., Phelps C. J., Wilkins T. D.* Monoclonal and specific polyclonal antibodies for immunoassay of *Clostridium difficile* toxin A. — *J. Clin. Microbiol.*, 1985, 21, 12—14.
 69. *Brown S. L., Bibb W. F., McKinney R. M.* Use of monoclonal antibody in an epidemiologic marker system: a retrospective study of lung specimens from the 1976 outbreak of Legionnaires' disease in Philadelphia by indirect fluorescent antibody and enzyme linked immunosorbent assay methods. — *J. Clin. Microbiol.* 1985, 21, 15—19.

70. *Anderson E. S., Williams R. E. O.* Bacteriophage typing of enteric pathogens and staphylococci and its use in epidemiology. — *J. Clin. Pathol.*, 1956, 9, 94—127.
71. *Aber R. C., Mackel D. C.* Epidemiologic typing of nosocomial microorganisms. — *Am. J. Med.*, 1981, 70, 899—905.
72. *Smith P. B.* Bacteriophage typing. — In: *Infectious Diseases/Ed. P. D. Hoeprich, ed. 2.* — New York, Harper and Row, 1977, p. 118.
73. *Bryan L. E.* Genetics of resistance to antimicrobial agents. — In: *Bacterial Resistance and Susceptibility to Chemotherapeutic Agents.* — New York, Cambridge University Press, 1982, p. 104.
74. *Meyers J., Sanchez D., Etwell L. P., Falkow S.* A simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. — *J. Bacteriol.*, 1976, 127, 1529—1537.
75. *Goldmann D. A., Maccone A. B.* A microbiologic approach to the investigation of bacterial nosocomial infection outbreaks. — *Infect. Control*, 1980, 1, 391—400.
76. *Van Dilla M. A., Langlois R. G., Pinkel D. et al.* Bacterial characterization by flow cytometry. — *Science*, 1983, 220, 620—622.
77. *Langer P. R., Waldrop A. A., Ward D. C.* Enzymatic synthesis of biotin labelled polynucleotides: novel nucleic acid affinity probes. — *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 70, 6633—6637.
78. *Brautigan A. R., Richman D. D., Oxman M. N.* Rapid typing of herpes simplex virus isolates by deoxyribonucleic acid, deoxyribonucleic acid hybridization. — *J. Clin. Microbiol.*, 1980, 12, 226—234.
79. *Stalhandske P., Petterson U.* Identification of DNA viruses by membrane filter hybridization. — *J. Clin. Microbiol.*, 1982, 15, 744—747.
80. *Chou S., Merigan T. C.* Rapid detection and quantitation of cytomegalovirus in clinical urine via DNA hybridization. — *N. Engl. J. Med.*, 1983, 308, 921—925.
81. *Berninger M., Hammer M., Hoyer B., Gerin J. L.* An assay for the detection of the DNA genome of hepatitis B virus in serum. — *J. Med. Virol.*, 1982, 9, 57—68.
82. *Echeverria P., Leksomboon U., Chaicumpa W. et al.* Identification by DNA hybridization of enterotoxigenic *Escherichia coli* in homes of children with diarrhea. — *Lancet*, 1984, 1, 63—66.
83. *Totten P. A., Holmes K. K., Handsfield H. H. et al.* DNA hybridization technique for the detection of *Neisseria gonorrhoeae* in men with urethritis. — *J. Infect. Dis.*, 1983, 148, 462—471.
84. *Rubin E. J.* Klebsiella marker systems. — *Infect. Control*, 1985, 6, 59—63.
85. *Bennett W. P., O'Connor M. L., Wasilaukas B. L.* A comparison of antibiotic susceptibility profiles using single and multiple isolates per patient. — *Infect. Control*, 1985, 6, 157—160.
86. *Keys T. F.* Optimal use of the laboratory for infection control. — In: *Handbook of Hospital Acquired Infections/Ed. R. P. Wenzel.* — Boca Raton, FL, CRC Press, 1981, p. 91.
87. *Donowitz L. G., Marsik F. J., Hoyt H. W., Wenzel R. P.* *Serratia marcescens* bacteremia from contaminated pressure transducers. — *JAMA*, 1979, 242, 1749—1751.
88. Centers for Disease Control: National Nosocomial Infections Study Report, The Infectious Hazards of Pressure Monitoring Devices. — US Department of Health, Education, and Welfare, Annual Summary 1974, March 1977.
89. *Washington J. A.* Initial processing for cultures of specimens. — In: *Laboratory Procedures in Clinical Microbiology/Ed. J. A. Washington.* — New York, Springer-Verlag, 1981, p. 91.
90. *Maki D. G., Weise C. E., Sarafin H. U.* A semiquantitative culture method for identifying intravenous catheter-related infection. — *N. Engl. J. Med.*, 1977, 296, 1305—1309.

91. National Coordinating Committee on Large Volume Parenterals: Recommended procedures for in-use testing of large volume parenterals suspected of contamination or of producing a reaction in a patient. — *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1978, 35, 678—682.
92. *Weissfeld A. S.* Nosocomial infections and hospital epidemiology. — In: *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis/Eds. A. C. Sonnenwirth, L. Jarett, ed. 8.* — St. Louis, CV Mosby, 1980, p. 1971.
93. *Hawkey P. M., Penner J. L., Potten M. R. et al.* Prospective survey of fecal, urinary tract, and environmental colonization by *Providencia stuartii* in two geriatric wards. — *J. Clin. Microbiol.*, 1982, 16, 422—426.
94. *Goldmann D. A.* Bacterial colonization and infection in the neonate. — *Am. J. Med.*, 1981, 70, 417—422.
95. *Tajuro P., Cunha B. A.* Hospital-acquired pneumonias: current concepts on prevention and control. — *Asepsis*, 1981, 3, 2—4.
96. *Maki D. G.* Control of colonization and transmission of pathogenic bacteria in the hospital. — *Ann. Intern. Med.*, 1978, 89, 777—780.
97. *Sprunt K., Leidy G., Redman W.* Abnormal colonization of neonates in an intensive care unit: means of identifying neonates at risk of infection. — *Pediatr. Res.*, 1978, 12, 998—1002.
98. *Haverkorn M. L., Michel M. F.* Nosocomial klebsiellas. I. Colonization of hospitalized patients. — *J. Hyg. (Lond.)*, 1979, 82, 177—193.
99. *Chow A. W., Taylor P. R., Yoshikawa T. T., Guze L. B.* A nosocomial outbreak of infections due to multiply resistant *Proteus mirabilis*: role of intestinal colonization as a major reservoir. — *J. Infect. Dis.*, 1979, 139, 621—627.
100. *Saravolatz L. D., Arking L., Pohlod D. et al.* An outbreak of gentamicin-resistant *Klebsiella pneumoniae*: analysis of control measures. — *Infect. Control*, 1984, 5, 79—84.
101. *Wielunsky E., Durcker M., Cohen T., Reisner S. H.* Replacement of gentamicin by amikacin as a means of decreasing gentamicin resistance of gram-negative rods in a neonatal intensive care unit. — *Isr. J. Med. Sci.*, 1983, 19, 1006—1008.
102. *Johanson W. G.* Prevention of respiratory tract infection. — *Am. J. Med.*, 1984, 76, 69—77.
103. *Shibl A. M.* Effect of antibiotics on adherence of microorganisms to epithelial cell surfaces. — *Rev. Infect. Dis.*, 1985, 7, 51—65.
104. *Murray B. E., Moellering R. C. Jr.* Patterns and mechanisms of antibiotic resistance. — *Med. Clin. North Am.*, 1978, 62, 899—919.
105. *Neu H. C.* Changing mechanisms of bacterial resistance. — *Am. J. Med.*, 1984, 77, 11—23.
106. *Davies J.* Microbial resistance to antimicrobial agents. — In: *Antimicrobial Therapy/Eds. A. M. Ristuccia, B. A. Cunha.* — New York, Raven Press, 1984, p. 11.
107. *Sherris J. C., Minshew B. H.* Mutational antibiotic resistance. — In: *Antibiotics in Laboratory Medicine/Ed. V. Lorian.* — Baltimore, Williams and Wilkins, 1980, p. 418.
108. *Sanders C. C.* Inducible β -lactamases and non-hydrolytic resistance mechanisms. — *J. Antimicrob. Chemother.*, 1984, 13, 1—3.
109. *Sanders C. C., Moellering R. C. Jr., Martin R. R. et al.* Resistance to cefamandole: a collaborative study of emerging clinical problems. — *J. Infect. Dis.*, 1982, 145, 118—125.
110. *Sanders C. C., Sanders W. E. Jr.* Emergence of resistance during therapy with the newer β -lactam antibiotics: role of inducible β -lactamases and implications for the future. — *Rev. Infect. Dis.*, 1983, 5, 639—648.
111. *Levy S. B.* Man, animals and antibiotic resistance. — *Pediatr. Infect.*, 1985, 4, 3—5.
112. *Sanders C. C., Sanders W. E.* Microbial resistance to newer generation β -lactam antibiotics: clinical and laboratory implications. — *J. Infect. Dis.*, 1985, 151, 399—406.

113. Jones R. N. Changing patterns of resistance to new beta-lactam antibiotics. — *Am. J. Med.*, 1984, 77, 29—34.
114. Price K. E., Kresel P. A., Farchione L. A. et al. Epidemiological studies of aminoglycoside resistance in the U. S. A. — *J. Antimicrob. Chemother.*, 1981, 8 (S-A), 89—105.
115. Yurasek M. C., Wang W. L., Mostow S. R. Reduction in gentamicin resistance among gram-negative bacilli with the exclusive use of amikacin (abstract). — *Clin. Res.*, 1981, 29, 92A.
116. Moody M., deJongh C. A., Schimpff S. C., Tillman G. L. Long-term amikacin use: effects on aminoglycoside susceptibility patterns of gram-negative bacilli. — *JAMA*, 1982, 248, 1199—1202.
117. Betts R. F., Valenti W. M., Chapman S. W. et al. Five-year surveillance of aminoglycoside usage in a university hospital. — *Ann. Intern. Med.*, 1984, 100, 219—222.
118. Sanders C. C. Failure to detect resistance in antimicrobial susceptibility tests: a "very-major" error of increasing concern. — *Antimicrob. Newslett.*, 1984, 1, 27—31.
119. Schaberg D. R., Haley R. W., Highsmith A. K. et al. Nosocomial bacteriuria: a prospective study of case clustering and antimicrobial resistance. — *Ann. Intern. Med.*, 1980, 93, 420—424.
120. Maki D. G. Through a glass darkly. Nosocomial pseudoepidemics and pseudobacteremias. — *Arch. Intern. Med.*, 1980, 140, 26—28.
121. Weinstein R. A., Stamm W. E. Pseudoepidemics in hospital. — *Lancet*, 1977, 2, 862—864.
122. Norden C. W. Pseudosepticemia. — *Ann. Intern. Med.*, 1969, 71, 789—790.
123. Faris H. M., Sparling F. F. Mima polymorpha bacteremia. False-positive cultures due to contaminated penicillinase. — *JAMA*, 1972, 219, 76—77.
124. DuClos T. W., Hodges G. R., Killian J. E. Bacterial contamination of blood-drawing equipment: a cause of false-positive blood cultures. — *Am. J. Med. Sci.*, 1973, 266, 459—463.
125. Noble R. C., Reeves S. A. Bacillus species pseudosepsis caused by contaminated commercial blood culture media. — *JAMA*, 1974, 230, 1002—1004.
126. Kaslow R. A., Machel D. C., Mallison G. F. Nosocomial pseudobacteremia. Positive blood cultures due to contaminated benzalkonium antiseptic. — *JAMA*, 1976, 236, 2407—2409.
127. Coyle-Gilchrist M. M., Crewe P., Roberts G. Flavobacterium meningosepticum in the hospital environment. — *J. Clin. Pathol.* 1976, 29, 824—826.
128. Hoffman P. C., Arnow P. M., Goldmann D. A. et al. False positive blood cultures—association with nonsterile blood collection tubes. — *JAMA*, 1976, 236, 2073—2075.
129. Snyderman D. R., Maloy M. F., Brock S. M. et al. Pseudobacteremia false-positive blood cultures from mist tent contamination. — *Am. J. Epidemiol.*, 1977, 106, 154—159.
130. Semel J. D., Trenholme G. M., Harris A. A. et al. Pseudomonas maltophilia pseudosepticemia. — *Am. J. Med.*, 1978, 64, 403—406.
131. Centers for Disease Control, Dolan J., Joachim G. R. Pseudobacteremia due to Staphylococcus aureus. — *New York. — MMWR*, 1979, 28, 82—83.
132. Lynch J. M., Anderson A., Camacho F. R. et al. Pseudobacteremia caused by Clostridium sordelli. — *Arch. Intern. Med.*, 1980, 140, 65—68.
133. Jones B. C., Stark F. R., Reordan R., Lancaster M. Pseudo-positive blood cultures caused by contamination in a humidified incubator. — *Infect. Control*, 1984, 5, 109—110.
134. Spivack M. L., Shannon R., Natsios G. A., Wood J. Two epidemics of pseudobacteremia due to Staphylococcus aureus and Aerococcus viridans. — *Infect. Control*, 1980, 1, 321—323.

135. Centers for Disease Control, Spivack M. L. et al. Nosocomial pseudobacteremia. — MMWR, 1980, 29, 243—249.
136. Lewin S., Nicholas P., Soldeviero R. et al. Contaminated povidone-iodine solution. — Northeastern United States. — MMWR, 1980, 29, 553—555.
137. Graham D. R., Wu E., Highsmith A. K., Ginsburg M. L. An outbreak of pseudobacteremia caused by *Enterobacter cloacae* from a phlebotomist's vial of thrombin. — Ann. Intern. Med., 1981, 95, 584—588.
138. Berkelman R. L., Lewin S., Allen J. R. et al. Pseudobacteremia attributed to contamination of povidone-iodine with *Pseudomonas cepacia*. — Ann. Intern. Med., 1981, 95, 32—36.
139. Greenhood G. P., Highsmith A. K., Allen J. R. *Klebsiella pneumoniae* pseudobacteremia due to cross-contamination of a radiometric blood culture analyzer. — Infect. Control, 1981, 2, 460—465.
140. Griffin M. R., Miller A. D., Davis A. C. Blood culture cross-contamination associated with radiometric analyzer. — J. Clin. Microbiol., 1982, 15, 567—570.
141. MacDonald N. Investigation of an outbreak of pseudobacteremia attributed to *Bacillus* species in a general hospital. — Abstracts, 82nd Annual Meeting of the American Society for Microbiology. — Atlanta, March 7—12, 1982, p. 83.
142. Berger S. A. Pseudobacteremia due to contaminated alcohol swabs. — J. Clin. Microbiol., 1983, 18, 974—975.
143. Keys T. F., Melton J., Maker M. D., Lstrup D. M. A suspected hospital outbreak of pseudobacteremia due to *Pseudomonas stutzeri*. — J. Infect. Dis., 1983, 147, 489—493.
144. Whiteside M., Moore J., Ratzan K. An Investigation of enterococcal bacteremia. — Am. J. Infect. Control., 1983, 11, 125—129.
145. Crowley M. M., Shannon R., Spivack M. et al. Pseudobacteremia due to intrinsic contamination of blood culture media by *Bacillus* species (abstract). — Am. J. Infect. Control., 1983, 11, 150.
146. Craven D. E., Lichtenberg D. A., Browne K. F. et al. Pseudobacteremia traced to cross-contamination by an automated blood culture analyzer. — Infect. Control, 1984, 5, 75—78.
147. Donowitz L. G., Schwartzman J. D. Pseudobacteremia and use of the radiometric blood culture analyzer (letter). — Infect. Control, 1984, 5, 266.
148. Gurevich I., Tafuro P., Krystofiak S. et al. Three cultures of *Bacillus* pseudobacteremia related to a radiometric blood culture analyzer. — Infect. Control, 1984, 5, 71—74.
149. Schaffner W., Reisig G., Verrall R. A. Outbreak of *Pseudomonas cepacia* infection due to contaminated anaesthetics. — Lancet, 1973, 1, 1050—1051.
150. Gangadarma P. R. J., Lockhart J. A., Awe R. J., Jenkins D. E. Mycobacterial contamination through tap water (letter). — Am. Rev. Respir. Dis., 1976, 113, 894.
151. Suratt P. M., Gruber B., Wellons H. A., Wenzel R. P. Absence of clinical pneumonia following bronchoscopy with contaminated and clean bronchofiberscopes. — Chest, 1977, 71, 52—54.
152. Kellerhals S. A pseudo-outbreak of *Serratia marcescens* from a contaminated fiberbronchoscope. — Assoc. Practitioners Infect. Control J., 1978, 6, 5—7.
153. Steere A. C., Corrales J., Von Graevenitz A. A cluster of *Mycobacterium gordonae* isolates from bronchoscopy specimens. — Am. Rev. Respir. Dis., 1979, 120, 214—216.
154. Schlepner C. J., Hamilton J. R. A pseudoepidemic of pulmonary fungal infections related to fiberoptic bronchoscopy. — Infect. Control, 1980, 1, 38—42.
155. Nunez D., Stanley C., Robertstad G. W., Drwo D. L. Pseudoepidemic of coccidioidomycosis. — Am. J. Infect. Control, 1982, 10, 68—71.
156. Schanbacher K. J., Stieritz D. D., LeFrock J. L., Gorodetzer M. A. A pseu-

- doepidemic of nontubercular mycobacteriosis (abstract). — *Am. J. Infect. Control*, 1983, 11, 150.
157. *Vogel R., Neu H. C.* A pseudoepidemic of *Penicillium* of fiberoptic bronchoscopy patients (abstract). — *Am. J. Infect. Control*, 1983, 11, 149.
 158. *Goodman R. A., Smith J. D., Kubica G. P. et al.* Nosocomial mycobacterial pseudoinfection in a Georgia Hospital. — *Infect. Control*, 1984, 5, 573—576.
 159. *Musher D. M., Schell R. F.* False-positive gram stains of cerebrospinal fluid (letter). — *Ann. Intern. Med.*, 1973, 79, 603—604.
 160. *Weinstein R. A., Stamm W. E., Anderson R. L.* Early detection of false-positive acid-fast smears. An epidemiological approach. — *Lancet*, 1975, 2, 173—174.
 161. *Ericsson C. D., Carmichael M., Pickering L. K. et al.* Erroneous diagnosis of meningitis due to false-positive gram stains. — *South Med. J.*, 1978, 71, 1524—1525.
 162. *Hoke C. H., Batt J. M., Mirrett S. et al.* False-positive gram-stained smears. — *JAMA*, 1979, 241, 478—480.
 163. Centers for Disease Control, *Batt J. M., Reller L. B.* False-positive Gram stain due to nonviable organisms in sterile commercial transport medium. — *MMWR*, 1978, 27, 23.
 164. *Harris A., Pottage J. C., Fliegelman R. et al.* A pseudoepidemic due to *Salmonella typhimurium*. — *Diagn. Microbiol. Infect., Dis.*, 1983, 1, 335—337.
 165. *Aber R. C., Appelbaum R. C.* Pseudoepidemic of endocarditis in patients undergoing open-heart surgery. — *Infect. Control*, 1983, 1, 97—99.
 166. *Weinstein R. A., Stamm W. E.* Pseudoepidemics in hospitals. — *Lancet*, 1977, 2, 862—864.
 167. *Laxon L., Schultz A., Kane M.* Pseudo outbreak of hepatitis B in a transplant unit may answer transient positive question (abstract). — Annual Conference, Association for Practitioners in Infection Control, 1981, pp. 88—89.
 168. *John J. F., Twitty J. A.* Pseudo-bacteriuria with plasmid-containing *Pseudomonas cepacia*; contamination of rayon balls in benzalkonium chloride (abstract). American Society for Microbiology 1982 Clinical Meeting, p. 83.