

УДК 579.84.044:577.182

## Механизмы резистентности к аминогликозидам у нозокомиальных грамотрицательных бактерий в России: результаты многоцентрового исследования

Г.К. Решедько

НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Смоленск, Россия

Исследовались механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в 4 российских стационарах. Основным механизмом устойчивости являлась продукция аминогликозидомодифицирующих ферментов. Выявлены отличия в фенотипах резистентности к аминогликозидам. В *Смоленской областной клинической больнице* основными фенотипами устойчивости были гентамицин-тобрамицин [54,4% – фермент ANT(2'')] и гентамицин-тобрамицин-нетилмицин [36,1% – фермент AAC(3)-V или комбинация ANT(2'')+AAC(3)-Ia]. В *Краснодарской краевой клинической больнице* преобладали те же фенотипы устойчивости к аминогликозидам. В *Центральной клинической больнице при Управлении делами Президента РФ* (Москва) наряду с фенотипами резистентности гентамицин-тобрамицин (29,2%) и гентамицин-тобрамицин-нетилмицин (36,6%) выявлена перекрестная резистентность к аминогликозидам II и III поколений: фенотип устойчивости гентамицин-амикацин-

исепамицин [комбинация ферментов APH(3')-VI+AAC(3)-I] – у 4,9% штаммов, фенотип гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин [комбинация ферментов APH(3')-VI+ANT(2'')] – у 9,8%, фенотип гентамицин-тобрамицин-нетилмицин-амикацин [комбинация ферментов AAC(6')-I+ANT(2'')] – у 4,9%. В *Главном военном клиническом госпитале (ГВКГ) им. Н.Н. Бурденко* (Москва) выявлены следующие фенотипы резистентности: гентамицин-тобрамицин [продукция ANT(2'')] – 20,4%, гентамицин-тобрамицин-нетилмицин [AAC(3)-V или комбинация ANT(2'')+AAC(6')-I] – 24,1%, гентамицин-тобрамицин-нетилмицин-амикацин-исепамицин [комбинация APH(3')-VI+AAC(3)-V или APH(3')-VI+ANT(2'')+AAC(6')-I] – 12,9%, гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин [комбинация APH(3')-VI+ANT(2'')] – 25,9%, амикацин-исепамицин [фермент APH(3')-VI] – 11,1%.

**Ключевые слова:** аминогликозиды, нозокомиальные инфекции, эпидемиология, антибиотикорезистентность.

## Mechanisms of Resistance to Aminoglycosides in Gram-negative Nosocomial Bacteria in Russia: Results of Multicenter Study

G.K. Rechedko

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

The mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics in Gram-negative nosocomial

pathogens isolated in four Russian hospitals were studied. The most common and almost exclusive mechanism of aminoglycoside resistance was production of aminoglycoside-modifying enzymes. Various phenotypes of resistance were found. In *Smolensk Regional Hospital* the most common phenotype of resistance was gentamicin-

Контактный адрес:

Галина Константиновна Решедько

214019, Смоленск, а/я 5

Факс: (0812) 61-12-94

Эл. почта: galina@antibiotic.ru

tobramycin (54,4%, due to ANT(2'') enzyme) and gentamicin-tobramycin-netilmycin (36,1% – AAC(3)-V or combination of ANT(2'')+AAC(3)-Ia enzymes). The same phenotypes were predominant in *Krasnodar Regional Hospital*. In *Central Clinical Hospital (Moscow)* in addition to gentamicin-tobramycin (29,2%) and gentamicin-tobramycin-netilmycin (36,6%) phenotypes the cross-resistance to 2nd and 3rd aminoglycoside generations has been found: gentamicin-amikacin-isebamycin phenotype of resistance [due to combination of APH(3')-VI+AAC(3)-I enzymes] – in 4,9% of strains, gentamicin-tobramycin-amikacin-isebamycin phenotype [due to combination of APH(3')-VI+ANT(2'')] – in 9,8%, gentamicin-tobramycin-netilmycin-amikacin phenotype [due to combina-

tion of AAC(6')-I+ANT(2'') enzymes] – in 4,9%. In *Main Military Clinical Hospital (Moscow)* the following resistance phenotypes were detected: gentamicin-tobramycin [production of ANT(2'') enzyme] – 20,4%, gentamicin-tobramycin-netilmycin [AAC(3)-V or combination of ANT(2'')+AAC(6')-I enzymes] – 24,1%, gentamicin-tobramycin-netilmycin-amikacin-isebamycin [due to combination of APH(3')-VI+AAC(3)-V or APH(3')-VI+ANT(2'')+AAC(6')-I enzymes] – 12,9%, gentamicin-tobramycin-amikacin-isebamycin [due to combination of APH(3')-VI+ANT(2'') enzymes] – 25,9%, amikacin-isebamycin [APH(3')-VI enzyme] – 11,1%.

**Key words:** aminoglycosides, nosocomial infections, epidemiology, antimicrobial resistance.

## Введение

Наблюдаемый в последние годы рост частоты нозокомиальных инфекций [1] выдвигает повышенные требования к антибактериальной терапии. Основным фактором, ограничивающим эффективность антибиотиков, является формирование и распространение устойчивой микрофлоры. Несмотря на повышение роли грамположительных микроорганизмов в этиологии нозокомиальных инфекций, аэробные грамотрицательные патогены по-прежнему являются доминирующими в стационарах лечебно-профилактических учреждений России [2, 3].

Самым распространенным подходом к терапии грамотрицательных инфекций является назначение комбинации  $\beta$ -лактамов антибиотиков и аминогликозидов, прежде всего II и III поколений (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин и исепамицин) [4]. Однако с каждым годом возрастает число случаев неудач терапии нозокомиальных инфекций, вызванных штаммами, устойчивыми к действию этих антибиотиков [5–9].

Наиболее эффективный путь преодоления резистентности микроорганизмов – создание новых препаратов [10]. Однако реализация такого подхода требует определенного времени и значительных материальных затрат. Более реальный путь борьбы с резистентностью – формирование разумной политики применения антибиотиков, основанной на данных об общих и локальных тенденциях распространения детерминант антибиотикорезистентности [11, 12, 13].

Для антибиотиков в целом и аминогликозидов в частности характерна выраженная зависимость распространения детерминант резистентности от локальных особенностей использования препара-

тов [14, 15]. Рутинная оценка чувствительности к антибиотикам, проводимая в бактериологических лабораториях, не позволяет надежно прогнозировать тенденции распространения устойчивости к аминогликозидам и соответственно осуществлять перспективное планирование выбора антибиотиков [16, 17]. Поэтому большое значение имеет изучение механизмов резистентности к аминогликозидам у клинических изолятов [18, 19].

Основным механизмом устойчивости микроорганизмов к аминогликозидам является модификация молекулы антибиотика бактериальными *аминогликозидомодифицирующими ферментами* (АГМФ). Фосфорилированные, ацетилированные или аденилированные аминогликозиды не способны эффективно связываться с бактериальными рибосомами и нарушать синтез белка, а следовательно, и жизнедеятельность микробной клетки [20, 21, 22].

Механизмы устойчивости изучаются во многих странах [23, 24, 25]. Институт Schering-Plough (США) организовал исследование резистентности к аминогликозидам в 13 странах и представил их в суммарном обзоре. Результаты исследований показали, что штаммы, продуцирующие АГМФ, широко распространены в клиниках многих стран мира.

Так, например, в Греции преобладают ферменты, модифицирующие нетилмицин и амикацин, в Германии – гентамицин и тобрамицин, а в странах Латинской Америки ферменты, модифицирующие гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин и исепамицин, встречаются с одинаковой частотой [26]. В России имеются только отдельные сообщения о механизмах резистентности к аминогликозидам у клинических изолятов [27].

## Материал и методы исследования

В исследование были включены пациенты с нозокомиальными инфекциями, находившиеся на лечении в многопрофильных стационарах – Смоленской областной клинической больницы (СОКБ), Главном военном клиническом госпитале (ГВКГ) им. Н.Н. Бурденко (Москва), Центральной клинической больницы (ЦКБ) при Управлении делами Президента РФ (Москва) и Краснодарской краевой клинической больницы (КККБ). Пациенты лечились в отделениях с интенсивным использованием антибактериальных препаратов: взрослом и детском реанимационных отделениях, отделениях хирургической инфекции и торакальной хирургии, ожоговом и урологическом отделениях.

Отделяемое из ран доставляли в лабораторию в транспортных системах Culturette II и Mini-Tip Culturette (BBL, США), кровь – во флаконах Hemoline (bioMerieux, Франция), мокроту и мочу – в стерильных контейнерах (Sarstedt, Германия). Посев клинического материала проводили на селективные среды МакКонки и Эндо (BBL, США).

Идентификацию микроорганизмов проводили с использованием систем API20E и API20NE (bioMerieux, Франция), определение чувствительности микроорганизмов – согласно рекомендациям Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS) диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтона с помощью дисков с антибиотиками (BBL, США), а также полосок E-тест (AB Biodisk, Швеция) на агаре PDM ASM II (AB Biodisk, Швеция) [28, 29].

Полученные результаты интерпретировали в соответствии с критериями NCCLS [28, 29]. Контроль качества определения чувствительности проводили с использованием контрольных штаммов из Американской коллекции типовых культур (ATCC) *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Для дальнейшего исследования отбирали штаммы, резистентные к одному или более аминогликозидному антибиотику: канамицину, гентамицину и амикацину.

Для определения типов АГМФ использовали фенотипический метод, основанный на соответствии профиля резистентности исследуемого микроорганизма субстратной специфичности вырабатываемого фермента. Для этого использовали диски с 12 аминогликозидами: фортимицином (Fm, 100 мкг/диск), 6'-этилнетилмицином (6Nt, 100 мкг), 2'-этилнетилмицином (2Nt, 100 мкг), 5-ОН-эписизомицином (5Ss, 10 мкг), апрамицином (Am, 100 мкг), исепамицином (Im, 30 мкг), амикацином (30 мкг), гентамицином (10 мкг), тобрамицином

(10 мкг), неомицином (30 мкг), нетилмицином (Nt, 30 мкг) и канамицином (30 мкг).

Диски с фортимицином, 6'-этилнетилмицином, 2'-этилнетилмицином, 5-ОН-эписизомицином, апрамицином были предоставлены профессором G. Miller (Schering Corp., Bloomfield, N.J., США). Диски с исепамицином, амикацином, гентамицином, тобрамицин, неомицином, нетилмицином и канамицином были коммерческого изготовления (BBL, США).

Дополнительно для изучения типов продуцируемых штаммами аминогликозидфосфотрансфераз с помощью метода разведения в агаре определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) ливидомицина (Lm) и бутирозина (Bt) для тестируемых возбудителей. Типы АГМФ определяли по методике G. Miller (США) [30].

Принцип определения изложен в табл. 1.

Несколько не применяемых в практике аминогликозидов (2'-этилнетилмицин и 6'-этилнетилмицин) были включены для того чтобы точно определить различные механизмы резистентности, обусловленной продукцией ферментов AAC(2'), AAC(6'), AAC(3)-V и ANT(2''), поскольку эти антибиотики имеют 2'- и 6'-аминогруппы соответственно инвертированно по сравнению с нетилмицином (табл. 2).

5-Эписизомицин был включен для отличия между ANT(2'') и AAC(3)-III – ферментов, которые оба инактивируют гентамицин, тобрамицин и канамицин. В результате инверсии гидроксильной группы в положении 5 второго кольца 5-эписизомицин является плохим субстратом для ANT(2'')-I, но инактивируется ацетилтрансферазой AAC(3)-III (табл. 3). К тому же 5-эписизомицин является плохим субстратом для AAC(2'), AAC(3)-I, AAC(3)-VI, но может быть использован для выявления продукции AAC(3)-V и AAC(6')-I и AAC(6')-II.

Фортимицин и апрамицин использовались для выявления нарушения проницаемости наружной клеточной мембраны или для определения ферментов, которые могут модифицировать фортимицин или апрамицин (табл. 4).

Важный принцип определения АГМФ (с использованием метода AGRP) – исследование не абсолютной, а изменения относительной активности ко всем 12 аминогликозидам.

Для подтверждения результатов, полученных фенотипическим методом, а также возможного выявления резистентности, связанной с изменением мишени действия аминогликозидов (рибосомальной РНК), была проведена ДНК–ДНК гибридизация на фильтрах Nen фирмы “Du Pont” (США) по методу T. Gootz et al. Для получения радиоактивно-

Таблица 1. Определение типов аминогликозидомодифицирующих ферментов на основании субстратной специфичности\*

Аминогликозид	Тип фермента							
	ANT (2'')	AAC (6')-I	AAC (3)-I	AAC (3)-Ia	AAC (3)-V	APH (3')-I	APH (3')-II	APH (3')-VI
Гентамицин	+	±	+	+	+	-	-	-
Тобрамицин	+	+	-	-	+	-	-	-
Амикацин	-	+	-	-	-	-	-	+
Нетилмицин	-	+	-	+	+	-	-	-
Изепамицин	-	±	-	-	-	-	-	+
2'-Этилнетилмицин	-	+	-	+	+	-	-	-
6'-Этилнетилмицин	-	-	-	+	+	-	-	-
Фортимицин	-	-	+	-	-	-	-	-
Апрамицин	-	-	-	-	-	-	-	-
5-ОН-Эписизомицин	-	+	-	-	-	-	-	-
Канамицин	+	-	-	-	-	+	+	+
Неомицин	-	-	-	-	-	+	+	±
Ливидомицин	-	-	-	-	-	+	-	-
Бутирозин	-	-	-	-	-	-	+	-

\* Плюс (+) – является субстратом для фермента, минус (-) – не является субстратом, плюс-минус (±) – признак не постоянен.

меченных зондов использовали 0,2–0,4 мкг ДНК фрагментов, ник-трансляционный набор «Amersham» (Великобритания) и дезокси-[ $\gamma$ - $^{32}$ P]-ЦТФ отечественного производства, а в качестве ДНК-зондов – внутренние фрагменты генов, кодирующих следующие АГМФ: ANT(2''), AAC(3)-V, APH(3')-I (полученные в лаборатории ГНЦА).

Все исследованные штаммы были параллельно тестированы с помощью метода ДНК–ДНК гибридизации в Институте Schering-Plough (США) с использованием зондов ANT-2''-а, AAC-3-I, AAC-3-Va, AAC-3-Vb, AAC-2'-Ia, AAC-6'-Ib, AAC-6'-Ic, APH-3'-I, APH-3'-II, APH-3'-VI, ANT-4'-II, ANT-3'', ANT-4'-I, APH-2''+6', APH-3'-III, AAC-3-IV, AAC-6'-Ia, ANT-6-Ia, AAC-3-Ib, AAC-6'-IIb, AAC-6'-If, r-RNA.

### Результаты исследования

Всего в исследование было включено 569 пациентов с нозокомиальными инфекциями, из них в СОКБ – 289, в ГВКГ им. Н.Н. Бурденко – 93, в ЦКБ – 95, в КККБ – 92. Уровень резистентности выделенных грамотрицательных бактерий к гентамицину в СОКБ составил в 1993 г. 74%, в 1994 г. – 77%, в 1995 г. – 71%. В КККБ устойчивость к гентамицину в 1995 г. составила 69%. В ЦКБ частота резистентности к гентамицину составила в 1995 г. 58%, к амикацину – 10%. В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко частота резистентности у госпитальных аэробных грамотрицательных штаммов к гентамицину составила 46%, к амикацину – 29%.

### Смоленская областная клиническая больница

Для исследования механизмов резистентности грамотрицательных бактерий, выделенных в СОКБ, были отобраны 158 штаммов. Из них 101 – представители семейства *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli* – 6, *Enterobacter* spp. – 11, *Klebsiella pneumoniae* – 50, *Proteus mirabilis* – 34), 21 штамм *Acinetobacter* spp. и 36 штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.

Из всех исследованных штаммов 155 (98,1%) были устойчивы к гентамицину в результате продукции различных АГМФ. Наиболее распространенными ферментами явились ANT(2'') и AAC(3)-V, которые были определены у 90,5% исследованных штаммов: у 54,4 и 36,1% соответственно. Нуклеотидилтрансфераза ANT(2'') обуславливала перекрестную резистентность к гентамицину и тобрамицину. В результате продукции ацетилтрансферазы AAC(3)-V штаммы обладали перекрестной устойчивостью к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину, а также к полусинтетическим производным нетилмицина – к 2'-этилнетилмицину и 6'-этилнетилмицину.

Резистентность к канамицину, неомицину, мономицину и ливидомицину в результате продукции фермента фосфотрансферазы APH(3')-I отмечена у 113 (71,5%) штаммов, из них 6 изолятов были также резистентны к бутирозину за счет дополнительной продукции APH(3')-II.

Резистентность к амикацину выявили лишь у

Таблица 2. Отличия некоторых ацетилтрансфераз и ANT(2'') на основании субстратной специфичности

Фермент	Нетилмицин	2'-Этилнетилмицин	6'-Этилнетилмицин
AAC(3)-V	+	+	+
AAC(2')	+	-	+
AAC(6')-I	+	+	-
ANT(2'')	-	-	-

Таблица 3. Отличие ANT(2'') от AAC(3)-III на основании субстратной специфичности

Фермент	Гентамицин	Тобрамицин	Канамицин	5-Эписизомицин
ANT(2'')-I	+	+	+	-
AAC(3)-III	+	+	+	+

Таблица 4. Отличия ацетилтрансфераз AAC(3)-I от AAC(3)-IV по их субстратной специфичности

Механизм резистентности	Фортимицин	Апрамицин
AAC(3)-I	+	-
AAC(3)-IV	-	+
Нарушение проницаемости	+	+

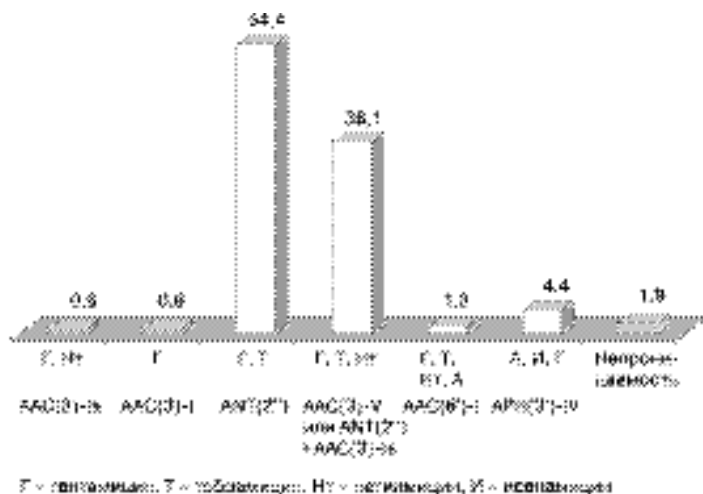


Рис. 1. Частота распространения основных фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Смоленской областной клинической больнице, %

7 (4,4%) тестированных штаммов, что было обусловлено ферментом APH(3')-VI. Все эти штаммы были также устойчивы к канамицину и исепамицину за счет продукции данного фермента.

Большинство микроорганизмов продуцировало

два фермента, в некоторых случаях – три (в различных комбинациях). Наиболее частыми комбинациями ферментов явились ANT(2'')+APH(3')-I и AAC(3)-V+APH(3')-I. Из 87 штаммов, продуцировавших нуклеотидилтрансферазу ANT(2''), 56 (64,4%) одновременно вырабатывали APH(3')-I. Таким образом, эти микроорганизмы были одновременно устойчивы к канамицину, неомицину, гентамицину и тобрамицину.

Из 55 штаммов, вырабатывавших ацетилтрансферазу AAC(3)-V, 47 (85,5%) одновременно продуцировали фосфотрансферазу APH(3')-I и обладали резистентностью к канамицину, неомицину, гентамицину, тобрамицину, нетилмицину, то есть к большинству аминогликозидов I и II поколений.

Достаточно редкой оказалась комбинация трех ферментов APH(3')-VI+AAC(3)-I+APH(3')-I, которая выявлялась у 7 штаммов и которые в результате были одновременно устойчивы к большинству аминогликозидов всех трех поколений – канамицину, неомицину, гентамицину, амикацину и исепамицину. Остальные комбинации АГМФ встречались у отдельных изолятов.

Как видно из данных рис. 1, основными фенотипами устойчивости у грамотрицательных нозокомиальных возбудителей в СОКБ явились гентамицин-тобрамицин и гентамицин-тобрамицин-нетилмицин.

Отмечены определенные отличия в типах АГМФ и их комбинаций у различных семейств грамотрицательных бактерий, а также в пределах одного семейства между родами.

*P. aeruginosa*, n=36 (табл. 5). Один штамм был резистентен ко всем аминогликозидам за счет непроницаемости наружной клеточной мембраны, другой штамм обладал устойчивостью к аминогликозидам I поколения – канамицину и неомицину в результате продукции APH(3')-I, но был чувствителен к аминогликозидам II и III поколений – гентамицину, тобрамицину, нетилмицину, амикацину и исепамицину.

Обладали устойчивостью к гентамицину в результате продукции различных ферментов 34 штамма. Из них большая часть, 26 (76,5%), вырабатывала фермент ANT(2'') и характеризовалась

Таблица 5. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *P. aeruginosa* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2")	К, Г, Т	26/36 (72,2)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Н	15/26 (57,7)
AAC(3)-V	Г, Т, Нт	8/36 (22,2)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	6/8 (75,0)
APH(3')-I	К, Н	1/36 (2,8)
Непроницаемость	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/36 (2,8)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

одновременной резистентностью к тобрамицину и канамицину, 15 (57,7%) из 26 были также устойчивы к неомицину в результате одновременной продукции APH(3')-I. Остальные 8 (23,5%) гентамицинорезистентных штаммов были также нечувствительны к тобрамицину, нетилмицину в результате выработки ацетилтрансферазы AAC(3)-V, из них у 6 (75,0%) отмечалась устойчивость к канамицину и неомицину за счет продукции APH(3')-I.

Таким образом, из 36 исследованных штаммов *P. aeruginosa* 35 (97,2%) обладали перекрестной резистентностью к гентамицину и тобрамицину, причем 1 – в результате непроницаемости, а 34 – за счет выработки АГМФ.

Только один из исследованных штаммов *P. aeruginosa* был резистентен к амикацину и исепамицину, однако не за счет продукции АГМФ, а в результате непроницаемости наружной клеточной мембраны.

***P. mirabilis*, n=34** (табл. 6). Все изученные штаммы были устойчивы к гентамицину. Однако большая часть (79,4%) обладала перекрестной резистентностью к тобрамицину и нетилмицину за счет

Таблица 6. Механизмы резистентности к аминогликозидам у *P. mirabilis* в Смоленской областной клинической больнице

Механизм резистентности	Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2")	К, Г, Т	6/34 (17,6)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Н	5/6 (83,3)
AAC(3)-V	Г, Т, Нт	27/34 (79,4)
+ APH(3')-I	К, Г, Т, Нт, Н	25/27(92,6)
+ APH(3')-II	К, Г, Т, Нт, Н	6/25 (24,0)
Непроницаемость	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/34 (2,9)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

продукции фермента AAC(3)-V, а 6 изолятов – только к тобрамицину в результате выработки ANT(2"). Из 27 штаммов, продуцировавших ацетилтрансферазу AAC(3)-V, 25 (92,6%) были резистентны к канамицину и неомицину за счет дополнительной выработки APH(3')-I, а 6 – одновременно продуцировали APH(3')-II. Следует отметить, что в данном исследовании продукцию фосфотрансферазы APH(3')-II наблюдали только у *Proteus* spp.

Практически все штаммы (5 из 6), резистентные к гентамицину и тобрамицину, оказались также устойчивыми к канамицину и неомицину – выработка APH(3')-I. Только один штамм был пол-

ностью резистентен ко всем амино-гликозидам в результате непроницаемости наружной клеточной стенки. Не выявлено ни одного изолята, вырабатывающего амикациномодифицирующие и исепамициномодифицирующие ферменты (табл. 6).

Таким образом, хотя основные фенотипы резистентности у *P. mirabilis* были подобны фенотипам, определенным у *P. aeruginosa*, у бактерий рода *Proteus* гораздо выше был процент штаммов, устойчивых к нетилмицину.

***E. coli*, n=6.** Из 6 штаммов 5 были резистентными к гентамицину и тобрамицину за счет выработки двух типов ферментов – ANT(2") и AAC(3)-V. Причем один из штаммов, продуцировавших AAC(3)-V, вырабатывал также APH(3')-I и был резистентен к канамицину и неомицину. Один штамм продуцировал ацетилтрансферазу AAC(3)-I – вместе с APH(3')-I. В результате он был устойчив к гентамицину, канамицину и неомицину, но тобрамицин, нетилмицин, амикацин и исепамицин проявляли к нему хорошую активность.

***K. pneumoniae*, n=50** (табл. 7). Основным ферментом, вырабатываемым *K. pneumoniae*, был ANT(2") – 43 (86%), что приводило к нечувствительности к канамицину, гентамицину и тобрамицину. Больше половины этих бактерий – 27 (62,8%) – были также резистентны и к неомицину – одновременная продукция APH(3')-I.

Другим значимым механизмом резистентности явилась выработка фермента AAC(3)-V у 8 (16%) штаммов, обусловившая перекрестную устойчивость к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину. Из них 7 штаммов были также нечувствительны к канамицину и неомицину – продукция APH(3')-I. У одного штамма отмечена довольно редкая комбинация

Таблица 10. Механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий в Краснодарской краевой клинической больнице

Механизм резистентности		Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
ANT(2'')		К, Г, Т	28/59 (47,5)
+ APH(3')-I и/или APH(3')-II		К, Н, Г, Т	26/28 (92,9)
+ APH(3')-I	+ AAC(3)-Ia	К, Н, Г, Т, НГ	3/26 (11,5)
		+ AAC(3)-I	1/3
		+ APH(3')-VI	1/3
AAC(3)-V	+ APH(3')-I и/или APH(3')-II	К, Н, Г, Т, НГ	20/59 (33,9)
AAC(3)-I	+ APH(3')-II	К, Н, Г	2/59 (3,4)
AAC(3)-I	+ AAC(3)-Ia + APH(3')-I	К, Н, Г, НГ	1/59 (1,7)
AAC(3)-IV		Г, Т, НГ	2/59 (3,4)
AAC(6')-II	+ APH(3')-II	К, Н, Г, Т, НГ	2/59 (3,4)
APH(3')-II		К, Н	4/59 (6,8)

Примечание: К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, НГ – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

Резистентны к канамицину, неомицину, гентамицину, тобрамицину и нетилмицину были 2 штамма: один продуцировал комбинацию ферментов AAC(3)-V и APH(3')-I, второй – комбинацию ферментов AAC(3)-Ia, ANT(2'') и APH(3')-I.

### Краснодарская краевая клиническая больница

Всего в КККБ было исследовано 59 устойчивых к аминогликозидам клинических изолятов грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter* spp. – 7, *Alcaligenes faecalis* – 1, *Citrobacter freundii* – 1, *E. coli*

– 1, *Enterobacter* spp. – 2, *K. pneumoniae* – 6, *P. aeruginosa* – 33, *Proteus* spp. – 8.

Как следует из данных табл. 10, основными типами продуцируемых ферментов явились ANT(2'') – 47,5% и AAC(3)-V – 33,9%. В результате выработки этих типов ферментов, а также AAC(3)-IV и AAC(6')-II из 59 штаммов 52 (88,1%) обладали перекрестной резистентностью к гентамицину и тобрамицину.

Ацетилтрансферазы AAC(3)-V, AAC(3)-IV и AAC(6')-II обусловили у 24 (40,7%) штаммов одновременную устойчивость к нетилмицину. Большинство (92,3%) гентамицино- и тобрамицинорезистентных штаммов обладали устойчивостью к канамицину и неомицину, так как вырабатывали фосфотрансферазы APH(3')-I и APH(3')-II. Только один штамм (*Acinetobacter* spp.) был резистент к амикацину и исепамицину в результате продукции APH(3')-VI.

Резистентностью к гентамицину [продукция AAC(3)-I], канамицину и неомицину [выработка APH(3')-II] при сохранении чувствительности к остальным аминогликозидам (тобрамицину, нетилмицину, амикацину и исепамицину) отличались 2 из штамма: у одного отмечалась резистентность гентамицину и нетилмицину [продукция AAC(3)-Ia] и к аминогликозидам I поколения [APH(3')-I] при сохранении чувствительности к тобрамицину, амикацину и исепамицину.

На рис. 2 представлены фенотипы резистентности к аминогликозидам II и III

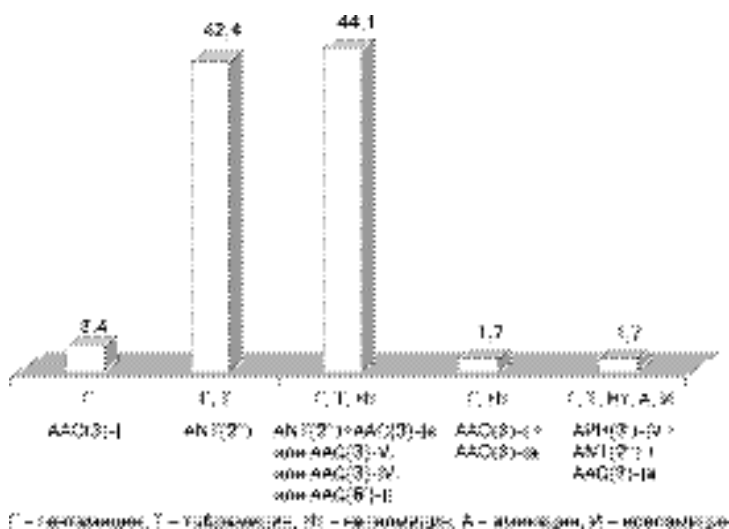


Рис. 2. Частота распространения основных фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Краснодарской краевой клинической больнице, %

поколений, полученные у клинических изолятов в КККБ.

**Центральная клиническая больница  
при Управлении делами Президента РФ  
(Москва)**

Для определения механизмов резистентности был отобран 41 штамм грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter* spp. – 6, *E. coli* – 3, *Enterobacter* spp. – 3, *K. pneumoniae* – 4, *P. aeruginosa* – 19, *P. mirabilis* – 3, *Serratia* spp. – 3.

Как видно из данных табл. 11, основным фенотипом резистентности в ЦКБ оказался гентамицин-тобрамицин-нетилмицин, обусловленный выработкой ацетилтрансферазы AAC(3)-V. Этот фенотип резистентности выявлен у 13 (31,7%) штаммов, причем 11 (84,6%) из них были также устойчивы к канамицину и неомицину за счет продукции фосфотрансфераз APH(3')-I или APH(3')-II, или обеих сразу. Однако один из этих штаммов сохранял чувствительность к неомицину, но был не резистентен к канамицину [ANT(2'')].

Резистентностью к гентамицину, тобрамицину и канамицину отличались 12 (29,3%) штаммов, но были чувствительны к нетилмицину, так как вырабатывали аденилилтрансферазу ANT(2''), причем 10 из них были также устойчивы к неомицину [продукция APH(3')-I или APH(3')-II]. Эти бактерии оказались чувствительными к амикацину и исепамицину. Один штамм был резистентен только к одному из аминогликозидов II поколения – гентамицину – в результате продукции AAC(3)-I и к аминогликозидам I поколения – канамицину и неоми-

цину – за счет фермента APH(3')-II. При этом он сохранял чувствительность к тобрамицину, нетилмицину, амикацину и исепамицину.

Устойчивость только к аминогликозидам I поколения – канамицину и неомицину – наблюдали у 4 (9,8%) изолятов в результате выработки APH(3')-I. Резистентность к амикацину была выявлена у 8 (19,5%) госпитальных грамотрицательных бактерий, из них 2 штамма *P. aeruginosa* и 4 штамма *Acinetobacter* spp. проявляли устойчивость и к исепамицину [обусловлено фосфотрансферазой APH(3')-VI]. Эти изоляты *P. aeruginosa* отличались также нечувствительностью к гентамицину в результате выработки AAC(3)-I и к канамицину и неомицину за счет продукции APH(3')-II. Однако они сохраняли чувствительность к тобрамицину и нетилмицину.

Амикацинорезистентные штаммы *Acinetobacter* spp. характеризовались одновременной устойчивостью ко всем используемым в клинической практике аминогликозидам I и II поколений, так как вырабатывали еще 3 типа модифицирующих ферментов: AAC(3)-Ia, ANT(2'') и APH(3')-I. Остальные 2 штамма сохраняли чувствительность к амикацину и исепамицину, в то же время были устойчивы к гентамицину, тобрамицину, канамицину [ANT(2'')] и нетилмицину [AAC(3)-Ia], а один из них – к неомицину [APH(3')-I].

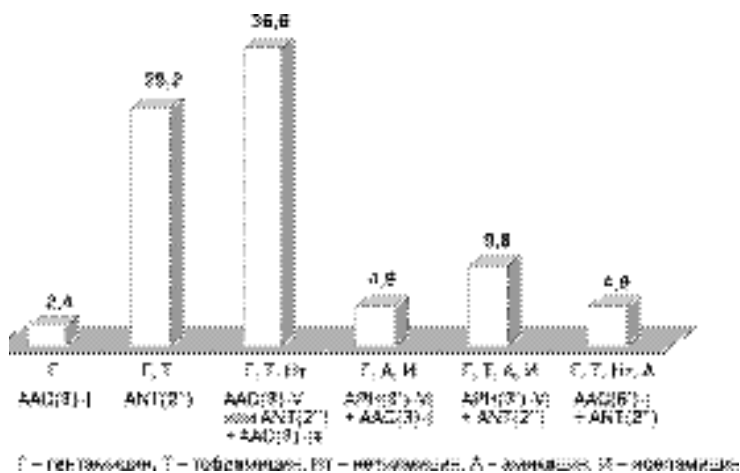
Резистентные к амикацину 2 изолята *Serratia* spp. сохраняли чувствительность к исепамицину, но были устойчивы к тобрамицину, нетилмицину и канамицину [за счет фермента AAC(6')-I], к гентамицину (ANT(2'')) и к неомицину [APH(3')-I]. Получен-

Таблица 11. Механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий в Центральной клинической больнице при Управлении делами Президента РФ

Механизм резистентности		Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
AAC(3)-V		Г, Т, Нт	13/41 (31,7)
	+APH(3')-I или APH(3')-II	К, Г, Т, Нт, Н	9/13 (69,2)
	+APH(3')-I или APH(3')-II + ANT(2'')	К, Г, Т, Нт, Н	2/13 (15,4)
	+ ANT(2'')	К, Г, Т, Нт	1/13 (7,7)
ANT(2'')		К, Г, Т	14/41 (34,1)
	+APH(3')-I или APH(3')-II	К, Н, Г, Т	10/14 (71,4)
	+ AAC(3)-Ia	К, Г, Нт, Т	1/14 (7,1)
	+ AAC(3)-Ia + APH(3')-I	К, Н, Г, Нт, Т	1/14 (7,1)
APH(3')-VI	+ AAC(3)-I + APH(3')-II	К, Н, Г, А, И	2/41 (4,9)
	+ AAC(3)-Ia + APH(3')-I + ANT(2'')	К, Н, Г, Т, А, И	4/41 (9,8)
AAC(6')-I	+ ANT(2'')	К, Н, Г, Т, Нт, А	2/41 (4,9)
AAC(3)-I	+ APH(3')-II	Г, К, Н	1/41 (2,4)
APH(3')-I		К, Н	5/41 (12,2)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.





**Рис. 3.** Частота распространения фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Центральной клинической больнице при Управлении делами Президента РФ, %

ные в данном стационаре фенотипы резистентности к аминогликозидам II и III поколений представлены на рис. 3.

#### **Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко (Москва)**

В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко исследованы 54 резистентных к аминогликозидам штаммов грамотрицательных бактерий: *Acinetobacter anitratus* – 2, *C. freundii* – 2, *E. coli* – 5, *Enterobacter* spp. – 2, *K. pneumoniae* – 15, *Morganii morganii* – 6, *P. aeruginosa* – 5, *P. mirabilis* – 17.

Основным ферментом, продуцируемым данны-

ми микроорганизмами, явилась модифицирующая амикацин, исепамицин и канамицин фосфотрансфераза APH(3')-VI в различных сочетаниях с ферментами, способными инактивировать аминогликозиды II поколения.

Резистентность к амикацину и исепамицину за счет продукции фермента APH(3')-VI выявлена у 26 (48,1%) исследованных штаммов, из них 14 (53,8%) были устойчивы одновременно к гентамицину и тобрамицину в результате действия аденилтрансферазы ANT(2''), а 6 (23,1%) – к гентамицину, тобрамицину и нетилмицину в результате выработки фермента AAC(3)-V.

Резистентность к гентамицину и тобрамицину при сохранении чувствительности к аминогликозидам III поколения выявлена лишь у 24 (44,4%) изолятов, из них у 12 – в результате продукции ANT(2''), у остальных 12 – AAC(3)-V (они также оказались устойчивыми к нетилмицину).

Два штамма были резистентны к аминогликозидам 3 поколений в результате непроницаемости наружной клеточной мембраны: один штамм – только к гентамицину за счет ацетилтрансферазы AAC(3)-I, другой – только к аминогликозидам I поколения, таким, как канамицин и неомицин [продукция APH(3')-I], и был чувствителен ко всем остальным аминогликозидам (табл. 12).

Фенотипы резистентности к аминогликозидам II и III поколений показаны на рис. 4.

**Таблица 12. Механизмы резистентности к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко**

Механизм резистентности		Фенотип резистентности	Число (%) штаммов
APH(3')-VI		К, А, И	26/54 (48,1)
	+ ANT(2'')	К, Г, Т, А, И,	14/26 (53,8)
	+ APH(3')-I	К, Н, Г, Т, А, И	7/14 (50,0)
	+ AAC(6')-I	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	1/14 (7,1)
+AAC(3)-V		К, Г, Т, А, И, Нт, Н	6/26 (23,1)
	+AAC(3)-I +APH(3')-I	К, Н, Г, Т, Нт, А, И	2/6
AAC(3)-V	+APH(3')-I	К, Н, Г, Т, Нт	12/54 (22,2)
		К, Г, Т	12/54 (22,2)
ANT(2'')	+ AAC(6')-I	К, Г, Т, Нт	1/2
		Г	1/54 (1,9)
AAC(3)-I		Г	1/54 (1,9)
APH(3')-I		К, Н	1/54 (1,9)
Непроницаемость		К, Н, Г, Т, Нт, А, И	2/54 (3,7)

**Примечание:** К – канамицин, Н – неомицин, Г – гентамицин, Т – тобрамицин, Нт – нетилмицин, А – амикацин, И – исепамицин.

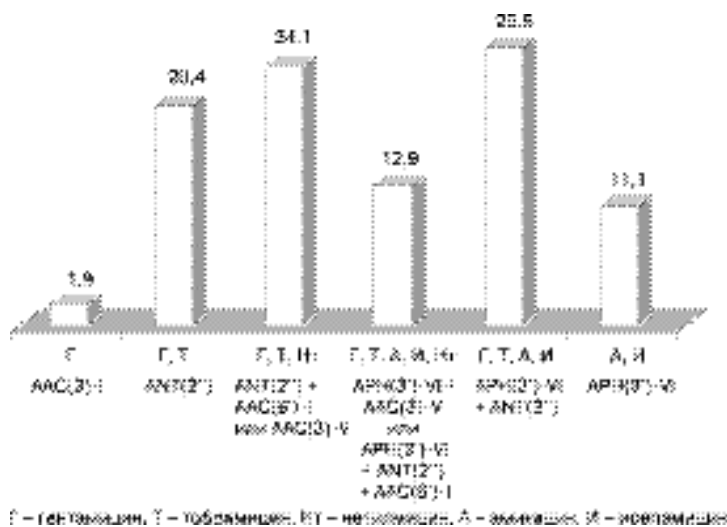


Рис. 4. Частота распространения фенотипов резистентности к аминогликозидам II и III поколений в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко, %

#### Корреляция между AGRP и ДНК–ДНК гибридизацией

Обнаружена 100% корреляция результатов определения ферментов, полученных с использованием метода ДНК–ДНК гибридизации и фенотипического метода.

Использование специальных зондов, представляющих внутренние фрагменты генов рРНК, не позволило выявить штаммы, резистентность которых была бы связана с изменением мишени действия аминогликозидов. Этот факт подтвердил предположение о том, что резистентность к аминогликозидным антибиотикам у исследованных штаммов обуславливалась преимущественно продукцией аминогликозидомодифицирующих ферментов.

#### Распространенность фенотипов резистентности к аминогликозидам в стационарах лечебно-профилактических учреждений

В результате продукции одного или комбинации различных ферментов микроорганизмы обладали определенными фенотипами устойчивости к аминогликозидам. Отмечено сходство в фенотипах резистентности, выявленных в СОКБ, ЦКБ (Москва), ГВКГ им. Н.Н. Бурденко (Москва) и КККБ. Так, монорезистентность к гентамицину при сохранении чувствительности ко всем остальным аминогликозидам II и III поколений выявлена только у 1 (0,6%) штамма в СОКБ, у 1 (2,4%) штамма в ЦКБ, у 1 (1,9%) штамма в ГВКГ им. Н.Н. Бурденко и у 2 (3,4%) штаммов в КККБ (рис. 5).

Перекрестная резистентность к гентамицину и нетилмицину при сохранении чувствительности к остальным аминогликозидам II и III поколений также выявлялась редко в исследованных стационарах. Такой фенотип резистентности установлен только у 1 (0,6%) штамма в СОКБ и у 1 (1,7%) штамма в КККБ. В двух других стационарах этот фенотип не выявлен.

Чаще встречающимися фенотипами резистентности оказались Г, Т (гентамицин, тобрамицин) и Г, Т, Hт (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин). Однако процентное соотношение этих фенотипов резистентности варьировало (рис. 6). Так, Г, Т фенотип резистентности выявлен в СОКБ у 86 (54,4%) штаммов, в ЦКБ – у 12 (29,2%), в КККБ – у 25 (42,4%), в ГВКГ им. Н.Н. Бурденко – у 11 (20,4%). У всех изолятов он обуславливался продукцией фермента ANT(2<sup>''</sup>).

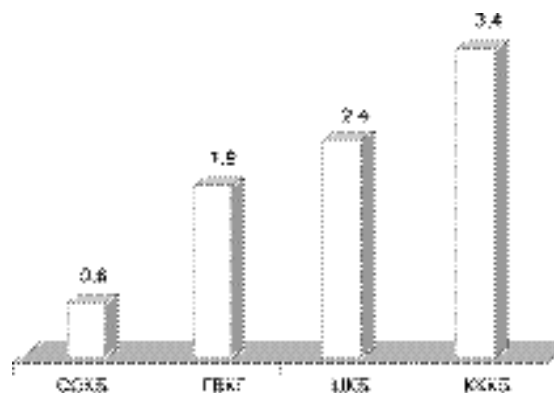


Рис. 5. Частота монорезистентности к гентамицину, %

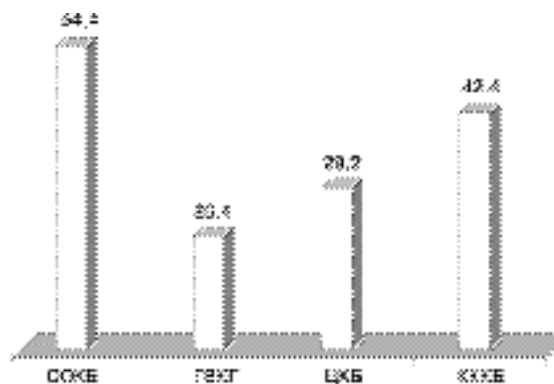


Рис. 6. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин, %

Фенотип резистентности Г, Т, Нт (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин) встречался примерно с такой же частотой и обуславливался продукцией либо фермента AAC(3)-V, либо комбинацией ANT(2'') + AAC(3)-Ia (рис. 7).

Фенотип резистентности Г, Т, Нт, А (гентамицин, тобрамицин, нетилмицин, амикацин) выявлялся редко (рис. 8). Только 2 (1,3%) штамма в СОКБ и 2 (4,9%) штамма в ЦКБ имели этот фенотип резистентности в результате продукции комбинации ферментов AAC(6')-I + ANT(2''), в то время как в КККБ и ГКВГ им. Н.Н. Бурденко этот фенотип не обнаружен.

Фенотип резистентности Г, А, И (гентамицин, амикацин, исепамицин), обусловленный продукцией фермента APH(3')-VI, выявлен только в СОКБ у 7 (4,4%) штаммов и в ЦКБ – у 2 (4,9%), но отсутствовал в КККБ и в ГКВГ им. Н.Н. Бурденко.

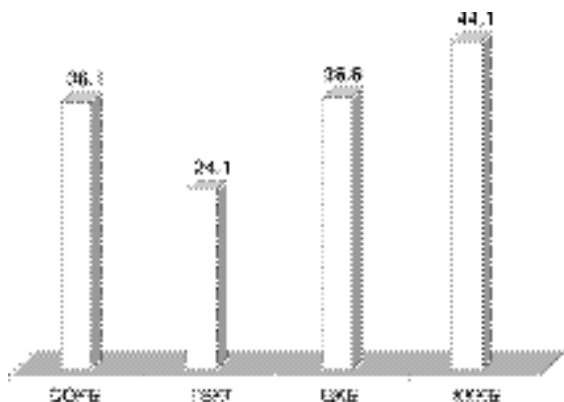


Рис. 7. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-нетилмицин, %

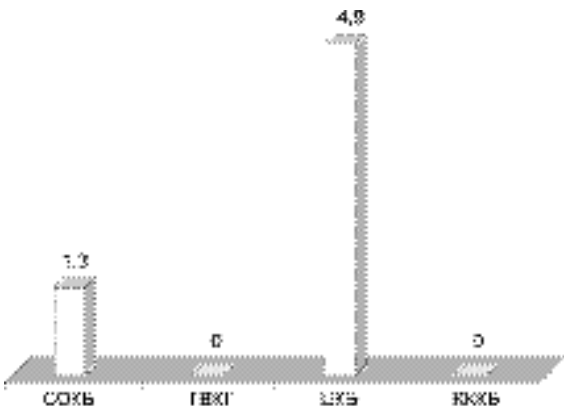


Рис. 8. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-нетилмицин-амикацин, %

В результате продукции комбинации APH(3')-VI + ANT(2'') только 4 (9,8%) штамма в ЦКБ имели фенотип резистентности Г, Т, А, И (гентамицин, тобрамицин, амикацин, исепамицин). В ГКВГ им. Н.Н. Бурденко этот фенотип резистентности выявлен у 14 (25,9%) штаммов (рис. 9). В остальных лечебно-профилактических учреждениях он не выявлен.

Распространенный в ГКВГ им. Н.Н. Бурденко фенотип резистентности Г, Т, А, И, Нт (гентамицин, тобрамицин, амикацин, исепамицин, нетилмицин), выявленный у 7 (12,9%) штаммов, отсутствовал в СОКБ и ЦКБ и определен только у 1 (1,7%) изолята в КККБ (рис. 10).

Фенотип резистентности только к аминогликозидам III поколения А, И (амикацин, исепамицин) выявлен лишь в ГКВГ им. Н.Н. Бурденко у 6 (11,1%) изолятов.

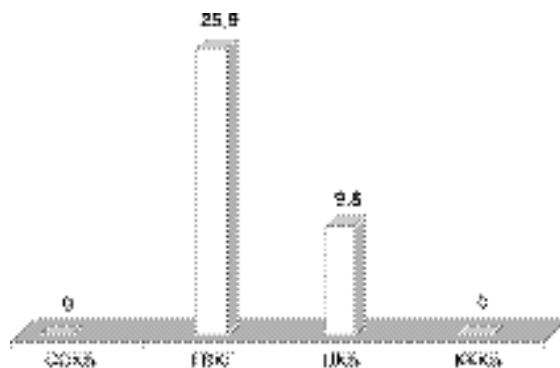


Рис. 9. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин, %

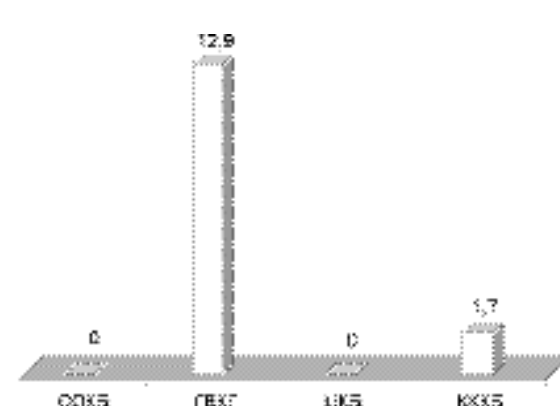


Рис. 10. Частота фенотипа резистентности гентамицин-тобрамицин-амикацин-исепамицин-нетилмицин, %

## Обсуждение результатов исследования

Эффективное использование антибактериальных препаратов невозможно без четкого представления об их фармакодинамических особенностях (механизмах действия антибиотиков и изменении их активности в зависимости от характера механизмов резистентности у микроорганизмов), а также без знания локальной ситуации антибиотикорезистентности в определенном регионе или (для госпитальных инфекций) в стационаре [31, 32].

Данное исследование показало, что во всех 4 центрах основными возбудителями госпитальных инфекций являлись одни и те же виды микроорганизмов: представители неферментирующих грамотрицательных бактерий, такие, как *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*, а также семейства *Enterobacteriaceae*, в основном *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*. Преобладающим возбудителем в СОКБ и ГВКГ им. Н.Н. Бурденко была *K. pneumoniae*, в ЦКБ и КККБ – *P. aeruginosa*.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что при выборе аминогликозидов для эмпирической терапии нозокомиальных инфекций в конкретных стационарах целесообразно основываться не только на общем уровне резистентности грамотрицательной микрофлоры, но и учитывать этиологическую роль того или иного патогена.

Так, гентамицин и тобрамицин не могут рассматриваться в качестве средств эмпирической терапии при любом грамотрицательном возбудителе нозокомиальных инфекций. О возможности использования нетилмицина можно говорить в том случае, когда инфекционный процесс вызван *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* или *Acinetobacter* spp. Однако при этом необходимо определять чувствительность этих штаммов к нетилмицину. Амикацин или исепамицин могут использоваться для эмпирической терапии, кроме случаев инфекции, вызванной *Acinetobacter* spp.

Необходимо отметить определенные отличия в фенотипах резистентности в центрах России. Поэтому при формировании подходов к оптимальному использованию аминогликозидных антибиотиков в первую очередь необходимо учитывать локальные данные о распространении и механизмах резистентности.

Проведенные исследования позволяют сформулировать две группы практических рекомендаций для врачей-микробиологов и клиницистов.

В о - п е р в ы х, следует рассмотреть подходы к оптимальному выбору аминогликозидов для лабораторного тестирования и к оценке получаемых данных. На основании нашего исследования опти-

мальным представляется рутинное определение чувствительности к гентамицину, нетилмицину и амикацину. С учетом результатов определения чувствительности к этим трем аминогликозидам и локальных данных о преобладающих фенотипах можно ориентировочно судить о генотипе и обосновать выбор терапии.

Однако выдавать ответ клиницистам следует избирательно. Так, например, при чувствительности к гентамицину достаточно информировать врача только об этом результате. В случае резистентности к гентамицину необходимо предоставить заключение о чувствительности ко всем трем аминогликозидам.

В о - в т о р ы х, непосредственно врачам-клиницистам целесообразно давать следующие рекомендации. В многопрофильном стационаре при эмпирической терапии необходимо учитывать резистентность нозокомиальных возбудителей к антибиотикам.

Разработать единую схему включения в эмпирическую терапию аминогликозидных антибиотиков для отдельного региона и даже стационара практически невозможно. И тем более нельзя копировать лекарственные формуляры, разработанные в других странах, и использовать в наших стационарах, так как уровень резистентности к аминогликозидам в России выше, чем в большинстве стран Европы и Америки. Задача каждого лечебно-профилактического учреждения – создать свой перечень эффективных препаратов.

Итак, для терапии грамотрицательных инфекций достаточно иметь в арсенале гентамицин, нетилмицин и амикацин. Амикацин можно использовать для эмпирической терапии, а также при резистентности к гентамицину во всех исследованных стационарах, кроме ГВКГ им. Н.Н. Бурденко. Нетилмицин и гентамицин следует использовать только при выделении чувствительной к ним грамотрицательной микрофлоры.

В ГВКГ им. Н.Н. Бурденко препараты группы аминогликозидов не следует использовать для эмпирической терапии нозокомиальных инфекций. Выбор препарата должен осуществляться только на основании данных антибиотикограмм.

Тобрамицин, а также новый аминогликозид исепамицин нецелесообразно включать в список необходимых антибиотиков в исследованных стационарах.

Полученные результаты, а также данные литературы [34] убедительно свидетельствуют о крайне широком распространении в стационарах лечебно-профилактических учреждений различных регионов России устойчивости к гентамицину (до 70%

штаммов). Важно отметить, что, поскольку тобрамицин не обладает значительными преимуществами в сравнении с гентамицином, попытки его эмпирического включения в схемы лечения вместо гентамицина создают лишь иллюзию смены антибиотика и повышения эффективности лечения.

С нашей точки зрения, в исследованных стационарах следует исключить гентамицин из схем эмпирического лечения нозокомиальных инфекций. Необходимо привлечь внимание общественных и государственных организаций к крайне неблагопри-

ятной ситуации с распространением устойчивости к аминогликозидным антибиотикам и разработать рекомендации по разумному ограничению клинического применения антибиотиков этой группы.

**Благодарность.** Выражаем искреннюю признательность за предоставленные штаммы микроорганизмов **В.К. Тарабан** (КККБ), **Л.А. Ритчик** (ЦКБ), **С.В. Сидоренко** (ГНЦА), а также **С.В. Вакуленко** (ГНЦА), **Г.Н. Miller** и **F.J. Sabatelli** (Schering-Plough Research Institute) за содействие в настоящем исследовании.

## Л и т е р а т у р а

- Spencer R.C. Prevalence studies in nosocomial infections. *Eur J Microbiol Infect Dis* 1992; 11:95-8.
- Белокрысенко С.С., Дугашева Л.С. Множественноустойчивые штаммы семейства *Enterobacteriaceae* и их плазмиды в стационаре. Медицинские и теоретические аспекты Антибиотика 1984; 12:924-31.
- Maniatis A.N., Trougakos I.P., Katsanis G., Palermos J., Maniatis N.A., Legakis N.J. Changing patterns of bacterial nosocomial infections: a nine year study in a general hospital. *Chemother* 1997; 43:69-76.
- Siegenthaler W.E., Bonetti A., Luthy R. Aminoglycoside antibiotics in infectious diseases. *Am J Med* 1986; 80:2-14.
- Dornbusch K., Miller G.H., Hare R.S. Resistance to aminoglycoside antibiotics in Gram-negative bacilli and staphylococci isolated from blood. Report from a European collaborative study. *J Antimicrob Chemother* 1990; 26:131-44.
- Garcia-Agata M.I., Alarcon T., Lopez-Brea M. Emergence of resistant isolates of *Acinetobacter calcoaceticus* – *A. baumannii* complex in a Spanish hospital over a five-year period. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:512-5.
- Gould I.M. Risk factors for acquisition of multiply drug-resistant gram-negative bacteria. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 1994; 13:30-8.
- Miller G.H. and aminoglycoside resistance study groups. Increasing complexity of aminoglycoside resistance mechanisms in gram-negative bacteria. *APUA Newsletter* 1994; 12.
- Weinstein R.A., Nathan C., Gruensfelder R. Endemic aminoglycoside resistance in gram-negative bacilli: epidemiology and mechanisms. *J Infect Dis* 1980; 141:338-45.
- Навашин С.М., Сазыкин Ю.О. Фундаментальные основы создания новых эффективных антибиотиков. *Антибиотики* 1992; 4:5-11.
- Лившиц М.Л., Брусина Е.Б. Госпитальные инфекции: проблемы и пути решения. *Журн микробиол* 1992;1:22-4.
- Goldmann D.A., Huskins W.C. Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. *Clin Infect Dis* 1997; 24(suppl. 1): S139-45.
- Correa Lima M.B., Almeida de Oliveira C.F., Galvao L.F. Trends in bacterial resistance and implications for treatment of infections. *J Internat Med Research* 1990; 18(suppl. 4):3D-5D.
- Hammond J.M.J., Potgieter P.D. Influence of amikacin as the primary aminoglycoside on bacterial isolates in the intensive care unit. *Critical Care Medicine* 1990; 18: 607-10.
- Miller G.H., Sabatelli F. J., Hare R.S. The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms – changes with time and geographic area: a reflection of aminoglycoside usage patterns? *Clin Infect Dis* 1997; 24:S46-62.
- Goldmann D.A. Contemporary challenges for hospital epidemiology. *Am J Med* 1991; 91:8S-15S.
- Gourgouli K., Mouroutsou M., Varjioti E., Kondii L., Chronopoulos G., Baliaga S. et al. Comparison of bacterial resistance before and after restriction policy in the use of antibiotics. *Proceedings of the 7th ESCMID*; 1995;Vienna, 1995. p. 57.
- Courvalin P. Impact of molecular biology on antibiotic susceptibility: testing and therapy. *Am J Med* 1995; 99:21S-25S.
- Marr J.J., Moffet H.L., Kurin C.M. Guidelines for improving the use of antimicrobial agents in hospitals: a statement by the infectious diseases society of America. *J Infect Disease* 1988; 157:869-76.
- Сидоренко С.В. Механизмы антибиотикорезистентности. В кн.: Антибактериальная терапия. Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. Москва; 2000. с. 1-6.
- Вакуленко С.Б. Бактериальные ферменты, инактивирующие аминогликозидные антибиотики и кодирующие их гены. *Антибиотики* 1992; 4:49-54.
- Rice L.B., Bonomo R.A. Genetic and biochemical mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: Lorian V., editor. *Antibiotics in laboratory medicine*. New York: Williams & Wilkins; 1996. p. 453-501.
- Van Landuyt H.W., Boelaert J., Glibert B., Gordts B. Surveillance of aminoglycoside resistance. *Am J Med* 1986; 80:76-81.
- Miller G.H. and aminoglycoside resistance study groups. Resistance to aminoglycosides in *Pseudomonas*. *Trends Microb* 1994; 2:347-53.
- Naber K.G., Grimm H., Rosenthal E.J.K., Shah P.M., Wiedemann B. Resistance to aminoglycosides: the situation in the Federal Republic of Germany. *J Int Med Research* 1990; 18:6-26.

26. Miller G.H. Aminoglycoside Resistance Surveys Team. USA: Schering-Plough Research Institute. 1992. Data on file.
27. Колганов А.Н., Вакуленко С.Б. Гены резистентности к аминогликозидным антибиотикам клинических штаммов и кодируемые ими ферменты. *Антибиотики* 1992; 11:10-4.
28. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests – sixth edition; Approved Standard. NCCLS document M2-A6. 1997; 17.
29. NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically – fourth edition; Approved Standard. NCCLS document M7-A4. 1997; 17.
30. Miller G. H., Sabatelli F. J., Naples L. The utilization of aminoglycoside resistance phenotypes for the determination of aminoglycoside resistance mechanisms. Schering-Plough research institute 1995. Data on file.
31. McGowan J. E. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Antimicrob Resist* 1983; 5:1033-48.
32. Montie T., Patamasucon P. Aminoglycosides: the complex problem of antibiotic mechanisms and clinical applications. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14:85-7.
33. Phillips I., Shannon K.P. Aminoglycosides and aminocyclitols. In: O'Grady F.W., Lambert H.P., Finch R.G. and Greenwood D., editors. *Antibiotic and chemotherapy: Anti-infective agents and their use in therapy*. 7th ed. Edinburg: Churchill Livingstone; 1997. p. 164-201.
34. Состояние антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в отделениях интенсивной терапии. Межведомственный научный совет по внутрибольничным инфекциям при РАМН и Минздраве РФ, Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Информационное письмо. Смоленск: Амипресс, 1997.