

УДК

Аминогликозиды: перспективы клинического использования в стационарах России

Г.К. Решедько

Смоленская государственная медицинская академия, Смоленск, Россия

Исследована чувствительность к антибиотикам и изучены механизмы резистентности к аминогликозидам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в стационарах России. Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам сохраняется продукция аминогликозидомодифицирующих ферментов. Наибольший процент резистентности выявлен к гентамицину и тобрамицину за счет продукции ферментов ANT(2'') и AAC(3)-V. Резистентность к амикацину обусловлена продукцией фер-

мента APH(3')-VI. Отмечено распространение этого фермента среди штаммов *Acinetobacter* spp., а также среди энтеробактерий. Выявлено сохранение активности нетилмицина в отношении многих резистентных к гентамицину и амикацину штаммов *Acinetobacter* spp. и *Enterobacteriaceae*.

Ключевые слова: аминогликозиды, нозокомиальные инфекции, возбудители, перекрестная резистентность.

Aminoglycosides: Perspectives for Clinical Use in Russia

G.K. Reshedko

Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

The susceptibility to aminoglycoside antimicrobials of Gram-negative nosocomial pathogens in Russia and mechanisms of aminoglycoside resistance has been studied. The production of aminoglycoside-modifying enzymes remains to be the major mechanism of aminoglycoside resistance in Russia. High resistance rates to gentamicin and tobramycin were determined by production of enzymes ANT(2'') and AAC(3)-V. Resistance to

amikacin was associated with APH(3')-VI; this enzyme was noted to be highly prevalent in *Acinetobacter* spp. and *Enterobacteriaceae*. Interesting that netilmycin remains active against number of gentamicin- and amikacin-resistant isolates of *Acinetobacter* spp. and *Enterobacteriaceae*.

Key words: aminoglycoside, nosocomial infections, epidemiology, antimicrobial resistance.

Контактный адрес:

Галина Константиновна Решедько

Эл. почта: galina@antibiotic.ru

Введение

В XXI веке антибактериальная терапия нозокомиальных инфекций, особенно в отделениях с активным применением антибиотиков, осложнилась распространением возбудителей, обладающих механизмами резистентности практически ко всем используемым в клинической практике антибиотикам: пенициллинам, цефалоспорином, фторхинолонам, карбапенемам и др. Резистентность возбудителей лежит в основе неэффективности эмпирической антибактериальной терапии [1–4]. Наиболее реальным путем борьбы с резистентностью нозокомиальных возбудителей в стационаре в целом или в его конкретных отделениях является формирование политики применения антибиотиков, основанной на данных об общих и локальных тенденциях в распространении антибиотикорезистентности [5–7].

Наряду с представителями семейства *Enterobacteriaceae* наиболее частыми возбудителями являются неферментирующие грамотрицательные бактерии, такие как *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter* spp. В лечении инфекций, вызванных данными микроорганизмами, основными препаратами в России являются карбапенемы, ингибиторозащищенные цефалоспорины и аминогликозиды [8]. Назначение этих антибиотиков требует соблюдения основного принципа клинической фармакологии – эффективность и безопасность, т. е. выбора препаратов, обладающих наибольшей активностью *in vitro* и благоприятным профилем безопасности.

Для аминогликозидов, как и для многих других классов антибиотиков, характерна выраженная зависимость распространения детерминант резистентности от локальных особенностей использования препаратов [9, 10]. Данные по антибиотикограммам, получаемые от бактериологических лабораторий, не позволяют достаточно надежно прогнозировать тенденции распространения устойчивости к аминогликозидам и, соответственно, осуществлять формирование больничных формуляров с целью выбора антибиотиков для эмпирической терапии [11–13]. Поэтому большое значение имеет исследование чувствительности и определение механизмов резистентности к аминогликозидам у клинических изолятов [14].

Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам у грамотрицательных бактерий является продукция ферментов – фосфотрансфераз, ацетилтрансфераз и аденилилтрансфераз, модифицирующих молекулу антибиотика. Измененные молекулы аминогликозидного антибиотика не спо-

собны связываться со своими мишенями – бактериальными рибосомами и нарушать синтез белка, а следовательно, и жизнеспособность микробной клетки [15–17].

Проведенные в мире исследования показали, что штаммы, продуцирующие *аминогликозидомодифицирующие ферменты* (АГМФ), широко распространены в клиниках 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 [18]. В России наиболее распространенными были ферменты, модифицирующие гентамицин и тобрамицин, а в ряде случаев – нетилмицин и амикацин. Однако активное использование амикацина привело к распространению ферментов, обуславливающих резистентность к амикацину. Поэтому новые данные о механизмах резистентности к аминогликозидам у нозокомиальных грамотрицательных возбудителей позволят облегчить выбор препаратов этой группы при терапии инфекций у пациентов, находящихся на стационарном лечении.

Материал и методы

В исследование были включены пациенты с нозокомиальными инфекциями, находившиеся на стационарном лечении в 29 многопрофильных больницах в различных регионах России, среди них: Владивосток, Екатеринбург (2 центра), Казань (2 центра), Краснодар (2 центра), Красноярск (2 центра), Москва (9 центров), Нижний Новгород, Новосибирск, Омск, Рязань, Санкт-Петербург (3 центра), Смоленск, Ставрополь, Томск, Уфа. Из них 25 стационаров были для лечения взрослых пациентов, 4 – для лечения детей.

В данных стационарах исследование проводили во взрослом и детском реанимационных отделениях, отделениях хирургической инфекции, ожоговом, абдоминальной хирургии, травматологическом и урологическом отделениях. Были включены взрослые пациенты и дети с нозокомиальными пневмониями, инфекциями мочевыводящих путей, нагноением ожоговых поверхностей и послеоперационных ран.

В исследование включались пациенты с нозокомиальными инфекциями, т. е. инфекциями, развившимися не ранее, чем через 48 ч от момента госпитализации. Клинический материал у пациентов отбирали при наличии клинически и лабораторно подтвержденного инфекционно-воспалительного процесса. Из исследования исключались штаммы

Таблица 1. Различия некоторых ацетилтрансфераз и ANT(2''), основанные на субстратной специфичности

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

Таблица 2. Различия ANT(2'') и AAC(3)-III, на основанные на субстратной специфичности

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

одного вида, выделенные повторно от одного и того же пациента.

Идентификацию микроорганизмов проводили по месту их выделения с помощью биохимических тестов по общепринятым методикам. Все штаммы были доставлены в НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск), где проводилась их реидентификация. Чувствительность к антибиотикам определяли согласно рекомендациям Института по клиническим лабораторным стандартам США (CLSI) методом двукратных серийных разведений в агаре Мюллера–Хинтона (BBL, США) при использовании субстанций антибиотиков [19]. Полученные результаты интерпретировали в соответствии с критериями CLSI [19]. Контроль качества определения чувствительности проводили с использованием контрольных штаммов из Американской коллекции типовых культур (ATCC): *Escherichia coli* 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* 27853 [19]. 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 и апрамицином были предоставлены профессором G. Miller (Schering Corp., Bloomfield, N.J., США). Диски с исепамицином, амикацином, гентамицином, тобрамицином, неомицином, нетилмицином и канамицином были коммерческого изготовления (BBL, США). Дополнительно для изучения типов продуцируемых штаммами аминогликозидофосфотрансфераз с помощью метода разведения в агаре определяли МПК ливидомицина (Lm) и бутирозина (Bt) для тестируемых возбудителей. Типы аминогликозидмодифицирующих ферментов определяли по методике, разработанной профессором G. Miller (США) [20].

Неприменяемые в клинической практике аминогликозиды (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'-аминогруппу и 6'-аминогруппу соответственно инвертированно по сравнению с нетилмицином (табл. 1).

5-Эписизомицин был включен для выявления различия между ANT(2'') и AAC(3)-III – ферментов, инактивирующих 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. 2).

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 были включены в связи с необычной структурой и использовались

Таблица 3. Различия ацетилтрансфераз ААС(3)-I и ААС(3)-IV по их субстратной специфичности

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

либо для выявления нарушения проницаемости наружной клеточной мембраны, либо для определения ферментов, которые могут модифицировать фортимицин или апрамицин (табл. 3).

Важным принципом при определении аминогликозидомодифицирующих ферментов, с использованием метода AGRP, явилось исследование не абсолютной активности, а изменения относительной активности в отношении всех 12 аминогликозидов.

Для подтверждения результатов, полученных фенотипическим методом, а также возможного выявления резистентности, связанной с изменением мишени действия аминогликозидов – рибосомальной РНК, была проведена ДНК-ДНК гибридизация. ДНК-ДНК гибридизацию осуществляли на фильтрах Nеп фирмы «Du Pont» (США) по методу Т. Gootz с соавт. Для получения радиоактивно меченных зондов использовали 0,2–0,4 мкг ДНК фрагментов, ник-трансляционный набор «Amersham» (Великобритания) и дезокси- $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ -ЦТФ отечественного производства. В качестве ДНК-зондов использовали внутренние фрагменты генов, кодирующих следующие аминогликозидомодифицирующие ферменты: АНТ(2''), ААС(3)-V и АРН(3')-I, полученные из лаборатории Государственного научного центра по антибиотикам (Москва).

Все исследованные штаммы параллельно тестировали с помощью метода ДНК-ДНК гибридизации в институте Schering-Plough (США) с использованием следующих зондов: АНТ-2''-а, ААС-3-I, ААС-3-Va, ААС-3-Vb, ААС-2'-Ia, ААС-6'-Ib, ААС-6'-Ic, АРН-3'-I, АРН-3'-II, АРН-3'-VI, АНТ-4'-II, АНТ-3'', АНТ-4'-I, АРН-2''+6', АРН-3'-III, ААС-3-IV, ААС-6'-Ia, АНТ-6-Ia, ААС-3-Ib, ААС-6'-IIb, ААС-6'-If, r-RNA.

Результаты исследования

Всего было включено 3428 пациентов с нозокомиальными инфекциями, из них у 2187 пациентов выделены грамотрицательные возбудители.

Состав возбудителей

Всего изучено 2664 штамма грамотрицательных микроорганизмов. Основными возбудителями

были *Pseudomonas aeruginosa* (30%), *Escherichia coli* (18,4%), *Klebsiella pneumoniae* (14,6%), *Proteus* spp. (10%), *Enterobacter* spp. (7,6%), *Acinetobacter* spp. (6,9%). Среди редких грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций следует отметить *Serratia* spp. (4,1%), *Citrobacter* spp. (1,3%), *Stenotrophomonas maltophilia* (1,3%), *Morganella morganii* (0,8%), *Flavobacter* spp. (0,8%), а также другие грамотрицательные палочки (4,2%).

Отмечены различия в составе возбудителей в зависимости от стационара. Так, преобладание *P. aeruginosa* отмечено в Республиканской клинической больнице в Казани (79,7%), Краевом диагностическом центре в Краснодар (61,2%) и в больнице скорой медицинской помощи в Екатеринбурге (50%). *E. coli* наиболее часто выделяли в Клинической больнице Управления делами Президента (КБУДП), в Москве (57,9%), Медицинском университете им. И.П. Павлова в Санкт-Петербурге (50%) и Городском диагностическом центре в Рязани (46,7%). Штаммы *K. pneumoniae* преобладали в составе возбудителей в Ставрополе (36%), ГКБ №23 в Москве (29,6%) и в Новосибирске (29%). Штаммы *Proteus* spp. наиболее часто выделяли в Новосибирске (22%), Уфе (21%) и Городской клинической больнице № 15 в Москве (20%). Штаммы *Acinetobacter* spp. были основными возбудителями в Красноярске: клинической больнице № 7 (25%) и Больнице скорой медицинской помощи (20%).

При анализе состава возбудителей, выделенных из различных видов клинического материала, было выявлено, что при инфекциях различной локализации имелись различия в преобладании тех или иных микроорганизмов.

При инфекциях кожи и мягких тканей наиболее часто этиологически значимым микроорганизмом была *P. aeruginosa*, вторым по частоте возбудителем – *Proteus* spp. (рис. 1), Почти с такой же частотой выделялись штаммы *E. coli*. Значительно реже возбудителями инфекций кожи и мягких тканей были *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp. и *Acinetobacter* spp.

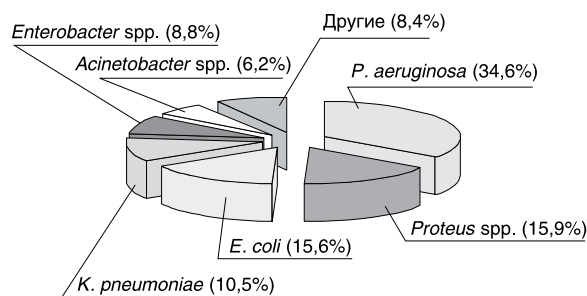


Рис. 1. Состав возбудителей, выделенных при инфекциях кожи и мягких тканей (n=867).

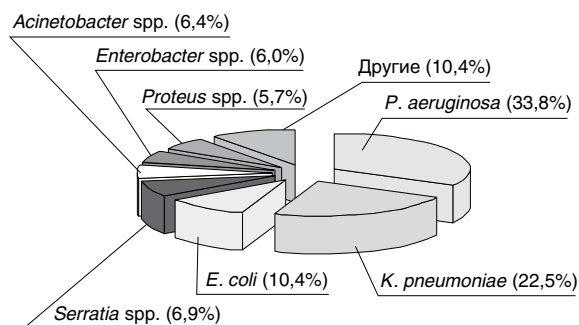


Рис. 2. Состав возбудителей, выделенных при инфекциях нижних дыхательных путей (n=699).

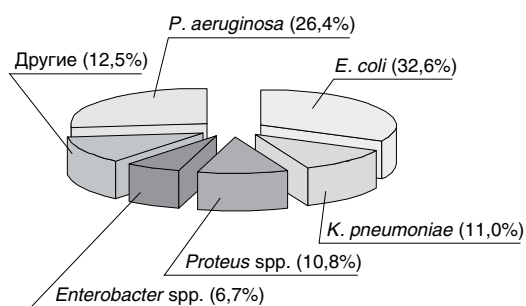


Рис. 3. Состав возбудителей, выделенных при инфекциях мочевыводящих путей (n=435)

При нозокомиальных инфекциях дыхательных путей наиболее частым возбудителем была также *P. aeruginosa* – более чем у трети пациентов (рис. 2). Несколько реже выделялась *K. pneumoniae*. Штаммы *E. coli*, *Serratia* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterobacter* spp. и *Proteus* spp. значительно реже вызывали инфекции дыхательных путей у пациентов, находившихся на стационарном лечении.

При нозокомиальных инфекциях мочевыводящих путей основным грамотрицательным возбудителем была *E. coli*, выделенная более чем у одной трети пациентов (рис. 3). Однако на втором месте оказалась синегнойная палочка, которая вызвала инфекции мочевыводящих путей более чем у четверти всех пациентов. Примерно с одинаковой частотой возбудителями были *K. pneumoniae*, *Proteus* spp. и *Enterobacter* spp.

При нозокомиальных инфекциях брюшной полости наиболее частыми возбудителями были *E. coli* и *P. aeruginosa* (рис. 4). В более чем 10% случаев инфекции были вызваны ацинетобактером. С меньшей частотой выделялись *K. pneumoniae*, *Proteus* spp. и *Enterobacter* spp.

Из крови при нозокомиальных инфекциях различной локализации все грамотрицательные

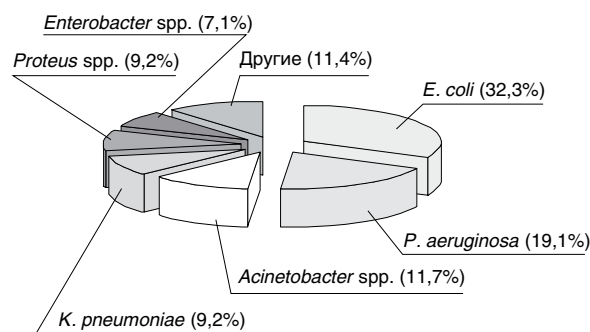


Рис. 4. Состав возбудителей, выделенных при интраабдоминальных инфекциях (n=282)

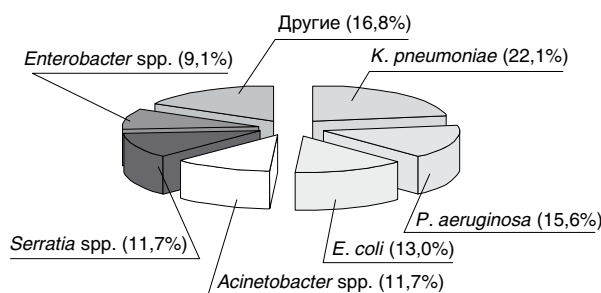


Рис. 5. Состав возбудителей, выделенных из крови (n=77)

микробы выделялись примерно с одинаковой частотой (рис. 5). Тем не менее более чем у 20% пациентов из крови были выделены штаммы *K. pneumoniae*. Вторым по частоте возбудителем оказалась синегнойная палочка. На третьем месте были кишечные палочки.

Антибиотикорезистентность

Резистентность к гентамицину была выявлена у *Acinetobacter* spp. в 71,7% случаев, *P. aeruginosa* – у 61,3%, *K. pneumoniae* – у 55,8%, у *Proteus* spp. – у 43,3%, *Enterobacter* spp. – у 24,1% и *E. coli* – у 20,9% штаммов.

Резистентность микроорганизмов является одним из фармакодинамических параметров, обуславливающим снижение эффективности антибиотика [21]. Немаловажным свойством микроорганизмов является способность развивать резистентность к целому ряду антибиотиков, что существенно затрудняет проведение эффективной антибиотикотерапии. При этом возможно развитие как перекрестной, так и ассоциированной резистентности. Под перекрестной резистентностью понимают резистентность микроорганизма к антимикробным препаратам одного химического класса, тогда как резистентность к антибиотикам более, чем одного

Таблица 4. Частота (в %) ассоциированной резистентности у аминогликозидорезистентных штаммов *P. aeruginosa*

Штаммы <i>P. aeruginosa</i>	Устойчивость к				
	пиперациллину	пиперациллину/ тазобактаму	цефтазидиму	имипенему	ципрофлоксацину
Гентамицинорезистентные	70,6	46,4	13,7	20,7	43,8
Амикацинорезистентные	60,2	30,2	34,0	39,6	69,8

Таблица 5. Частота (в %) ассоциированной резистентности у аминогликозидорезистентных штаммов *E. coli*

Штаммы <i>E. coli</i>	Устойчивость к								
	ампицил- лину	пипера- циллину	пипера- циллину/ тазобактаму	ко-амок- сиклаву	цефу- рокси- мису	цефо- таксиму	цефтри- аксону	цефтази- диму	ципрофлор- ксацину
Гентамицино- резистентные	95,1	90,2	24,5	78,4	69,6	48,0	50,0	34,3	37,3
Амикацино- резистентные	90,9	81,8	63,6	81,8	90,9	63,6	63,6	63,6	100,0

химического класса носит название ассоциированной резистентности.

Наибольший процент ассоциированной резистентности у гентамицинорезистентных штаммов *P. aeruginosa* был выявлен к пиперациллину, почти 50% обладали ассоциированной резистентностью к пиперациллину/тазобактаму и цiproфлоксацину (табл. 4). Наиболее активным в отношении гентамицинорезистентных штаммов *P. aeruginosa* был цефтазидим.

Против амикацинорезистентных штаммов наименее активными были пиперациллин и цiproфлоксацин. Одна треть амикацинорезистентных штаммов *P. aeruginosa* обладала ассоциированной резистентностью к пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму и имипенему.

Наибольший процент ассоциированной резистентности среди гентамицинорезистентных штаммов *E. coli* был отмечен к ампициллину, пиперациллину, амоксициллину/клавуланату, цефуроскиму, цефотаксиму и цефтриаксону (табл. 5). Только треть гентамицинорезистентных кишечных палочек была устойчива к пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму и цiproфлоксацину.

В отношении амикацинорезистентных штаммов *E. coli* все антибиотики имели низкую активность. Наименьший процент ассоциированной резистентности среди амикацинорезистентных изолятов был выявлен к пиперациллину/тазобактаму и цефалоспорином III поколения. Однако даже к этим антибиотикам ассоциированная резистентность составила больше 60%.

Все гентамицинорезистентные штаммы *K. pneumoniae* обладали ассоциированной рези-

стентностью к пиперациллину, больше 80% – к амоксициллину/клавуланату и цефуроскиму, не меньше половины – к цефалоспорином III поколения (табл. 6). Наибольшей активностью против гентамицинорезистентных штаммов *K. pneumoniae* обладал цiproфлоксацин.

В отношении амикацинорезистентных штаммов *K. pneumoniae* все антибиотики обладали низкой активностью. Наименьший процент ассоциированной резистентности был выявлен к пиперациллину/тазобактаму.

Высокий процент ассоциированной резистентности среди гентамицинорезистентных штаммов *Proteus* spp. был выявлен к ампициллину, пиперациллину, амоксициллину/клавуланату, цефуроскиму (табл. 7). Больше 30% были также резистентны к цефотаксиму и цефтриаксону. Низкий процент ассоциированной резистентности у гентамицинорезистентных штаммов был выявлен к пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму и цiproфлоксацину.

Резистентные к амикацину штаммы *Proteus* spp. почти в 100% случаев были устойчивы к остальным антибиотикам.

Среди гентамицинорезистентных штаммов *Enterobacter* spp. отмечался высокий процент ассоциированной резистентности к большинству антибиотиков (табл. 8). Наибольшая активность против этих микроорганизмов была выявлена у цiproфлоксацина.

Среди амикацинорезистентных штаммов энтеробактеров высокий процент ассоциированной резистентности был выявлен к большинству антибиотиков. Клинически значимой активностью обладал только пиперациллин/тазобактам.

Таблица 6. Частота (в %) ассоциированной резистентности у аминогликозидорезистентных штаммов *K. pneumoniae*

Штаммы <i>K. pneumoniae</i>	Устойчивость к							
	пиперацил- лину	пипера- циллину/ тазобактаму	ко-амок- сиклаву	цефууро- ксиму	цефо- таксиму	цефтри- аксону	цефтази- диму	ципрофлок- сацину
Гентамицино- резистентные	100,0	46,1	82,0	90,3	64,1	69,1	57,6	22,6
Амикацино- резистентные	100,0	34,3	68,6	100,0	74,3	82,9	91,4	51,4

Таблица 7. Частота (в %) ассоциированной резистентности у аминогликозидорезистентных штаммов *Proteus spp.*

Штаммы <i>Proteus spp.</i>	Устойчивость к								
	ампицил- лину	пипера- циллину	пипера- циллину/ тазобактаму	ко-амок- сиклаву	цефууро- ксиму	цефо- таксиму	цефтри- аксону	цефтази- диму	ципрофлок- сацину
Гентамицино- резистентные	94,7	71,9	18,4	57,9	70,2	43,0	34,2	14,0	17,5
Амикацино- резистентные	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	88,9	100,0	88,9

Таблица 8. Частота (в %) ассоциированной резистентности у аминогликозидорезистентных штаммов *Enterobacter spp.*

Штаммы <i>Enterobacter spp.</i>	Устойчивость к								
	ампицил- лину	пипера- циллину	пипера- циллину/ тазобактаму	ко-амок- сиклаву	цефууро- ксиму	цефо- таксиму	цефтри- аксону	цефтази- диму	ципрофлок- сацину
Гентамицино- резистентные	98,0	98,0	65,3	89,8	91,8	63,3	67,3	55,1	16,3
Амикацино- резистентные	100,0	100,0	20,0	60,0	100,0	60,0	80,0	100,0	80,0

Таблица 9. Частота (в %) ассоциированной резистентности у аминогликозидорезистентных штаммов *Acinetobacter spp.*

Штаммы <i>Acinetobacter spp.</i>	Устойчивость к			
	пиперациллину	пиперациллину/ тазобактаму	цефтазидиму	ципрофлорксацину
Гентамицино- резистентные	91,7	75,8	80,3	39,4
Амикацино- резистентные	87,5	56,3	75,0	75,0

Выявлена высокая частота ассоциированной резистентности к антибиотикам других классов как среди гентамицинорезистентных штаммов, так и среди амикацинорезистентных штаммов *Acinetobacter spp.* (табл. 9). Наиболее активным против гентамицинорезистентных *Acinetobacter spp.* был ципрофлоксацин, для которого уровень ассоциированной устойчивости не превышал 40%, в отношении амикацинорезистентных – пиперациллин/тазобактам. Однако ассоциированной резистентностью к амикацину и

пиперациллину/тазобактаму обладали более половины всех ацинетобактеров.

Таким образом, среди гентамицинорезистентных штаммов грамотрицательных нозокомиальных возбудителей наименьший процент ассоциированной резистентности был выявлен к ципрофлоксацину среди штаммов *E. coli*. У штаммов *K. pneumoniae* и *Proteus spp.* наименьший процент ассоциированной резистентности был выявлен к пиперациллину/тазобактаму и цефтазидиму.

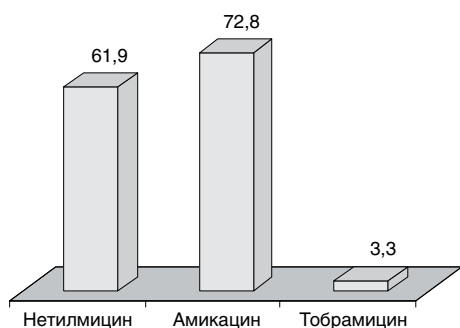


Рис. 6. Чувствительность (в %) к аминогликозидам гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae* (n=217)

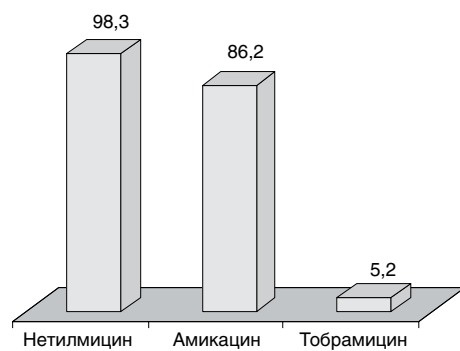


Рис. 7. Чувствительность (в %) к аминогликозидам гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *E. coli* (n=217)

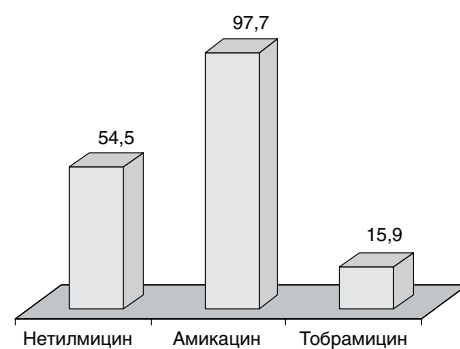


Рис. 8. Чувствительность (в %) к аминогликозидам гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *P. mirabilis* (n=115)

Из амикацинорезистентных грамотрицательных возбудителей наименьший процент ассоциированной резистентности был отмечен к пиперациллину/тазобактаму, кроме штаммов *E. coli* и *Proteus* spp., у которых ассоциированная резистентность была отмечена в высоком проценте для антибиотиков всех классов.

Не менее интересными являются данные по активности остальных аминогликозидов II–III

поколения в отношении нозокомиальных грамотрицательных возбудителей, резистентных к гентамицину.

Так, штаммы *K. pneumoniae*, резистентные к гентамицину, только в 3% случаев сохраняли чувствительность к тобрамицину. Чувствительность к нетилмицину и амикацину таких возбудителей существенно не различалась (рис. 6).

Фенотип резистентности к гентамицину и тобрамицину был обусловлен продукцией АГМФ – ANT(2^{''}), который был выявлен у 96,7% гентамицинорезистентных штаммов. Перекрестная резистентность к нетилмицину была обусловлена ферментом AAC(3)-V. У 27,2% клебсиелл был выявлен фермент APH(3')-VI, в результате продукции которого штаммы имели перекрестную резистентность к гентамицину и амикацину.

Нозокомиальные штаммы *E. coli* были практически не чувствительны к тобрамицину. В то же время такие изоляты сохраняли высокую чувствительность к нетилмицину и амикацину. Так, к нетилмицину сохраняли чувствительность практически все гентамицинорезистентные штаммы *E. coli*, к амикацину – более 85% (рис. 7).

Высокая активность нетилмицина в отношении нозокомиальных *E. coli*, резистентных к гентамицину, была обусловлена тем, что эти штаммы практически не имели фермента AAC(3)-V. Наиболее распространенными АГМФ были ANT(2^{''}), обусловивший высокую перекрестную резистентность к гентамицину и тобрамицину, а также APH(3')-VI, в результате продукции которого имела перекрестная резистентность к гентамицину и амикацину.

Нозокомиальные штаммы *P. mirabilis* также характеризовались высокой частотой перекрестной резистентности к тобрамицину (рис. 8). Максимальную активность в отношении протеев имел амикацин. Однако только чуть более половины штаммов, резистентных к гентамицину, сохраняли чувствительность к нетилмицину.

Высокая частота перекрестной резистентности гентамицинорезистентных штаммов *P. mirabilis* к тобрамицину была обусловлена продукцией двух ферментов ANT(2^{''}) и AAC(3)-V. Ацетилтрансфераза AAC(3)-V модифицировала нетилмицин, в результате чего чувствительность к нетилмицину сохраняли только 54,5% гентамицинорезистентных штаммов *P. mirabilis*. Для этих микроорганизмов редким явлением была продукция фосфотрансферазы APH(3')-VI, с чем связано сохранение высокой чувствительности к амикацину у подавляющего большинства штаммов.

Штаммы *S. marcescens* существенно отличались по фенотипу резистентности от нозокомиальных

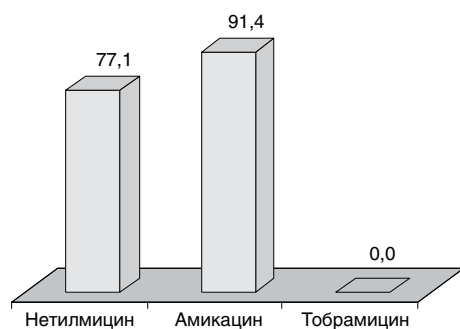


Рис. 9. Чувствительность (%) к аминогликозидам гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *S. marcescens* (n=70)

штаммов протеев (рис. 9). Отмечена полная перекрестная резистентность к гентамицину и тобрамицину. В то же время сохранялась высокая активность нетилмицина и амикацина против серраций, резистентных к гентамицину.

Меньше 25% гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *S. marcescens* являлись продуцентами АГМФ – ААС(3)-V, в результате чего сохранялась активность нетилмицина. Почти у 10% изолятов был выявлен фермент АРН(3')-VI, который обусловил перекрестную резистентность к гентамицину и амикацину.

Особый интерес представляют нозокомиальные штаммы *Acinetobacter baumannii* с учетом того, что процент этих микроорганизмов в структуре нозокомиальных возбудителей неизменно возрастает, а в ряде стационаров России в отделениях с интенсивным использованием антибиотиков эти микроорганизмы являются преобладающими.

Как видно из представленных данных, тобрамицин обладал низкой активностью в отношении резистентных к гентамицину штаммов *A. baumannii* (рис. 10). Только 17% гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *A. baumannii* были устой-

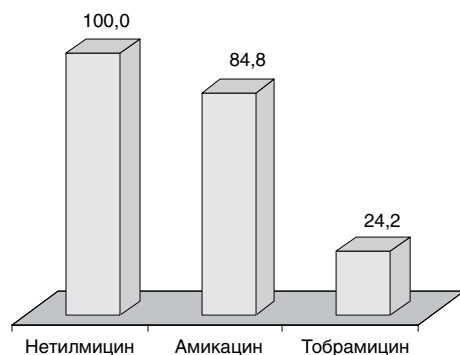


Рис. 10. Чувствительность (%) к аминогликозидам гентамицинорезистентных нозокомиальных штаммов *A. baumannii* (n=102)

чивы к амикацину. При этом нетилмицин в 100% случаев был активен против этих возбудителей.

В публикациях, посвященных механизмам резистентности к аминогликозидам у нозокомиальных штаммов *A. baumannii*, имеются данные о том, что для этих микроорганизмов характерна продукция фосфотрансферазы АРН(3')-VI [20, 22]. В данном исследовании штаммы ацинетобактеров также имели АРН(3')-VI, обуславливающий перекрестную резистентность к гентамицину и амикацину. Более 75% штаммов продуцировали АНТ(2''), в результате чего имела перекрестная резистентность к гентамицину и тобрамицину. Ни один из штаммов *A. baumannii* не имел ферментов, обуславливающих резистентность к нетилмицину.

Все исследованные микроорганизмы были резистентны к аминогликозидам I и II поколения (канамицину и неомицину) вследствие продукции ферментов АРН(3')-I и АРН(3')-II. Ни у одного грам-отрицательного нозокомиального возбудителя не было выявлено резистентности к аминогликозидам в результате изменения проницаемости клеточной мембраны.

Обсуждение результатов исследования

Эффективную антибактериальную терапию невозможно проводить без четкого представления о фармакодинамических особенностях антибиотиков (механизме действия антибиотиков и изменении их активности в зависимости от механизмов приобретенной резистентности у микроорганизмов), а также без данных по антибиотикорезистентности в определенном стационаре [23, 24]. На основании таких данных можно составить больничный формуляр и осуществлять выбор препарата в каждом конкретном случае инфекции.

Исследование показало, что во всех лечебных учреждениях основными возбудителями нозокомиальных инфекций являлись неферментирующие грамотрицательные бактерии, такие как *Acinetobacter* spp., *P. aeruginosa*, а также представителей семейства *Enterobacteriaceae* (в основном *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae* и *P. mirabilis*).

Необходимо отметить низкую активность большинства антибактериальных препаратов в отношении нозокомиальных возбудителей. Выявлена высокая частота резистентности нозокомиальных грамотрицательных возбудителей к гентамицину. В то же время в отношении гентамицинорезистентных изолятов сохраняется активность амикацина и нетилмицина. Несомненный интерес для клиницистов представляет отсутствие резистентности к нетилмицину у нозокомиальных штаммов *A. baumannii*.

Проведенные исследования позволяют сформулировать две группы практических рекомендаций: для врачей-микробиологов и клиницистов. Во-первых, следует рассмотреть подходы к оптимальному выбору аминогликозидов при лабораторном тестировании грамотрицательных возбудителей госпитальных инфекций и при оценке получаемых данных. Оптимально было бы проводить определение чувствительности к гентамицину, нетилмицину и амикацину. По результатам определения чувствительности к этим трем аминогликозидам и зная тенденцию преобладающих в России фенотипов можно ориентировочно судить о генотипе устойчивости этих микроорганизмов. В случае резистентности к гентамицину, а также в тех стационарах, где устойчивость к гентамицину широко распространена у нозокомиальных возбудителей, необходимо выдавать ответ с данными по чувствительности к амикацину и нетилмицину.

Вторая группа рекомендаций касается непосредственно врачей-клиницистов. В условиях многопрофильного стационара при проведении эмпирической терапии необходимо учитывать резистентность нозокомиальных возбудителей к антибиотикам. Результаты показывают, что разработать единую схему включения в эмпирическую терапию аминогликозидных антибиотиков для отдельного региона и даже стационара практически невозможно.

И тем более нельзя брать готовые больничные формуляры, разработанные в других странах, и использовать в наших стационарах, поскольку уровень резистентности к аминогликозидам в России значительно выше, чем в большинстве стран Европы и Америки. Задача каждого учреждения – создать свой перечень эффективных препаратов.

Итак, следует иметь в арсенале нетилмицин и амикацин. Гентамицин в большинстве лечебных учреждений целесообразно исключить из больничных формуляров и не использовать для терапии нозокомиальных инфекций. Крайне важно отметить, что, так как тобрамицин не обладает преимуществами в сравнении с гентамицином, попытки его эмпирического включения в схемы лечения вместо гентамицина создают лишь иллюзию смены антибиотика и повышения эффективности лечения. Амикацин и нетилмицин следует использовать только при выделении чувствительной к ним грамотрицательной микрофлоры. В отделениях с преобладанием нозокомиальных штаммов *A. baumannii* в качестве препарата выбора следует выбирать нетилмицин.

Данные рекомендации направлены на разумное ограничение применения антибиотиков этой группы, что, возможно, позволит сохранить их для дальнейшего эффективного клинического использования.

Литература

1. Страчунский Л.С. Проблемы и перспективы антибактериальной терапии. Российские медицинские вести 1998; (1):23-27.
2. Begg E.J., Barclay M.L., Kirkpatrick C.J.M. The therapeutic monitoring of antimicrobial agents. Br J Clin Pharmacol 1999; 47:23-30.
3. Cookson B. Clinical significance of emergence of bacterial antimicrobial resistance in the hospital environment. J Appl Microbiol 2005; 99:989-96.
4. Rello J., Rue M., Jubert P., et al. Survival in patients with nosocomial pneumonia: impact of the severity of illness and the etiologic agent. Crit Care Med 1997; 25:1862-7.
5. Jones M.E., Karlowky J.A., Draghi D.C. Epidemiology and antibiotic susceptibility of bacteria causing skin and soft tissue infections in the USA and Europe: a guide to appropriate antimicrobial therapy. Int J Antimicrob Agents 2003; 22:406-19.
6. Fish D.N., Ohlinger M.J. Antimicrobial resistance: factors and outcomes. Crit Care Clin 2006; 22:291-311.
7. Kollef M.H., Micek S.T. Strategies to prevent antimicrobial resistance in the intensive care unit. Crit Care Med. 2005; 33:1845-53.
8. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Швеченко О.В., Эйдельштейн М.В. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. Клин микробиол антимикроб химиотер 2008; 10:96-112.
9. Hanberger H., Erlandsson M., Burman L.G., et al. High antibiotic susceptibility among bacterial pathogens in Swedish ICUs. Report from a nation-wide surveillance program using TA90 as a novel index of susceptibility. Scand J Infect Dis 2004; 36:24-30.
10. Mittermayer H., Rotter M., Breitfellner G., et al. Resistance of gram-negative bacilli and staphylococci from blood cultures to aminoglycoside antibiotics. Comparison of 3 in vitro investigations from Austria 1982-1988. Zentralbl Bakteriol 1990; 272:448-57.
11. Harrell L.R., Evans L.B. Anaerobic resistance of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* to aminoglycosides. Antimicrob Agents Chemother 1978; 14:927-9.
12. Gospodarek E. Susceptibility to antibiotics and biochemical activity of strains *Acinetobacter* sp. isolated from various sources. Med Dosw Microbiol 1993; 45:331-7.
13. Reller L.B., Schoenknecht F.D., Kenny M.A., et al. Antibiotic susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*: selection of a control strain and criteria for magnesium and calcium content in media. Antimicrob Agents Chemother 1987; 31:1514-8.

14. Решедько Г.К. Особенности резистентности грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций к аминогликозидам в России. Антибиотики и химиотерапия 2004; 49:6-18.
15. Miller G.H. and aminoglycoside resistance study groups. Increasing complexity of aminoglycoside resistance mechanisms in gram-negative bacteria. APUA Newsletter 1994; 12.
16. Вакуленко С.Б. Бактериальные ферменты, инактивирующие аминогликозидные антибиотики и кодирующие их гены. Антибиотики 1992; 4:49-54.
17. 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.
18. Miller G.H. Aminoglycoside Resistance Surveys Team. USA: Schering-Plough Research Institute. 1992.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 14th informational supplement. NCCLS document M100-S14. 2004. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
20. 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.
21. Сидоренко С.В. Фармакодинамика антибиотиков. Клиническая фармакология и терапия 2002; 11(2):12-15.
22. Nemeč A., Maixnerová M. Aminoglycoside resistance of *Acinetobacter baumannii* hospital strains in the Czech Republic. Klin Mikrobiol Infekc Lek 2004; 10:223-8.
23. McGowan J. E. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. Antimicrob Resistance 1983; 5:1033-48.
24. Montie T., Patamasucon P. Aminoglycosides: the complex problem of antibiotic mechanisms and clinical applications. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14:85-7.