

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии ОмГМУ

Телевная Любовь Григорьевна,
старший преподаватель, к.м.н.

Антибиотики

лекция

Основные вопросы.

1. Исторические данные развития химиотерапии.
2. Антибиотики- определения понятия.
3. Требования к антибиотикам.
4. Классификация антибиотиков.
5. Механизмы действия антибиотиков.
6. Формирование устойчивости бактерий к антибиотикам (генетические и фенотипические механизмы).
7. Лабораторные методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам.
8. Побочные действия антибиотиков.

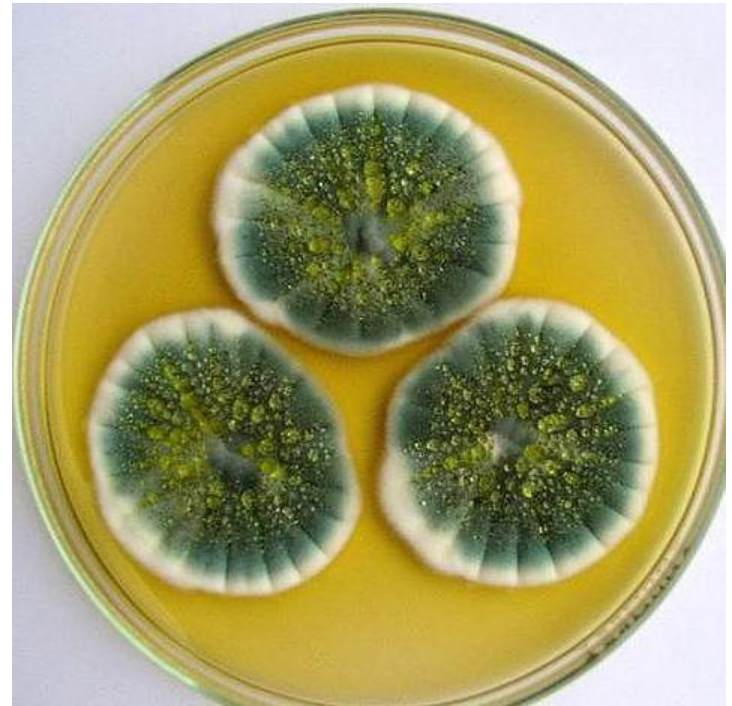
Исторические данные развития химиотерапии

Еще в 1871-1872гг. российские ученые

В.А. Манассеин и А.Г. Полотебнов

наблюдали эффект при лечении зараженных ран прикладыванием зеленой плесени.

Было много и других ученых, так или иначе наблюдавших антагонизм микроорганизмов и пытавшихся создать «волшебную пулю»



Исторические данные развития химиотерапии

1891г.- Д.А. Романовский - основоположник химиотерапии, открыл хинин для лечения малярии.

1906г. - П. Эрлих обосновал принцип химической вариации, синтезировал **сальварсан** и **неосальварсан** (спирохетоцидное действие).

1929г. – А. Флеминг- получил вещество, угнетающее рост стафилококка из *Penicillium notatum*.

Дюбо получил тироцидин, грамицидин действующий на стафилококки

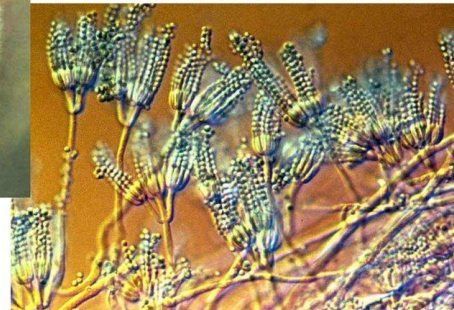
1932 г.- синтезирован первый сульфаниламидный препарат – **стрептоцид**.

1944г. С. Ваксман – открыл **стрептомицин**

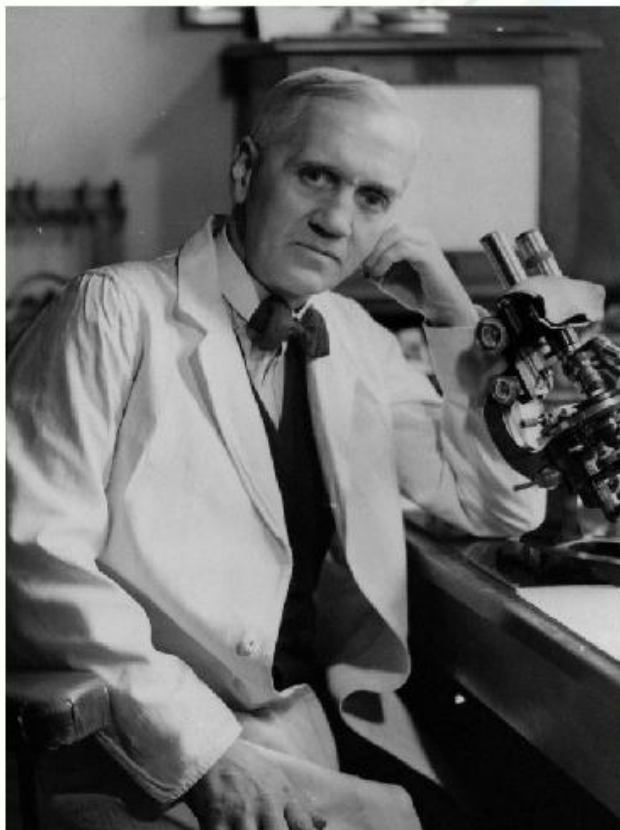
Александр Флеминг – открыватель пенициллина



Пеницилл



Страница истории



Александр Флеминг



Зинаида Ермольева



Работа в прифронтовом госпитале



З.В. Ермольева:

«Препарат излечивал больных, погибавших от заражения крови, больных рожистым воспалением и воспалением легких. Он давал хорошие результаты при лечении газовой гангрены, предупреждал развитие нагноения в ране после хирургической обработки, способствовал ликвидации гнойных процессов при тяжелых ранениях черепа». 1943г.

Зинаида Виссарионовна Ермольева – создатель отечественного пенициллина



З.В. Ермольева и сэр
Говард Флори. 1944



В.А. Каверин на кафедре у
З.В. Ермолевой. 1960-е годы



Исторические данные развития химиотерапия

1947г. – хлорамфеникол

1948г.– бензилпенициллин

1949г. – неомицин

1950г. – нистатин

1952г. – эритромицин, циклосерин

1953г. - новобиоцин

1954г. - олеандомицин

1955г. – канамицин

1959г. - леворин

Антибиотики

- - вещества, получаемые из микроорганизмов, растений, животных тканей, их полусинтетические производные и синтетические аналоги, обладающие выраженным губительным или повреждающим действием на микроорганизмы (и опухоли).

Требования к антибиотикам

- эффективность в низких концентрациях;**
- стабильность в организме и при хранении;**
- низкая токсичность или ее отсутствие;**
- бактериостатический или бактерицидный эффект;**
- отсутствие выраженных побочных эффектов;**
- отсутствие иммунодепрессивного воздействия.**

Классификация антибиотиков

Антибиотики **классифицируют**: по происхождению, антимикробным спектрам, механизмам действия, химическому составу.

По происхождению:

Антибиотики образуют:

- грибы (пенициллины)
- бактерии (полимиксин, грамицидин)
- **актиномицеты** (стрептомицин, левомицетин, эритромицин)
- растения (фитонциды, рафанин) и животные (интерфероны, лизоцим).

Классификация антибиотиков

По способу получения:

- Природные (пенициллин, стрептомицин)
- Полусинтетические (оксициллин, ампициллин)
- Синтетические (левомицетин)

Действие химиотерапевтических средств

- **Бактериостатическое** действие – это подавление роста и размножения микроорганизмов.
- **Бактерицидное** действие – вызывающее гибель микроорганизмов.

Классификация антибиотиков

По спектру действия:

антибактериальные

противогрибковые (нистатин, амфотеррицин, низорал, леварин);

противотуберкулезные (изониазид, канамицин);

противовирусные (интерфероны, ацикловир);

противоопухолевые (рифампицин).

Классификация антибиотиков

По спектру действия

антибактериальные подразделяются

□ узкого спектра действия

-действующие преимущественно на грамположительную микрофлору- пенициллин, эритромицин;

- действующие преимущественно на грамотрицательную микрофлору- полимиксин

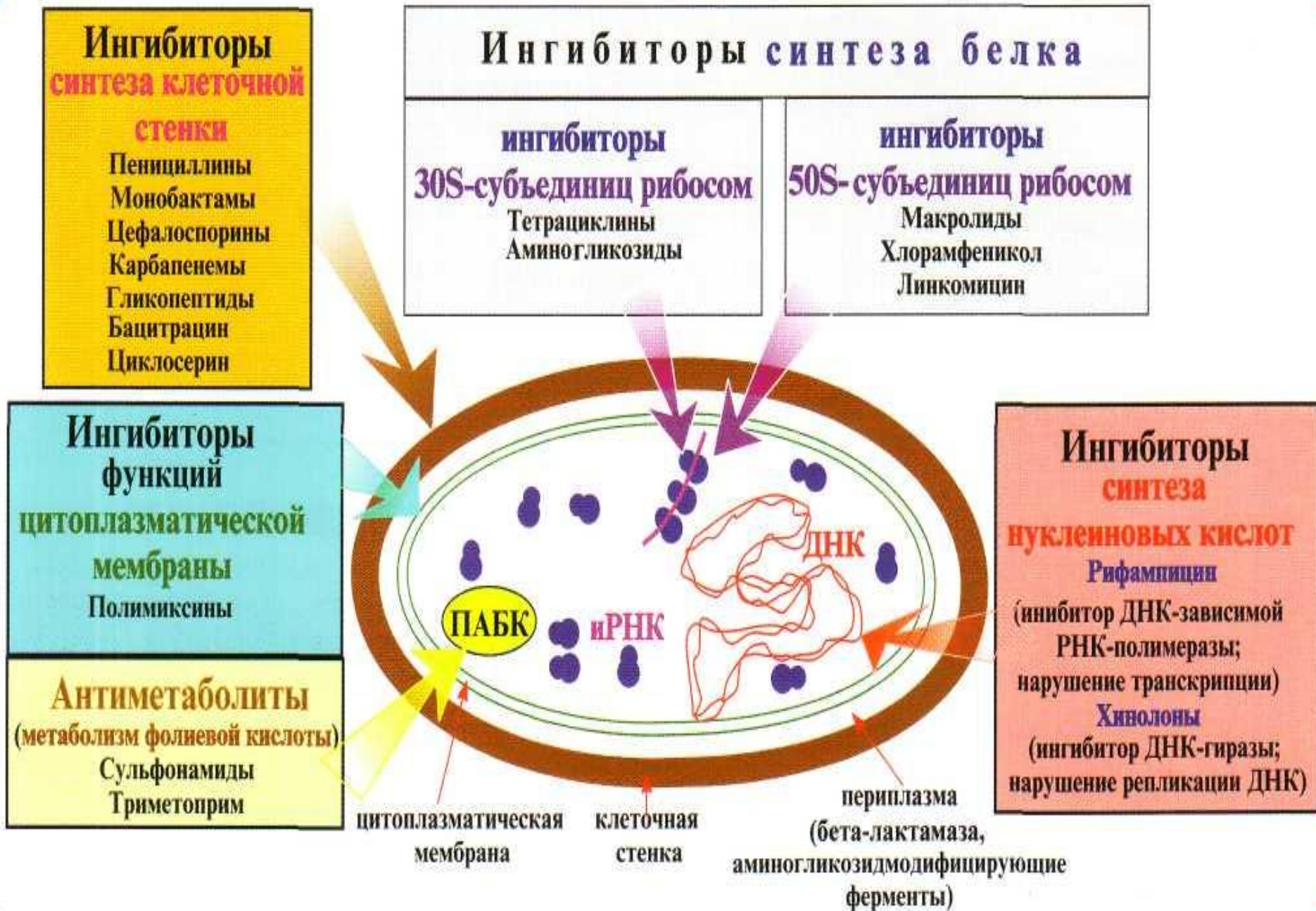
□ широкого спектра действия (тетрациклины, стрептомицин);

Классификация антибиотиков

По механизму действия:

- ингибиторы сборки, пространственного расположения и синтеза пептидогликана (пенициллины, цефалоспорины, ванкоми-цин);
- ингибиторы синтеза белка (стрептомицин, тетрациклины, левомицетин);
- ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот, пуринов (налидиксовая кислота, рифам-пицин);
- ингибиторы синтеза цитоплазматической мембраны грибов (нистатин).

Механизм действия антибиотиков на бактерии



Механизм действия антибиотиков

Ингибиторы синтеза пептидогликанов

- снижают активность промежуточных предшественников синтеза клеточной стенки (бацитрацин, фосфомицин, циклосерин, ванкомицин, ристомицин).

Вызывают бактерицидный эффект (кроме циклосерина).

Механизм действия антибиотиков

Ингибиторы сборки и пространственного расположения молекул пептидогликана - это бета-лактамные антибиотики (пенициллины, цефалоспорины). Мишенью являются транспептидазы, которые завершают синтез пептидогликана. Транспептидазы - это белки-ферменты в цитоплазматической мембране.

Бета-лактамы различаются по степени сродства к ферментам, которые получили название пенициллинсвязывающих белков.

Биологический эффект - от бактериостатического до бактерицидного (литического).

Механизм действия антибиотиков

Ингибиторы синтеза белка на уровне рибосом 70S

- Тетрациклины блокируют связывание aa-тРНК на А-участке рибосомы 70S.
- Хлорамфеникол подавляет пептидилтрансферазную реакцию.
- Стрептомицины препятствуют превращению инициаторного комплекса в функционально активную рибосому.
- Эритромицин блокирует реакцию транслокации.
- Пуромицин, присоединяясь к растущему концу синтезируемой полипептидной цепи, вызывает преждевременное отделение ее от рибосомы.

Механизм действия антибиотиков

Ингибиторы синтеза цитоплазматической мембраны – увеличивают проницаемость ЦПМ, что приводит к выходу из клетки жизненно важных соединений.

- **Полиены** – противогрибковые антибиотики – нистатин, леворин - связываются со стеринами в ЦПМ грибов, что приводит к образованию каналов в ЦПМ и гибели клеток
- **Полимиксины** – действуют на грамотрицательные бактерии
- **Грамицидины** – действуют на грамположительные бактерии

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот, пуринов

1. Механизм действия **фторхинолонов** - избирательно подавляют бактериальные ферменты ДНК-гиразы, участвующие в репликации ДНК. Фторхинолоны связываются со специфическими участками ДНК, которые создаются воздействием ДНК-гиразы, и подавляют ее активность.
2. **Рифампицины** угнетают активность ДНК - зависимых РНК-полимераз, вследствие чего у бактерий подавляются процессы транскрипции.
3. Активность **противоопухолевых** антибиотиков связана с тем, что они либо являются ингибитором синтеза ДНК (брунеомицин), либо подавляют активность ДНК в системе ДНК-зависимой РНК-полимеразы, т. е. блокируют транскрипцию (антрациклины, актиномицины, оливомицин).

Антимикробное (антибактериальное) действие АБП

**Активность подавляющего большинства АБП
измеряется в микрограммах (мкг).**

Обычно 1 ЕД единице действия соответствует

- 1 мкг ХЧ препарата или**
- количество препарата, содержащегося в 1 мл
раствора препарата .**

По химическому составу:

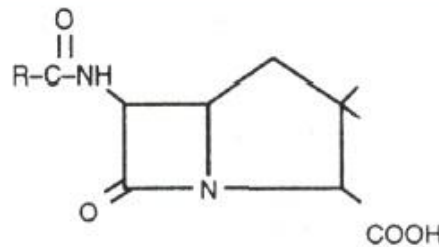
- Беталактамы** – азотсодержащие гетероциклические соединения с **бета-лактамным кольцом**:

А-природные (пенициллин)

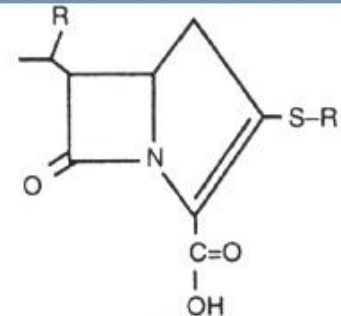
Б- полусинтетические (метицилин),

В-цефалоспорины

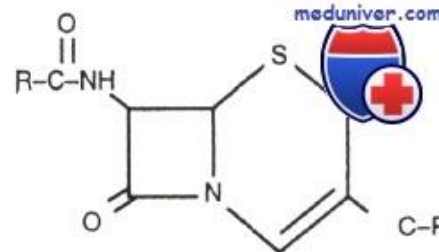
Бета-лактамы антибиотики



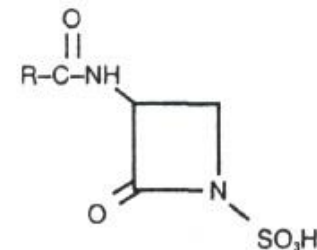
ПЕНИЦИЛЛИНЫ



КАРБАПЕНЕМЫ



ЦЕФАЛОСПОРИНЫ



МОНОБАКТАМЫ

По химическому составу:

2. **Полиеновые** – нистатин, леворин, амфотерицин. С двойными связями (СН=СН).

3. **Аминогликозиды**, включают группы:

А. Стрептомицина.

Б. Аминогликозидные, содержащие дезоксистрептамин (неомицин, мономицин, канамицин, гентамицин – олигосахаридной

4. **Тетрациклин** и его полусинтетические производные: окситетрациклин, хлортетрациклин, морфоциклин. Состоят из 4-х конденсированных бензольных колец с разными радикалами.

По химическому составу:

- 5. Левомецетин** – синтетическое вещество, идентичное природному хлорамфениколу с составом: нитрофенил, дихлорацетамин, пропандиол.
- 6. Макролиды** – содержащие макроциклическое лактонное кольцо (эритромицин, олеандомицин).
- 7. Рифампицины**: природный – рифамицин; полусинтетический – рифампицин. Имеют макроциклическое кольцо (+BC).

По химическому составу:

8. **Гликопептиды** – высокомолекулярные соединения, содержащие углеводы и аминокислоты: ванкомици, ристомицин, линкомици.
9. производные **парааминосалициловой кислоты** (ПАСК), изоникотиновой кислоты (изониазиды) – это противотуберкулезные препараты первого ряда.
10. **фторхинолоны**: циклофлоксацин, нефлоксацин, офлоксацин.
11. **фосфомицины** – из группы фосфоновой кислоты (действие на Гр –).

Лекарственная устойчивость бактерий

Существуют два типа: естественная (природная) и приобретенная.

- **Естественная лекарственная устойчивость**

является видовым признаком и не зависит от первичного контакта с данным антибиотиком (в ее основе нет никаких специфических механизмов).

Недоступность мишени для данного антибиотика обусловлена слабой проницаемостью клеточной стенки и цитоплазматической мембраны.

Низкая проницаемость к нескольким антибиотикам обуславливает полирезистентность этих бактерий.

Приобретенная лекарственная устойчивость

возникает только в результате изменения ее **генома** (хромосомный и плазмидный).

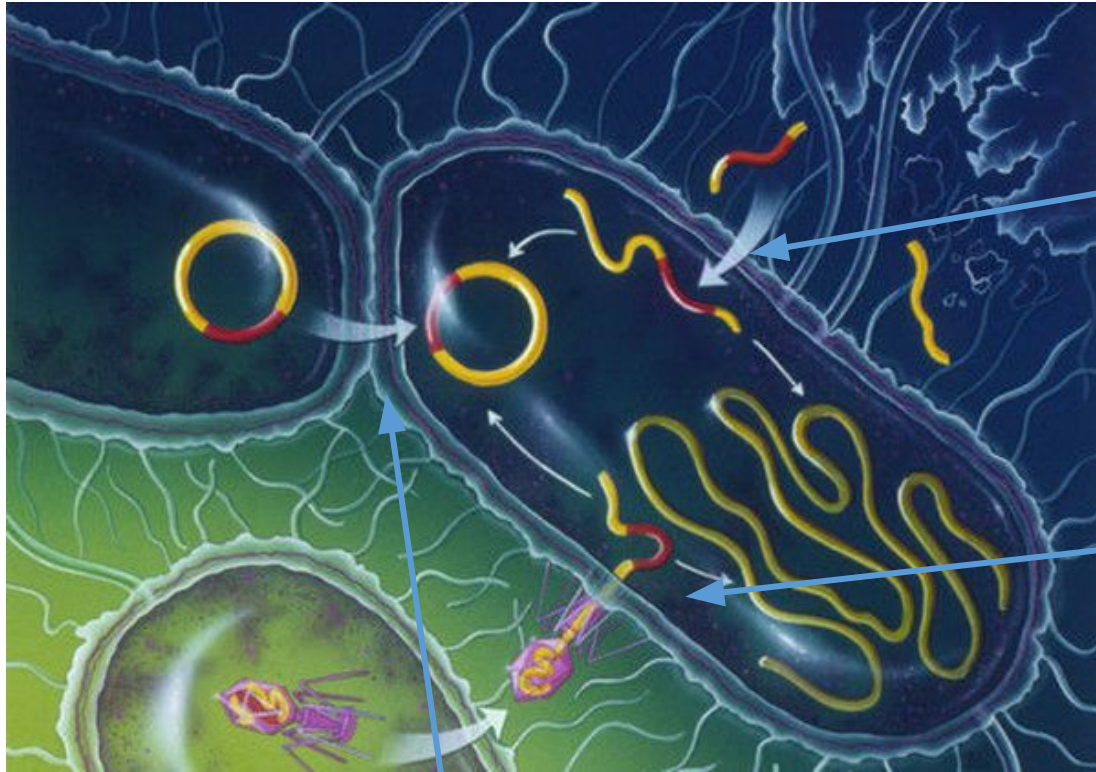
Варианты генетических изменений:

- Мутация в генах бактериальной хромосомы
- Приобретение дополнительных генов, носителями которых являются
 - хромосомы других бактерий,
 - R-плазмиды,
 - транспозоны,
 - бактериофаги

Возможности и пути образования лекарственной устойчивости у бактерий

- Устойчивость как следствие мутации не играет основную роль.
- Основная роль принадлежит генам **R-плазмид**. Генофонд лекарственной устойчивости образуется за счет генов, имеющих у продуцентов антибиотиков (гены самозащиты).
- В природе, особенно в почве, а также в кишечнике человека и животных микроорганизмы сосуществуют в тесных взаимоотношениях, что обеспечивает им постоянную возможность обмена генетическим материалом.

Механизмы обмена генетической информацией у бактерий



трансформация

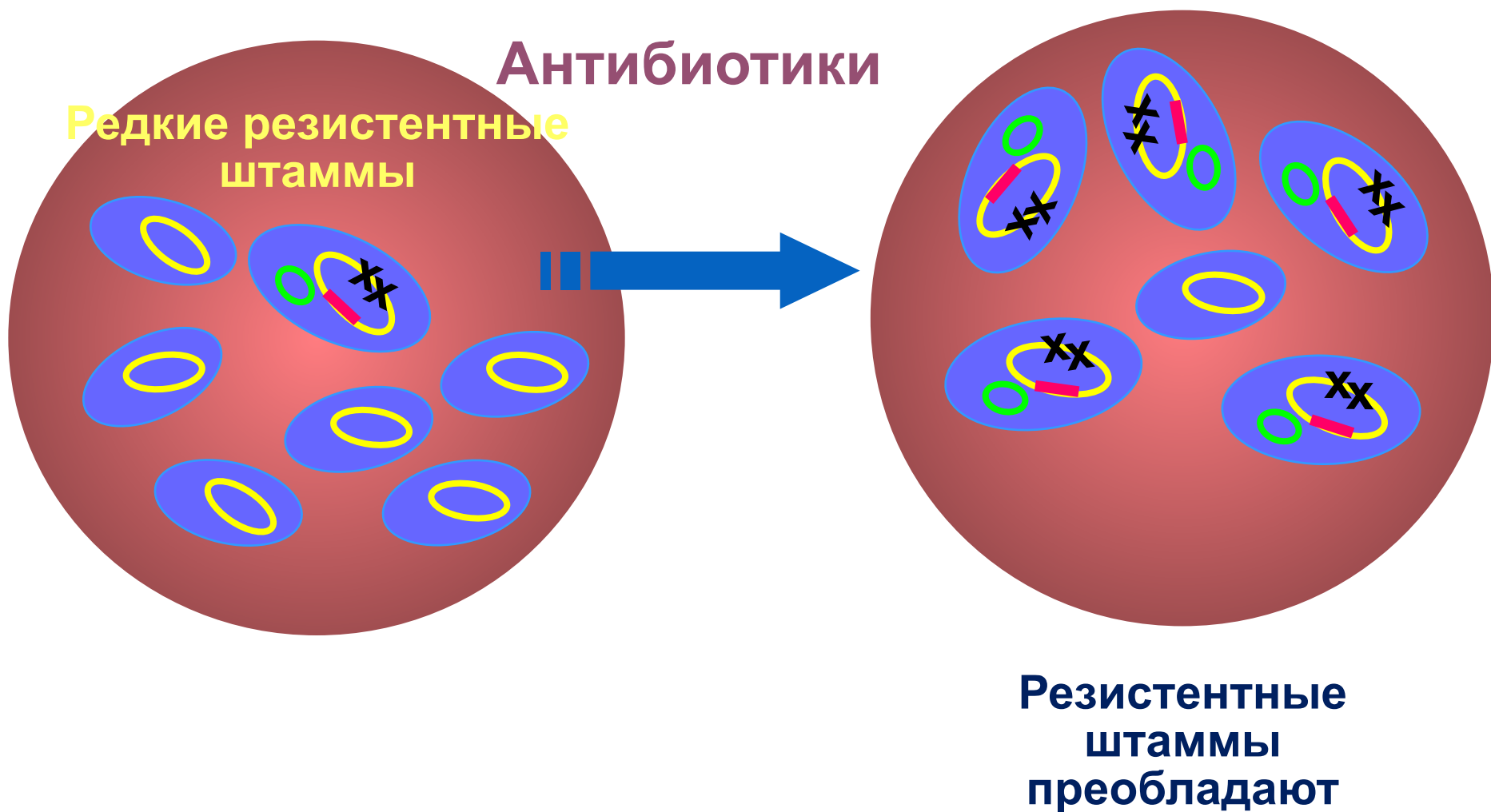
трансдукция

конъюгация

Приобретенная лекарственная устойчивость

- Приобретая устойчивость к антибиотику, бактерии получают выгоднейшие преимущества: благодаря селективному давлению антибиотиков происходит вытеснение чувствительных к ним штаммов, а устойчивые выживают и играют главную роль в эпидемиологии данного заболевания.

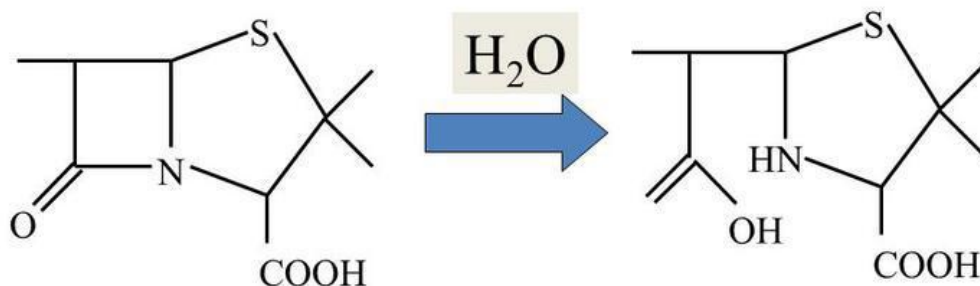
СЕЛЕКЦИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ



БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

1. Разрушение молекулы антибиотика ферментами - бета-лактамазы разрушают бета-лактамное кольцо пенициллинов и I

Бета-лактамазы представляют собой группу бактериальных ферментов, способных гидролизовать бета-лактамные антибиотики



- 1940 – E. Abraham E. Chain описали инактивацию пенициллина в бесклеточном экстракте культуры *E. coli*
- 1965 – описана бета-лактамаза TEM-1
- Наст. время – описано более 700 бета-лактамаз

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

- 2. Модификация структуры молекулы антибиотика.** Гены R-плазмид кодируют белки, которые вызывают модификации молекул антибиотика путем их ацетилирования, фосфорилирования или аденилирования. В результате - утрачивается их биологическая активность. Инактивируются: аминогликозиды, макролиды, хлорамфеникол, клиндамицин.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

3. Изменение структуры мишеней. Изменение структуры белков рибосом 70S - в основе устойчивости к стрептомицину, аминогликозидам, макролидам, тетрациклинам.

Изменение структуры ферментов:

- бактериальных гидраз приводит к формированию устойчивости к хинолонам;
- РНК-полимераз - к рифампицину;
- пенициллин-связывающих белков (транспептидаз) - к бета-лактамам.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

- 4. Образование бактериями «обходного» пути метаболизма для биосинтеза белка-мишени, который оказывается нечувствительным к данному химиопрепарату - сульфаниламидные препараты.**
- 5. Формирование механизма активного выведения из клетки антибиотика (один из вариантов устойчивости к тетрациклинам).**

Механизм устойчивости к изониазиду у *M. tuberculosis*.

- Действие изониазида на туберкулезную палочку зависит от наличия плазмиды, в составе которой имеется **ген, продукт которого превращает неактивный изониазид в активную форму, разрушающий бактериальную клетку.** Утрата этого гена обуславливает устойчивость *M. tuberculosis* к изониазиду.

С 1930 по 1970-е годы – открыты все классы АБ

С 1970 по 2000 –е годы – линкозамиды

оксазолидиноны

карбапенемы

С 2000 года – новых классов АБ не было открыто!

Стоимость разработки 1 АБ более

1 млрд. \$

Это не выгодно!

Современный парадокс

Резистентность АБ

Разработка новых
препаратов

Заболеваемость
Летальность
Затраты на лечение

**Резистентные штаммы
(причины формирования)**

```
graph BT; A[Высокий уровень потребления АБ] --> C[Резистентные штаммы (причины формирования)]; B[Недостаточная регистрация нозокомиальных инфекций] --> C; D[Недостаточный уровень микробиологической диагностики (неадекватная АБ терапия)] --> C; E[Недостаточно эффективное использование инфекционного контроля] --> C;
```

**Высокий уровень
потребления АБ**

**Недостаточная
регистрация
нозокомиальных
инфекций**

**Недостаточный уровень
микробиологической
диагностики (неадекватная АБ
терапия)**

**Недостаточно эффективное
использование инфекционного
контроля**

Эволюция резистентности

Монорезистентность

Полирезистентность

Панрезистентность

Регистрация нозокомиальных инфекций

(по данным 2004г.)

США – 2-2,5 млн. случаев;

Израиль – 3 млн. случаев;

Россия – 30 тыс. регистрируется,

**реально по данным ЦНИИ
эпидемиологии Роспотребнадзора
2-2,5 млн.**

Антибиотикорезистентность – глобальная пандемия.

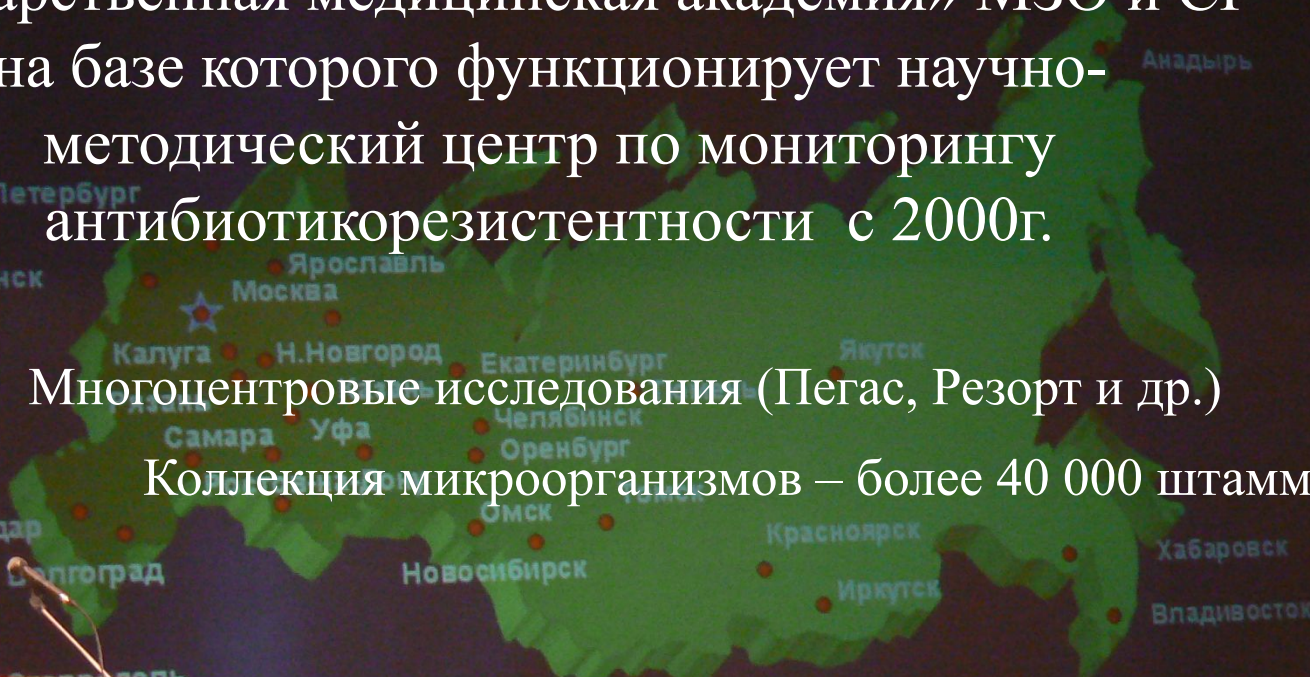
Данной проблемой в России занимается НИИ
антимикробной химиотерапии «Смоленская
государственная медицинская академия» МЗО и СР
на базе которого функционирует научно-
методический центр по мониторингу
антибиотикорезистентности с 2000г.

Многоцентровые исследования (Пегас, Резорт и др.)

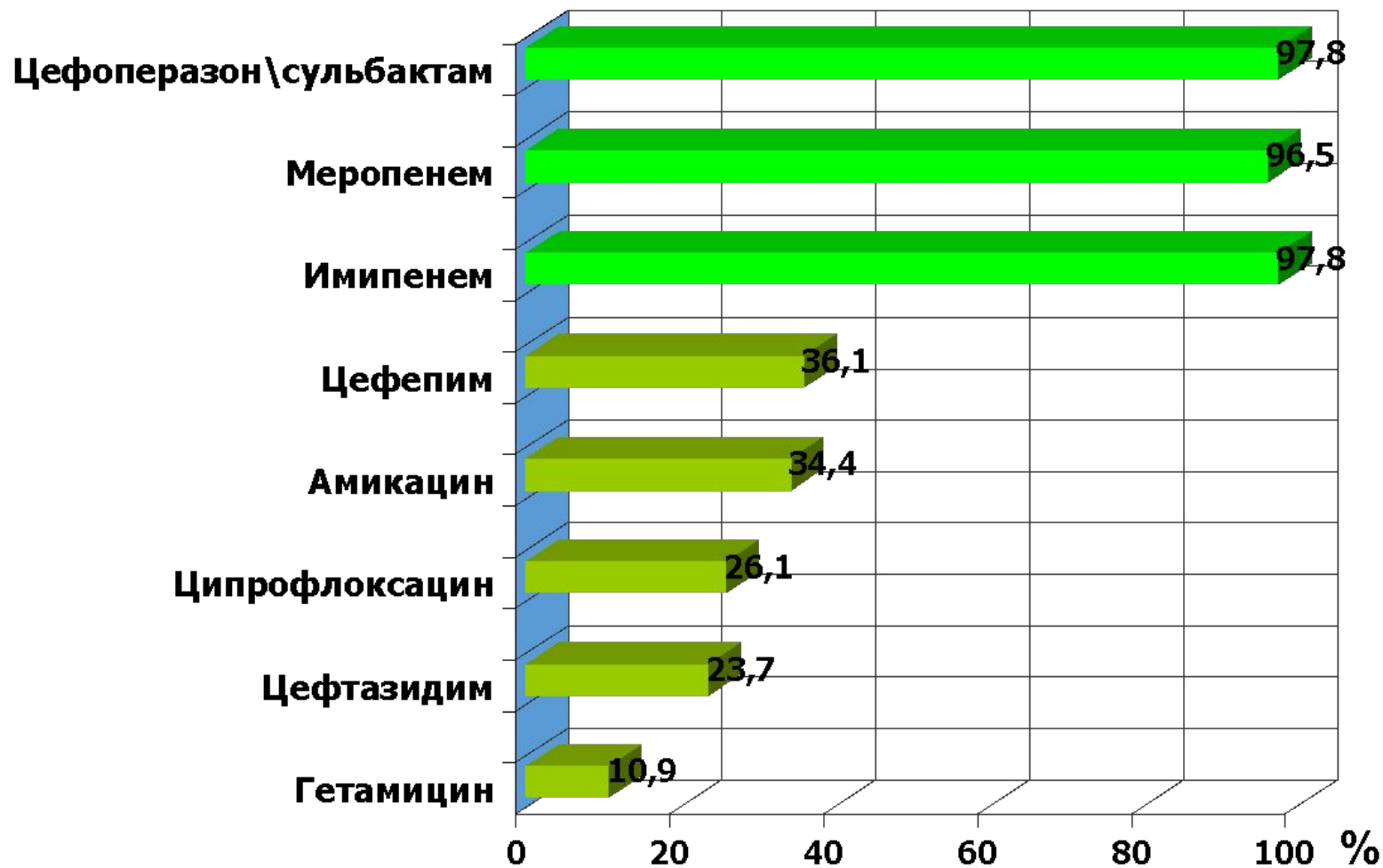
Коллекция микроорганизмов – более 40 000 штаммов

Выявлять проблемы

Прогнозировать динамику



Чувствительность *Acinetobacter*



ОРИТ 33 стационаров России (РЕЗОПТ 2002 -2004)

- **Определение показаний для исследования чувствительности микроорганизмов к АБП является обязанностью врача-бактериолога**

Бактериологическая диагностика – цели: (лаборатория клинической микробиологии)

I. РУТИННЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ (ЕЖЕДНЕВНЫЕ):

По выделению, идентификации
микробов, определению
чувствительности к
антибиотикам, антимикотикам,
фагам

**БЛАНК
АНАЛИЗА**

**КОРРЕКЦИЯ
АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ**

II. МОНИТОРИНГ ЛОКАЛЬНЫХ ДАННЫХ ВЕДУЩЕЙ МИКРОФЛОРЫ, ЕЁ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Стационара, отделения, палат
реанимации в виде:

ОТЧЕТОВ

ТАБЛИЦ

ГРАФИКОВ

ВЫБОР ЭМПИРИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

МУК 4.2.1890-04

4. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

4.1. Общая характеристика методов

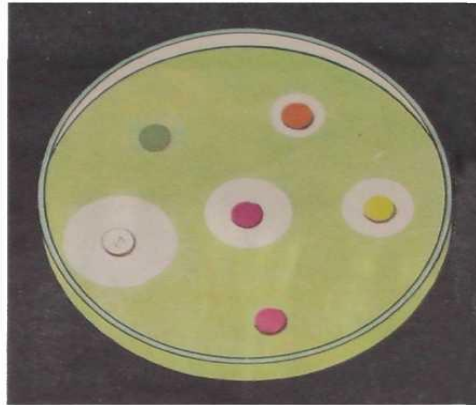
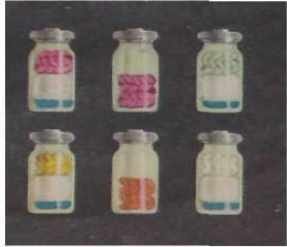
Современные стандартизованные методы определения чувствительности микроорганизмов к АБП подразделяют на методы **серийных разведений и диффузионные.**

Диффузионные методы определения чувствительности основаны на диффузии АБП из носителя в плотную питательную среду и подавлении роста исследуемой культуры в той зоне, где концентрация АБП превосходит МПК. В настоящее время существуют две основные модификации диффузионного метода: **диско-диффузионный и E-тест.**

Разновидностью метода серийных разведений является также метод, основанный на использовании только двух концентраций АБП, соответствующих пограничным значениям МПК.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

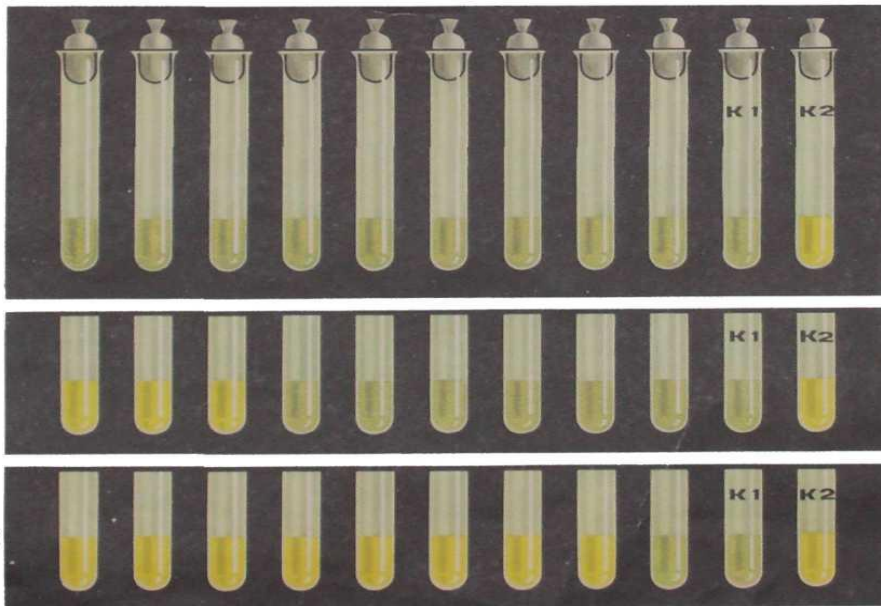
МЕТОД ИНДИКАТОРНЫХ ДИСКОВ



Метод диффузии в агар (дисков) основан на зависимости между зоной подавления роста культуры вокруг диска и значением **минимальной подавляющей концентрации (МПК) антибиотика.**

Метод серийных разведений позволяет более точно определить МПК.

МЕТОД СЕРИЙНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ



ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ АНТИБИОТИКОВ

1-НЕ ЭФФЕКТИВЕН

2-МАЛО ЭФФЕКТИВЕН

3-ЭФФЕКТИВЕН

К-КОНТРОЛЬ

Бета-лактамазный тест с цефалоспорином *нитроцефином* – для определения способности к синтезу бета-лактамаз

С помощью **микробиологических анализаторов**

Молекулярно-генетические методы

Метод диффузии в агар с использованием бумажных дисков

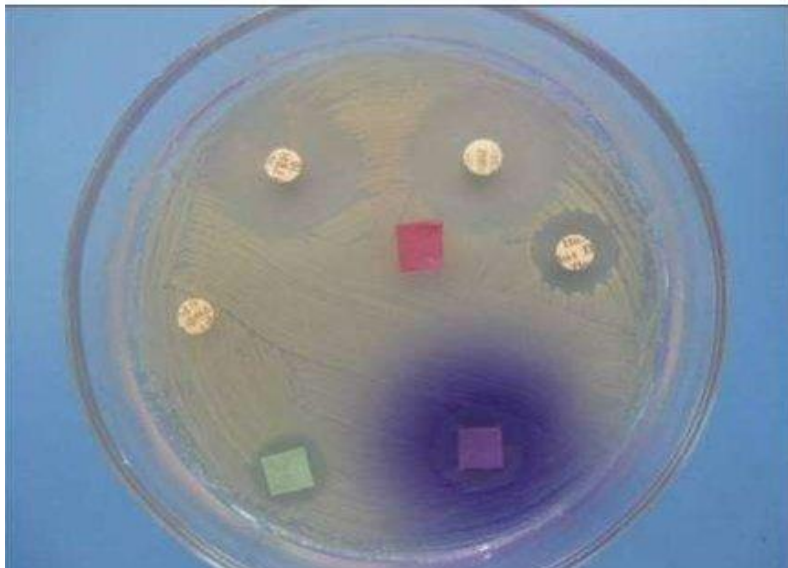
Метод основан на зависимости между зоной подавления роста культуры вокруг диска и значением **минимальной подавляющей концентрации (МПК)** антибиотика



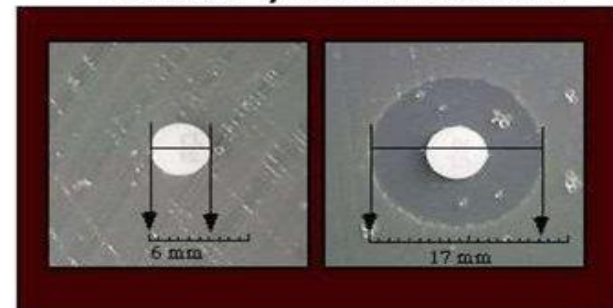
Принцип диско-диффузионного метода определения чувствительности к антибиотикам



Бактериальную культуру засевают газоном на питательный агар, после чего на его поверхность пинцетом помещают на равномерном расстоянии друг от друга бумажные диски, содержащие определенные дозы разных антибиотиков. Посевы инкубируют при 37 °С в течение суток. По диаметру зон задержки роста культуры судят о ее чувствительности к соответствующим антибиотикам. При зоне задержки роста до 15 мм культура расценивается как нечувствительная или низко чувствительная, 15 – 24 мм – средняя чувствительность, 25 мм и более –



высокочувствительная.



Метод диффузии в агар с использованием бумажных дисков

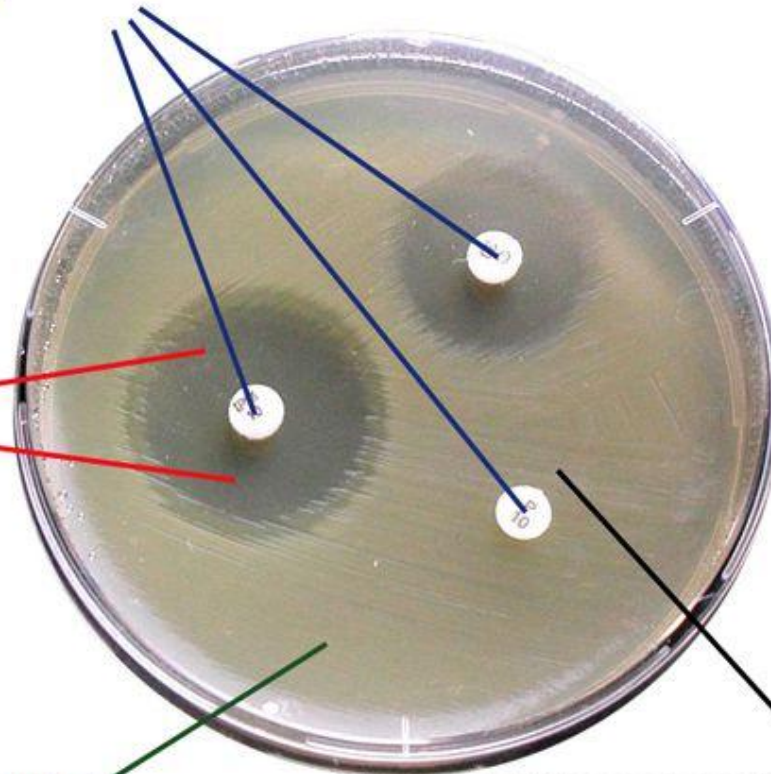
Бумажные диски пропитанные разными антибиотиками

Зона отсутствия роста.
Т.е. к данному антибиотику
микробы чувствительны (S)

Микроорганизмы
на питательной

Активный рост микробов около
диска с антибиотиком.

Т.е. Микробы резистентны (R)



Метод бумажных ДИСКОВ



Количественный метод серийных разведений

- Метод серийных разведений позволяет определить МПК минимальную подавляющую концентрацию



Определение чувствительности микроорганизма с помощью E-теста проводится аналогично тестированию диско-диффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску E-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной (рис. 2). В месте пересечения эллипсовидной зоны подавления роста с полоской E-теста получают значение минимальной подавляющей концентрации (МПК).

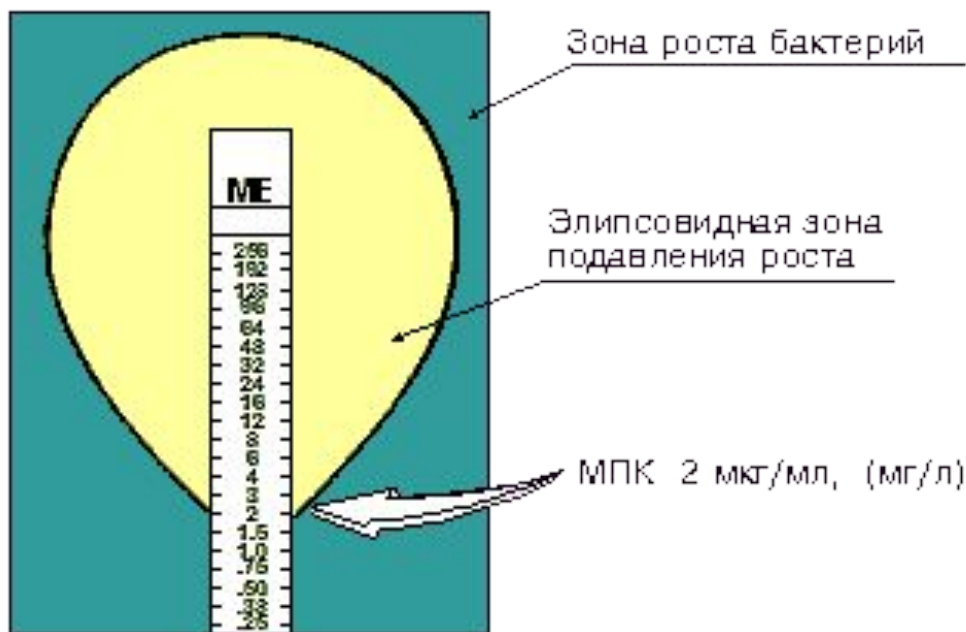
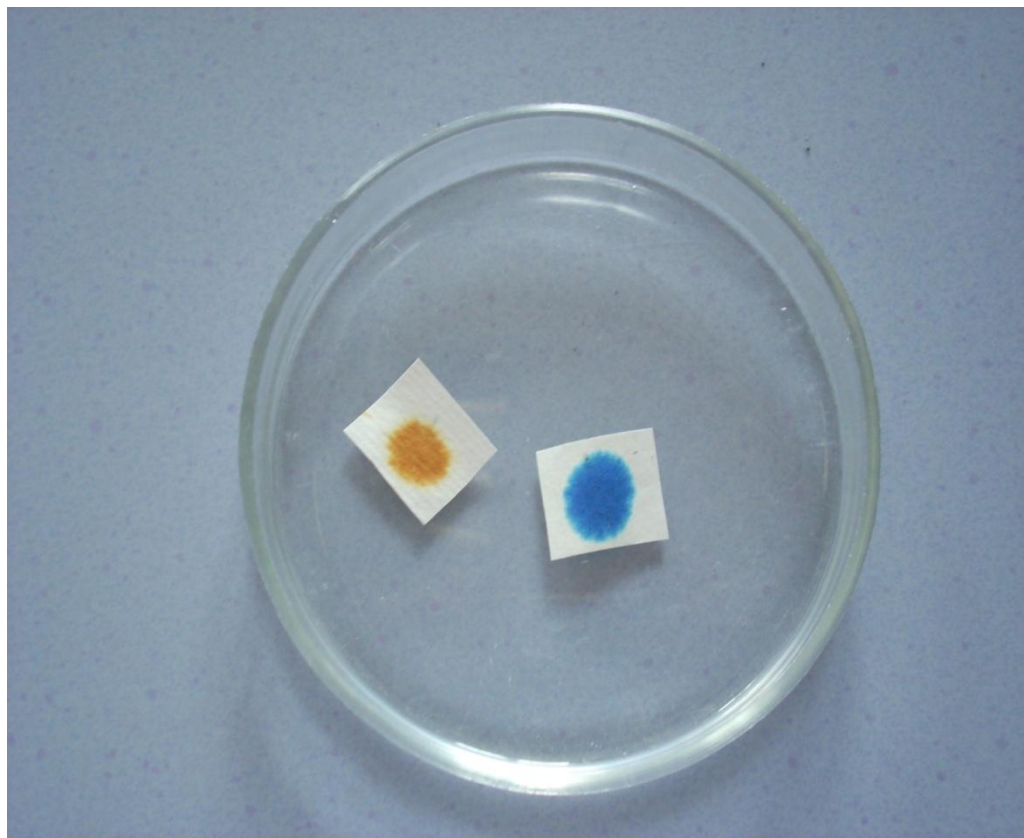


Рисунок 2. Определение чувствительности микроорганизмов с помощью E-тестов.

Бета-лактамазный тест

Тест с
цефалоспорином
нитроцефином –
для определения
способности к
синтезу бета-
лактамаз (синее
окрашивание дисков
при гидролизе)



•Е-тесты, используемые для выявления БЛРС, содержат на противоположных концах полоски два убывающих по направлению к центру градиента концентрации: цефтазидима и комбинации цефтазидима с клавулановой кислотой, нанесенной в фиксированной концентрации вдоль градиента



a - *E.coli* , отрицательный результат



b - *E.coli* , положительный результат

ДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРА БЕТА-ЛАКТАМАЗ КЛАВУЛАНОВОЙ КИСЛОТЫ (АМОКСИКЛАВ, АМОКСИКЛАВ КВИКТАБ)





autoSCAN-4



VITEK 2
Compact



BD Phoenix



Система
Sensititre

Раннее утро
(9⁰⁰)



Пересев положительной
монокультуры

Окраска по Граму

+1 час



2ml



Подготовка образца
Центрифугирование,
отбор культуры с
Мутностью 0,5 по
МакФарланд



Ручная загрузка



**Исследование
чувствительности**
Полностью
индивидуальный
подбор
антибиотиков

+3-5 часов
Полдень
(13⁰⁰-15⁰⁰)



Результаты
антибиотикочувствительности



Sensitive



Sensitive



Resistant



Resistant



Resistant



Resistant



Resistant



Resistant



Resistant

Побочное действие антибиотиков

- Дисбактериоз
- Токсическое действие
- Аллергические реакции
- Тератогенное действие

Аллергические проявления



Спасибо за внимание!



Выбери себя, доктор!

Хороший врач

знает какие есть антибиотики.

отличный врач

знает, когда можно применять антибиотики.

самый лучший врач

знает, когда не надо назначать антибиотики.

Разрушение бета-лактамного кольца пенициллиназой (бета-лактамазой)

