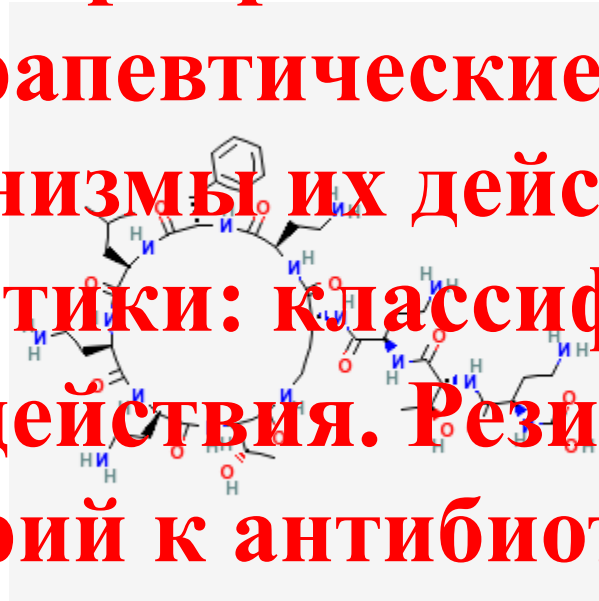


Волгоградский государственный медицинский университет
кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии
с курсом клинической микробиологии

Действие биологических факторов на микроорганизмы.

Химиотерапевтические средства,
механизмы их действия.

Антибиотики: классификация,
механизм действия. Резистентность
бактерий к антибиотикам.



Лектор:

Доцент кафедры микробиологии,
вирусологии, иммунологии, к.м.н.
Михайлова Людмила Викторовна

История происхождения антибиотиков

- 1871-1872 г А.Г.Полотебнов и В.А Манассеин использовали зеленую плесень для лечения гнойных ран (повязки с плесневицей).
- 1871 г Джозеф Листер обнаружил бактерицидное действие грибков на бактерии.
- 1854 г Паулс Эрлих получил сальварсан.
- 1891 г Д.А.Романовский доказал воздействие хинина на малярийный плазмодий.
- 1912 г П.Эрлих синтезировал мышьяковистый препарат сальварсан, эффективный против возбудителя сифилиса.
- 1932 Г.Домагк открыл сульфаниламидные препараты и применил их в медицинской практике.

- 1929 г А.Флеминг выделил из грибка пеницилловую кислоту, обладающую антимикробным действием.
- 1940 г Э.Чейн и Х.Флори применили пенициллин для лечения животных и человека.
- 1941 г З.В.Ермольева получила пенициллин и успешно применяла для лечения.
- 1944г Ваксман получил стрептомицин.
- 1945 г Бортцу получил цефалоспорины из грибов.
- 1945г А.Флеминг, Э.Чейн и Х.Флори получили Нобелевскую премию за открытие пенициллина и изучение его действия

Химиотерапевтические препараты

- Это лекарственные вещества, используемые для подавления жизнедеятельности и уничтожения микроорганизмов в тканях и средах больного, обладающие избирательным, этиотропным (действующим на причину) действием.

Классификация химиотерапевтических средств

- По направленности действия:
 - Противопротозойные
 - Противогрибковые
 - Противовирусные
 - Антибактериальные

- По химическому строению:
- *Сульфаниламиды* – оказывают бактериостатическое действие, которое связано с разрушением фолиевой кислоты и блокированием метаболических реакций. Норсульфазол, сульфадимезин, уросульфан. Бисептол – комбинированный препарат.
- *Аналоги изоникотиновой кислоты* – обладают бактериостатическим действием в отношении возбудителя туберкулеза. Тубазид, изониазид.
- *Производные нитрофурана* – механизм действия состоит в блокировании нескольких ферментных систем микробной клетки. Фурациллин, фурагин, фуразолидон.

- *Азолы* – производные имидазола. Обладают противогрибковой активностью. Ингибируют биосинтез стероидов, что приводит к повреждению клеточной мембраны грибов и повышению ее проницаемости. К ним относят клотримазол, кетоконазол, флуконазол и тд.
- *Группа хинолов* – блокируют репликацию ДНК и транслокацию в бактериальной клетке. Норфлоксацин, ципрофлоксацин.
- *Диаминопиримидины* – нарушают метаболизм микробной клетки. К ним относят триметоприм, пириметамин.
- *Антибиотики* – группа соединений природного происхождения или их синтетических аналогов.

АНТИБИОТИКИ

- **Антибиотики** – это группа соединений природного происхождения или их полусинтетических и синтетических аналогов, обладающих антимикробным (против микроорганизмов, грибов) или противоопухолевым действием.

Антибиотики должны обладать свойствами:

- При низкой концентрации должны убивать возбудителя болезни или подавлять его рост и размножение.
- Активность не должна снижаться под действием жидкостей организма.
- Быстрое воздействие на возбудителя.
- Безвредность для макроорганизма.

Классификация антибиотиков:

По биологическому происхождению:

- Из бактерий: грамицидины, полимиксины
- Из актиномицетов: стрептомицин
- Из грибов: пенициллины
- Из растений: хлореллин
- Из животных тканей: экмолин, лизоцим

По спектру действия:

- Узкого спектра действия: пенициллины, ванкомицин, нистатин
- Широкого спектра действия: тетрациклины, левомицетин, полимиксины

По направленности действия:

- Антибактериальные: пенициллины
- Антимикобактериальные: стрептомицин, рифампин
- Противогрибковые: нистатин
- Противоопухолевые: митомицин

По химической структуре:

- Бета-лактамы: пенициллин
- Аминогликозиды: неомицин
- Хинолы: оксолиновая кислота
- Тетрациклины: тетрациклин
- Полимиксины: полимиксин
- Полиены: нистатин
- Полипептиды: грамицидин и др

Механизм действия антибиотиков:

1. Угнетение синтеза клеточной стенки.

- Пенициллины и цефалоспорины ингибируют синтез клеточной стенки.
- Бацитрацин, ванкомицин блокируют ранние этапы синтеза пептидогликана.
- Циклосерин блокирует включение D-аланина в состав пептидогликана.

2. Нарушение структуры и функции ЦПМ.

- Полимиксины инициируют выход из клеток фосфатов, пентоз и нуклеотидов.
- Валиномицин образует в ЦПМ каналы, нарушая ее целостность и функции.
- Грамицидин S снижает поверхностное натяжение ЦПМ, вызывает резкое нарушение ее проницаемости и быструю потерю клетками аминокислот, нуклеотидов, фосфатов.

3. Угнетение синтеза белка.

- Аминогликозиды блокируют биосинтез белка, нарушают считывание информации с м-РНК, что приводит к образованию нефункционального белка.
- Тетрациклины связываются с 30S субъединицей рибосом и препятствуют включению новых амк в полипептидную цепь.
- Макролиды связываются с 50S субъединицей рибосом и нарушают включение новых амк в полипептидную цепь.

4. Угнетение синтеза нуклеиновых кислот.

- Рифамицины блокируют синтез РНК на бактериальной хромосоме.
- Хинолы блокируют действие фермента, который участвует в репликации ДНК.
- Новобиоцин подавляет синтез РНК, снижает содержание ДНК в растущих клетках и нарушает нормальное протекание клеточного деления.

5. Угнетение энергетического метаболизма.

- Олигомицины подавляют клеточное дыхание и окислительное фосфорилирование.

Антибиотическая активность

- За единицу антибиотической активности принимают минимальное количество антибиотика, способное подавить развитие или задержать рост определенного числа клеток стандартного штамма тест-микроба в единице объема питательной среды. Измеряется в микрограммах.
- $1\text{мкг}=1\text{ЕД}$

Устойчивость м/о к действию антибиотиков

- ***Истинная (природная) устойчивость:***
- Характеризуется отсутствием у микробов мишени действия антибиотиков или недоступностью мишени.
- Это постоянный видовой признак микроорганизмов.

- ***Приобретенная устойчивость***
- Это свойство штаммов м/о сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции.
- Возникает при изменении генома:
 - Связана с мутациями в генах бактерий
 - Связана с наличием R-плазмид

Биохимические механизмы формирования резистентности

- Разрушение антибиотика ферментами (пенициллиназа, лактамаза)
- Модификация структуры антибиотика в результате которой утрачивается его биологическая активность.
- Изменение метаболизма у бактерий в результате чего микроорганизм становится нечувствительным к АБ.
- Формирование механизма активного выведения из клетки АБ, в результате чего он достигает мишени действия.
- Изменение структуры бактериальных клеток.

Преодоление устойчивости м/о к АБ

- Создание новых АБ.
- Соблюдение принципов рациональной антибиотикотерапии.
- Ротация АБ.
- Применение комбинаций АБ с разным механизмом действия.
- Использование средств, подавляющих развитие устойчивости.

Осложнения антибиотикотерапии:

- **Аллергические реакции:**
 - Анафилактический шок
 - Сывороточная болезнь
 - Кожные высыпания
- **Токсическое действия:**
 - Цефалоспорины – нефротоксическое
 - Аминогликозиды – ототоксическое
 - Тетрациклины – гепатотоксическое
- **Дисбиоз**

Принципы рациональной антибиотикотерапии (С.М.Навашин)

- Выделение и идентификация возбудителя, изучение антибиотикограммы.
- Выбор наиболее активного и наименее токсичного препарата.
- Определение оптимальных доз и методов введения.
- Своевременное начало лечения и проведения курса АБ-терапии до закрепления терапевтического эффекта.
- Знание характера и частоты побочных явлений при назначении антибиотика.
- Комбинирование антибиотиков между собой и с другими препаратами с целью улучшения фармакокинетики и снижения частоты осложнений.

Методы определения чувствительности к антибактериальным препаратам

Диффузионные методы:

- с использованием дисков с антибиотиками
- с помощью E-тестов

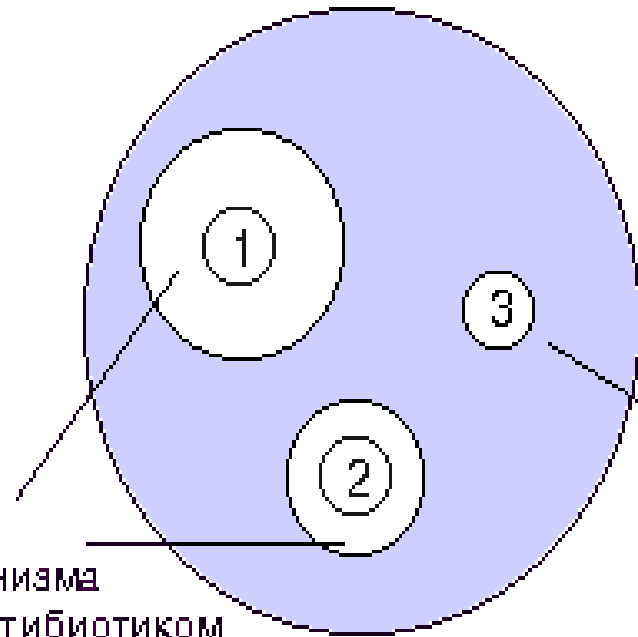
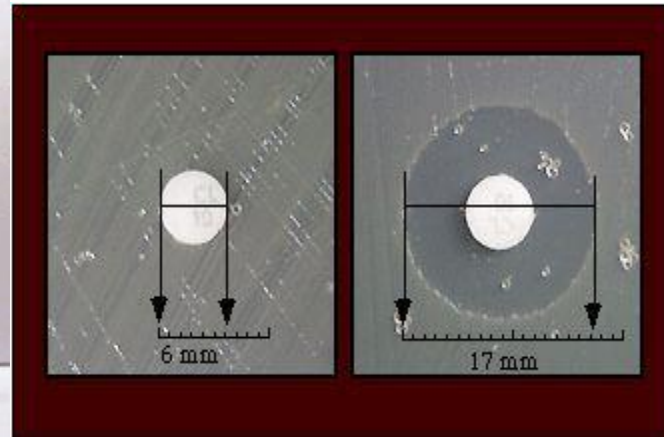
Методы разведения:

- разведение в жидкой питательной среде (бульоне)
- разведение в агаре

Диско-диффузионный метод

На поверхность агара Мюллер-Хинтона или среды АГВ в чашке Петри наносят бактериальную суспензию определенной плотности (обычно эквивалентную стандарту мутности 0,5 по McFarland $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл) и засевают методом «газона». Затем помещают диски, содержащие определенное количество антибиотика. Инкубируют в термостате при $t=+37^{\circ}\text{C}$ 24 часа. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков. Учитывают результат путем измерения диаметра зоны «задержки роста» вокруг диска в миллиметрах.

Диско-диффузионный метод



Зона подавления
роста микроорганизма
вокруг диска с антибиотиком

(микроорганизм чувствителен к антибиотик
или микроорганизм умеренно резистентен
к антибиотик (2))

Нет зоны подавления
роста микроорганизма
вокруг диска с антибиотиком
(микроорганизм устойчив к антибиотик (3))

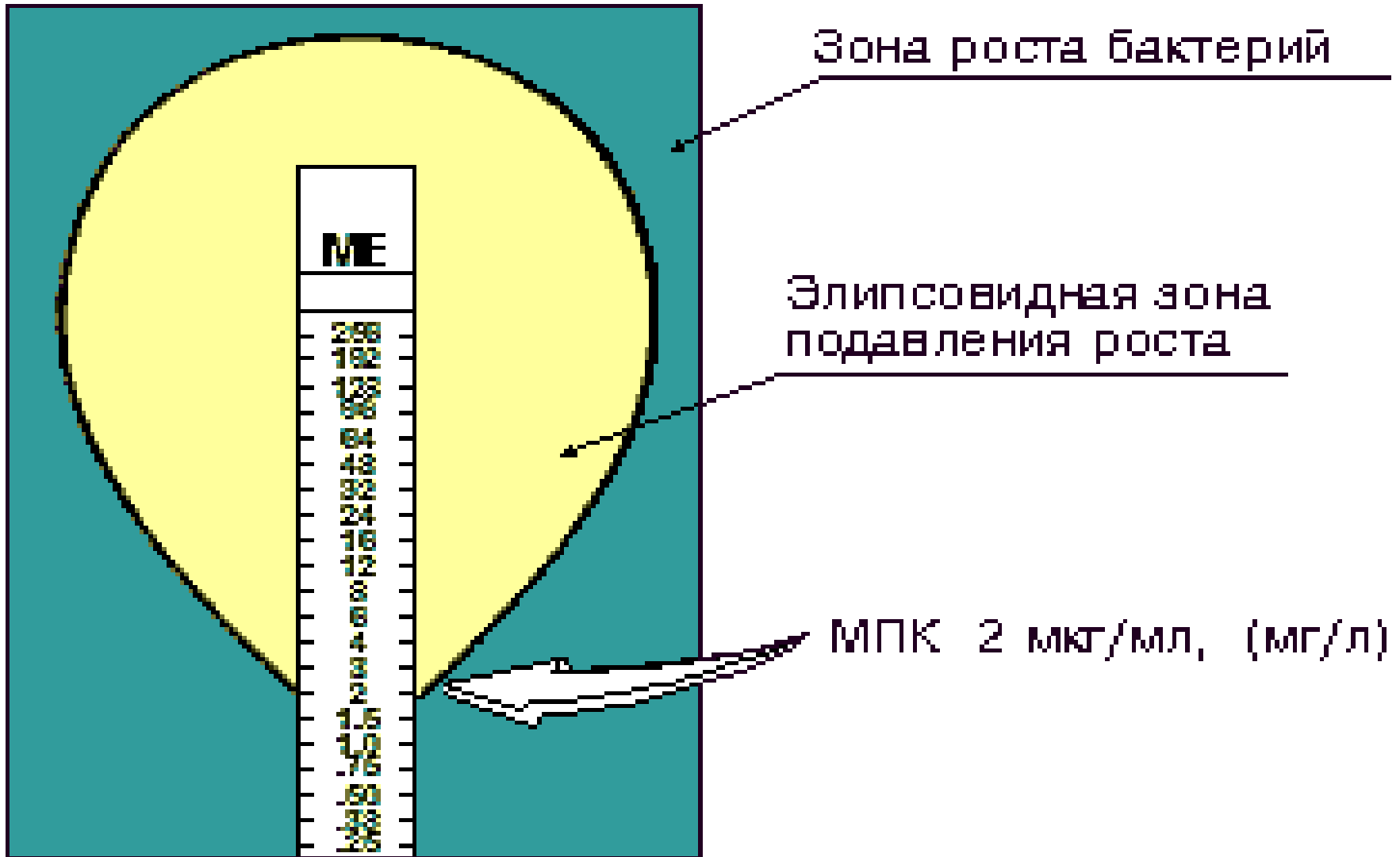
Результаты:

- если диаметр «зоны задержки роста» менее 15 мм – это низкая чувствительность,
- если диаметр «зоны задержки роста» от 15 до 25 мм – это средняя чувствительность,
- если диаметр «зоны задержки роста» более 25 мм – это высокая чувствительность.
- если «зона задержки роста» отсутствует – значит микроорганизм не чувствителен к данному антибиотику.

Диффузионный метод: E-тест

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. Метод основан на диффузии антибиотиков в агар и позволяет определять значение минимальной подавляющей концентрации (МПК). Зона задержки роста имеет форму эллипса, размеры которого увеличиваются от меньшей концентрации антибиотика на полоске к большей. В месте пересечения эллипсовидной зоны подавления роста с полоской E-теста получают значение МПК.

Е-тест представляет собой пластиковую полоску размером 5 x 50 мм с нанесенным градиентом концентрации антибиотика.



Методы разведения

основаны на использовании двойных последовательных разведений концентраций антибиотика от максимальной к минимальной (например от 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, и т.д. до 0,5 мкг/мл, 0,25 мкг/мл и 0,125 мкг/мл).

Антибиотик в различных концентрациях вносят в жидкую питательную среду (бульон) или в агар.

Бактериальную суспензию определенной плотности, соответствующую стандарту мутности 0,5 по McFarland, помещают в бульон с антибиотиком или на поверхность агара в чашке.

После инкубации в течение ночи при температуре 35°-37°С проводят учет полученных результатов.

Методы разведения

Результаты:

Наличие роста микроорганизма в бульоне (помутнение бульона) или на поверхности агара свидетельствует о том, что данная концентрация антибиотика недостаточна, чтобы подавить его жизнеспособность. По мере увеличения концентрации антибиотика рост микроорганизма ухудшается.

Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется бактериальный рост принято считать **минимальной подавляющей концентрацией (МПК)**. Измеряется МПК в мг/л или мкг/мл.