

# ЛЕКЦИЯ № 8

## АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

ДЛЯ СТУДЕНТОВ, ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО НАПРАВЛЕНИЮ ПОДГОТОВКИ «БИОЛОГИЯ»  
(ПРОФИЛЬ «БИОХИМИЯ») ПРИ ИЗУЧЕНИИ ДИСЦИПЛИНЫ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ПРОИЗВОДСТВЕ  
АНТИБИОТИКОВ»

# Антибиотикорезистентность. Механизмы резистентности бактерий к антибиотикам


- Одновременно с расширением области применения антибиотиков увеличилось число патогенных штаммов микроорганизмов, проявляющих повышенную устойчивость к отдельным или нескольким антибиотикам, что привело к снижению, а в ряде случаев к потере эффективности примененных препаратов.
- Различают природную устойчивость, связанную с особенностями данного вида микроорганизмов, приобретенную устойчивость и трансмиссивную лекарственную устойчивость.


# ***ПЛАН ЛЕКЦИИ***

1. Антибиотикорезистентность. Механизмы резистентности бактерий к антибиотикам

2. Механизмы устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам отдельных групп

3. Множественная устойчивость, связанная со снижением проницаемости

- 
- **Природная устойчивость** характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени для воздействия антибиотика или недоступности мишени. вследствие первичной низкой проницаемости или ферментативной инактивации. При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики клинически неэффективны. Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов, поэтому легко прогнозируется.

- 
- Под **приобретенной устойчивостью** понимают свойство отдельных штаммов микроорганизмов сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции.
  - Приобретенная устойчивость развивается благодаря способности отдельных бактериальных клеток к мутации, которая не является направленной и не связана с воздействием лекарственных веществ. В результате применения антибиотика, который в данном случае играет роль селективного агента, чувствительные клетки погибают, а устойчивые мутанты выживают, размножаются и становятся источником распространения антибиотикорезистентных штаммов.

# Приобретенная устойчивость

- По скорости возникновения приобретенная устойчивость подразделяется на два типа: стрептомициновая, возникающая в результате одноступенчатой мутации, когда устойчивые мутанты популяции выявляются после одно- или двукратного контакта с антибиотиком, и пенициллиновая, возникающая за счет многоступенчатых мутаций, когда устойчивые мутанты популяции выявляются после многократного контакта с антибиотиком.

## Комитетом экспертов ВОЗ одобрено два определения устойчивости бактерий.

- В клиническом смысле микроорганизм условно может быть признан устойчивым, если он переносит концентрацию антибиотика, которую не представляется возможным достичь в месте инфекции.
- С бактериологической точки зрения микроорганизм устойчив, если он переносит более высокие концентрации лекарственного препарата, чем другие штаммы того же вида.
- В связи с этим, «устойчивость» – это понятие относительное и может считаться абсолютным только в том случае, если микроорганизм совершенно лишен каких-либо структур, на которые воздействует антибиотик. Так, например, L-формы бактерий, не имеющие клеточной стенки, являющейся местом воздействия пенициллина, абсолютно устойчивы к данному антибиотику.

# Биохимические механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам

- модификация мишени действия;
- инактивация антибиотика;
- активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс);
- нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки;
- формирование метаболического «шунта».
- В зависимости от механизма, лежащего в основе приобретенной устойчивости бактерий к антибиотикам, различают **ферментативный тип устойчивости**, т.е. способность бактерий инактивировать антибиотик с помощью специфических ферментов ( $\beta$ -лактамаза, амидаза и др.).



- **Трансмиссивная лекарственная устойчивость** возникает в результате переноса от клеток-доноров к клеткам-реципиентам ДНК-содержащего генетического материала, находящегося в хромосомах или расположенного вне хромосом.
- Трансформация – процесс передачи ДНК-содержащих материалов от лизированных клеток к клеткам-реципиентам – представляет собой крайне редкий путь передачи резистентности.
- Трансдукция – процесс передачи генетического материала от клеток-доноров к клеткам-реципиентам с помощью фага – отмечена у стафилококков и энтерококков.
- Конъюгация – половой процесс передачи генетического материала при прямом контакте клеток через плазматические мостики – является преобладающим путем передачи резистентности от микроорганизмов-доноров к микроорганизмам-реципиентам одного или разных видов.

- Значительное число исследований посвящено разработке методов подавления **межбактериальной передачи резистентности к антибиотикам**. Установлено, что некоторые антибиотики (стрептомицин, неомицин, рифампицин, полимиксин и др.), нитрофурановые препараты (фурагин, фуразолин), пиронин, кофеин и другие вещества препятствуют передаче трансмиссивной устойчивости к антибиотикам.
- В настоящее время практически проблема повышения эффективности антибиотиков решается несколькими путями, наиболее эффективны из которых следующие:
  - поиск новых природных антибиотиков, эффективных против болезней, вызываемых резистентными штаммами микроорганизмов;
  - получение новых лекарственных препаратов с лучшими противомикробными фармакокинетическими параметрами путем направленной химической трансформации молекул природных антибиотиков;
  - применение сочетаний двух или нескольких антибиотиков с различными механизмами противомикробного действия или антибиотиков с другими терапевтическими веществами с целью затруднить развитие резистентности у возбудителей заболевания и снизить токсичность отдельных компонентов за счет уменьшения дозы каждого из них.

# Механизмы устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам отдельных групп

## β-лактамы антибиотики

- Ферментативная инактивация. Наиболее распространенным механизмом устойчивости микроорганизмов к β-лактамам является их ферментативная инактивация в результате гидролиза одной из связей β-лактамного кольца под действием β-лактамаз. В настоящее время описано более 200 ферментов, отличающихся по следующим практически важным свойствам:
  - *субстратный профиль* – способность к преимущественному гидролизу тех или иных β-лактамовых антибиотиков, например, пенициллинов, цефалоспоринов или тех и других в равной степени;
  - *локализация кодирующих генов* определяет эпидемиологию антибиотикорезистентности. При плазмидной локализации генов происходит быстрое внутри- и межвидовое распространение антибиотикорезистентности, при хромосомной локализации генов – наблюдают распространение резистентного клона;
  - *чувствительность к применяющимся в клинической практике ингибиторам* клавулановой кислоте, сульбактаму и тазобактаму.

- Снижение проницаемости внешних структур грамотрицательных бактерий. Внешняя мембрана грамотрицательных микроорганизмов является препятствием для проникновения  $\beta$ -лактамных антибиотиков внутрь клетки. Транспорт антибиотика через внешнюю мембрану к чувствительным мишеням осуществляется через воронкообразные белковые структуры, получившие название «порины» или «пориновые каналы».
- Активное выведение  $\beta$ -лактамных антибиотиков из микробной клетки. Ранее считалось, что  $\beta$ -лактамные антибиотики активно не выводятся из микробной клетки. Однако, в последние годы появились сообщения о наличии у *P. aeruginosa* транспортных систем, осуществляющих активное выведение ряда из них и, прежде всего, карбапенемов.
- Модификация мишени действия. Мишенями действия  $\beta$ -лактамных антибиотиков являются ферменты – ПСБ, участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации у некоторых ПСБ уменьшается сродство к  $\beta$ -лактамным антибиотикам, что проявляется в повышении минимальной подавляющей концентрации (МПК) этих лекарственных препаратов и снижении клинической эффективности.

# АМИНОГЛИКОЗИДЫ

- Ферментативная инактивация. Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам является их ферментативная инактивация путем модификации. Модифицированные молекулы аминогликозидов утрачивают способность связываться с рибосомами и подавлять биосинтез белка. Описаны три группы АМФ, осуществляющих инактивацию аминогликозидов, путем их связывания с различными молекулами: ААС – присоединяющие молекулу уксусной кислоты, АРН – присоединяющие молекулу фосфорной кислоты, нуклеотидил- или АНТ – присоединяющие молекулу нуклеотида аденина.
- Снижение проницаемости внешних структур. Природная устойчивость анаэробов к аминогликозидам объясняется тем, что транспорт данных антибиотиков через цитоплазматическую мембрану связан с системами переноса электронов, которые у анаэробов отсутствуют. По этой причине факультативные анаэробы в условиях анаэробнобиоза, становятся значительно более устойчивыми к аминогликозидам, чем в аэробных условиях.
- Модификация мишени действия. Основной мишенью воздействия аминогликозидов является 30S субъединица бактериальной рибосомы, в некоторых случаях устойчивость может быть связана с ее модификацией. Распространение и клиническое значение устойчивости, связанной с модификацией мишени незначительно.

# Хинолоны/Фторхинолоны

- Модификация мишени воздействия. Ведущим механизмом устойчивости к хинолонам/фторхинолонам является модификация мишеней – двух бактериальных ферментов ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, опосредующих конформационные изменения в молекуле бактериальной ДНК, необходимые для ее нормальной репликации. Каждый из ферментов состоит из четырех субъединиц. ДНК-гираза состоит из двух *gyrA* и двух *gyrB* субъединиц (соответствующие гены *gyrA* и *gyrB*). Топоизомераза IV – из субъединиц *parC* и *parE* (соответствующие гены *parC* и *parE*). Гены обоих ферментов локализованы на бактериальной хромосоме.
- У грамотрицательных бактерий наибольшее сродство хинолоны проявляют к ДНК-гиразе, вследствие чего этот фермент – первичная мишень их воздействия. У грамположительных бактерий для большинства хинолонов первичной мишенью действия является топоизомераза IV, но для спарфлоксацина и гatifлоксацина – ДНК-гираза. Моксифлоксацин и гемифлоксацин обладают приблизительно одинаковым сродством к обоим ферментам.

# Макролиды, кетолиды и линкозамиды

- Модификация мишени воздействия. Основной мишенью воздействия макролидов, кетолидов и линкозамидов является 50S субъединица бактериальной рибосомы. Все эти антибиотики имеют общий участок связывания с рибосомой. У большинства бактерий устойчивость возникает в результате метилирования 23S-субъединицы рибосомальной РНК.
- При конститутивном типе биосинтез фермента не зависит от внешних условий, соответственно, микроорганизмы проявляют устойчивость ко всем макролидам и линкозамидам.
- При индуцибельном типе биосинтез фермента для его начала необходима индукция. Биосинтез стрептококковых метилаз индуцируется всеми макролидами и линкозамидами, соответственно, микроорганизмы проявляют устойчивость ко всем перечисленным антибиотикам. В отличие от этого, биосинтез стафилококковых метилаз способен индуцировать только 14- и 15-членные макролиды, соответственно, микроорганизмы проявляют устойчивость к перечисленным антибиотикам, но сохраняют чувствительность к 16-членным макролидам и линкозамидам.

- Активное выведение. Активное выведение макролидов и линкозамидов осуществляют несколько транспортных систем. Основное клиническое значение имеет система выведения, кодируемая *mef*-геном, распространенная среди *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* и других грамположительных бактерий. Соответствующий белок-транспортёр выводит 14- и 15-членные макролиды и обеспечивает невысокий уровень резистентности (МПК варьируется от 1 до 32 мг/л). Линкозамиды и 16-членные макролиды сохраняют активность. Гены *mef* локализованы на хромосомах в составе конъюгативных элементов, что обеспечивает достаточно эффективное внутри- и межвидовое распространение.
- Ферментативная инактивация. Ферменты, инактивирующие макролиды и линкозамиды, описаны среди грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Некоторые из них обладают широким субстратным профилем (макролидфосфотрансферазы *E. coli* и *Staphylococcus spp.*), другие – инактивируют только отдельные антибиотики (эритромицинэстеразы, распространенные среди семейства *Enterobacteriaceae*, линкомицинацетилтрансферазы стафилококков и энтерококков).



# Тетрациклины

- Активное выведение. Этот механизм является наиболее распространенным среди грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Детерминанты резистентности обычно локализованы на плазмидах, что обеспечивает их быстрое внутри- и межвидовое распространение. Часть генов и соответствующие белки (TetA – TetE) распространены среди грамотрицательных бактерий, другие (TetK, TetL) среди грамположительных.
- Защита рибосомы. Известно семейство защитных белков, которые позволяют бактерии синтезировать белок, несмотря на связывание с рибосомой молекулы тетрациклина. Механизм подобной защиты неизвестен. Описано около пяти генов, кодирующих защитные белки, они распространены среди грамотрицательных и грамположительных бактерий и детерминируют устойчивость ко всем тетрациклинам.

# Гликопептиды

- Модификация мишени воздействия. Механизм воздействия гликопептидов заключается в блокировании завершающей стадии синтеза пептидогликана путем связывания молекулы антибиотика с концевыми аминокислотами в боковой пептидной цепочке (D-аланин-D-аланин).
- Механизм устойчивости к гликопептидам наиболее детально изучен у энтерококков, он связан с синтезом бактериями модифицированной боковой полипептидной цепи.
- Известны три фенотипа устойчивости: VanA, VanB и VanC. Детерминанты устойчивости фенотипа VanA локализуются на плазмидах, а фенотипа VanB – в основном на хромосомах. Для фенотипа VanA характерен высокий уровень устойчивости к ванкомицину и тейкопланину, для VanB – переменная резистентность к ванкомицину и чувствительность к тейкопланину. Фенотип VanC характерен для *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* и *E. flavescens*, проявляющих природно низкий уровень устойчивости к ванкомицину.

# Сульфаниламиды и ко- тримоксазол

- Формирование метаболического шунта.  
Резистентность к триметоприму может являться результатом приобретения генов дигидрофолатредуктазы, нечувствительной (или малочувствительной) к ингибции, а устойчивость к сульфаниламидам – генов дигидроптеоратсинтетазы.
- Модификация мишени воздействия.  
Устойчивость может сформироваться в результате мутаций в генах указанных ферментов.

## ■ Хлорамфеникол

Ферментативная инактивация (ацетилирование) является основным механизмом устойчивости к хлорамфениколу. Гены ферментов – хлорамфениколацетилтрансфераз локализуются на плазмидах и входят в состав транспозонов в ассоциации с генами устойчивости к другим АМП.

■ **Полимиксины** оказывают бактерицидное действие на грамотрицательные бактерии, нарушая целостность цитоплазматической мембраны, действуя подобно поверхностно-активным веществам. В данном случае приобретенная устойчивость отмечается редко.

## ■ Нитрофураны

Механизм действия нитрофуранов изучен неполно. Приобретенная устойчивость к данным лекарственным препаратам встречается очень редко, о ее механизмах можно судить лишь предположительно.

**Нитроимидазолы** активируются в микробной клетке ферментом нитроредуктазой, возникающие при этом свободные радикалы повреждают ДНК бактерий. Устойчивость у подавляющего большинства анаэробных бактерий отмечается очень редко и не имеет практического значения. Реальные проблемы возникают при развитии устойчивости у *H. pylori*, обусловленной инактивацией нитроредуктазы в результате мутаций в соответствующих генах.

# Множественная устойчивость, связанная со снижением проницаемости

- Причиной данного явления становится полная или частичная утрата пориновых белков. Кроме этого, относительно хорошо изучена система MAR (*multiple antibiotic resistance* – множественная устойчивость к антибиотикам).
- На фоне применения тетрациклинов или хлорамфеникола формируется устойчивость не только к данным антибиотикам, но и к  $\beta$ -лактамным антибиотикам и хинолонам.
- Активация MAR системы приводит к одновременному снижению количества одного из пориновых белков (OmpF) и повышению активности одной из систем активного выведения. Снижение проницаемости за счет утраты или снижения количества пориновых белков встречается в ассоциации с продукцией  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра. Утрата одного из пориновых белков (D2) *P. aeruginosa* приводит к избирательному снижению чувствительности микроорганизма к имипенему.