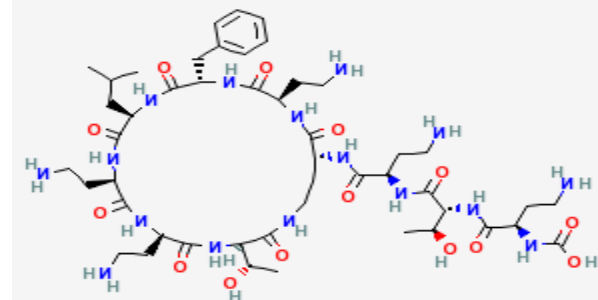



Лекция №3

Антибиотики. Методы определения чувствительности к антибиотикам.



- 
- Химиотерапия — специфическое антимикробное, антипаразитарное лечение при помощи химических веществ. Эти вещества обладают важнейшим свойством — избирательностью действия против болезнетворных микроорганизмов в условиях макроорганизма.

- **Антибиотики** - это химиотерапевтические вещества, образуемые при биосинтезе микроорганизмов, их производные и аналоги, вещества, полученные путем химического синтеза или выделенные из природных источников (ткани животных и растений), обладающие способностью избирательно подавлять в организме возбудителей заболеваний (бактерии, грибы, простейшие) или задерживать развитие злокачественных новообразований).

Современная химиотерапия бактериальных инфекций



- Антибиотики относятся к наиболее часто назначаемым группам лекарственных средств:
- 100% хирургических больных
- 70-100% соматических.
- В России используется 30 различных групп антибиотиков и около 200 препаратов.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ АНТИБИОТИКОВ

Основоположником химиотерапии является немецкий химик, лауреат Нобелевской премии **П.Эрлих**, который установил, что химические вещества, содержащие мышьяк, губительно действуют на спирохеты и трипаносомы, и получил в **1910 г.** первый химиотерапевтический препарат — сальварсан (соединение мышьяка, убивающее возбудителя, но безвредное для микроорганизма).

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ АНТИБИОТИКОВ



- Александр Флеминг в 1928 году открыл пенициллин



- Эрнест Чейн и Говард Вальтер Флори получили стабильную форму пенициллина в Оксфорде.
- 1940 год, Э.Чейн – пенициллин имеет форму В-лактама.
- Г.Флори и фирма «Мерк» в США запустили производство пенициллина 1943г



- В нашей стране в 1943 году в промышленное производство пенициллин запущен при активном участии
- Ермольевой З.В.

Свойства антибиотиков и требования к ним.

- Высокая биологическая активность по отношению к чувствительным микроорганизмам.
- Избирательность действия - активность в отношении отдельных групп микроорганизмов.
- **Требования :**
- Максимальная терапевтическая эффективность при минимальной концентрации в организме человека.
- Максимальное действие при минимальной токсичности.
- Стабильность при широких диапазонах pH(per os).
- Не вызывать аллергических реакций у хозяина
- Не воздействовать на нормальную микрофлору

КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ

По происхождению

Способ получения	Продуцент	Примеры
<ul style="list-style-type: none">• Природные• (биосинтетические)	<ul style="list-style-type: none">• Собственно бактерии• Актиномицеты• Грибы	<ul style="list-style-type: none">• <u>Грамицидин</u> С,• <u>полимиксин</u>• <u>Стрептомицин</u>,• <u>эритромицин</u>,• <u>тетрациклины</u> и др.• <u>Бензилпенициллин</u>,• <u>цефалоспорины</u>,• <u>фузидиевая кислота</u>
<ul style="list-style-type: none">• Полусинтетические• (комбинация биосинтеза и химического синтеза)	<ul style="list-style-type: none">• Продукты модификации молекул природных антибиотиков	<ul style="list-style-type: none">• <u>Оксациллин</u>,• <u>ампициллин</u>,• <u>гентамицин</u>,• <u>рифампицин</u> и др.
<ul style="list-style-type: none">• Синтетические	<ul style="list-style-type: none">• Аналоги природных антибиотиков, синтезированных химическим путем	<ul style="list-style-type: none">• <u>Левомецетин</u>, <u>амикацин</u>

Классификация антибиотиков

- По спектру антимикробной активности:
 - Антибактериальные
 - Противогрибковые
 - Антипротозойные
- По типу действия:
 - **бактерицидные** - необратимо связываются с клеточными мишенями, вызывая гибель чувствительных к ним микроорганизмов. (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, рифампицин, полимиксины и др.);
 - **бактериостатические** - ингибируют рост и размножение микробных клеток, но при удалении антибиотика жизнедеятельность возбудителей восстанавливается (макролиды, тетрациклины, линкомицин, хлорамфеникол и др.).

По спектру действия:

Узкого спектра, действующие преимущественно на одну группу микроорганизмов

- 1) с преимущественным действием на **грамположительные** микроорганизмы (линкозамиды, биосинтетические пенициллины, цефалоспорины 1-го поколения, макролиды, ванкомицин, линкомицин);
- 2) с преимущественным действием на **грамотрицательные** микроорганизмы (монобактамы, циклические полипептиды, цефалоспорины 3-го поколения);
- 3) **Противотуберкулезные** антибиотики (стрептомицин, рифампицин, флоримицин).

Широкого спектра действующие, на большинство микроорганизмов (аминогликозиды, левомецетин, тетрациклины, полусинтетические пенициллины (ампициллин, азлоциллин и др.) и цефалоспорины 2-го поколения).

- выделяют антибиотики первой очереди (пенициллины, макролиды, аминогликозиды), второй очереди (цефалоспорины, полусинтетические аминогликозиды, аугментин и пр.) и резервные (фторхинолоны, карбопенемы).
- Выделяют антибиотики короткого и пролонгированного действия. Так, для поддержания бактерицидной концентрации в плазме пенициллин следует вводить каждые 4 часа, а роцефин (цефалоспорин 3 поколения) - 1 раз в сутки.
- По токсичности разделяют ото-, нефро-, гепато-, нейротоксичные и т. д.
- Выделяют антибиотики со строго регламентированной дозой применения (линкозамыны, аминогликозиды и пр.) и препараты, дозу которых можно увеличивать в зависимости от выраженности инфекционного процесса (пенициллины, цефалоспорины).

По химическому строению:

- 1) β -лактамы антибиотики. К ним относятся:
 - а) пенициллины, среди которых выделяют природные (аминипенициллин) и полусинтетические (оксациллин);
 - б) цефалоспорины (цепорин, цефазолин, цефотаксим);
 - в) монобактамы (примбактам);
 - г) карбапенемы (имипинем, меропинем, эртапенем);
- 2) аминогликозиды (канамицин, неомицин);
- 3) тетрациклины (тетрациклин, метациклин);
- 4) макролиды (эритромицин, азитромицин, mideкамицин);
- 5) линкозамины (линкомицин, клиндамицин);
- 6) полиены (амфотерицин, нистатин);
- 7) гликопептиды (ванкомицин, тейкоплакин);
- 8) оксазолидиноны (линезолид)

КЛАССИФИКАЦИЯ АНТИБИОТИКОВ ПО МЕХАНИЗМУ ДЕЙСТВИЯ

- Ингибиторы синтеза клеточной стенки.
- Ингибиторы синтеза белка на рибосомах.
- Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот
- Нарушающие функцию мембран клетки

<p>Ингибиторы синтеза клеточной стенки</p>	<p>Ингибиторы функции ЦПМ и ее производных</p>
<p>β-лактамыные антибиотики: пенициллины природные и полусинтетические, цефалоспорины I-IV поколений; карбапенемы; монобактамы; Гликопептиды: ванкомицин; Циклосерин</p>	<p>Полимиксины, полиены, имидазолы</p>
<p>Ингибиторы синтеза белка</p>	<p>Ингибиторы синтеза ДНК и РНК</p>
<p>Аминогликозиды; макролиды; линкозамиды; тетрациклины; амфениколы: хлорамфеникол; фузидиевая кислота; оксазолидины: линезолид</p>	<p>Ингибиторы синтеза ДНК: хинолоны</p> <p>Ингибиторы синтеза РНК: рифамицины</p>

Ингибиторы синтеза клеточной

стенки

Пенициллины
Монобактамы
Цефалоспорины
Карбапенемы
Гликопептиды
Бацитрацин
Циклосерин

Ингибиторы синтеза белка

ингибиторы 30S-субъединиц рибосом

Тетрациклины
Аминогликозиды

ингибиторы 50S-субъединиц рибосом

Макролиды
Хлорамфеникол
Линкомицин

Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны

Полимиксины

Антиметаболиты (метаболизм фолиевой кислоты)

Сульфонамиды
Триметоприм

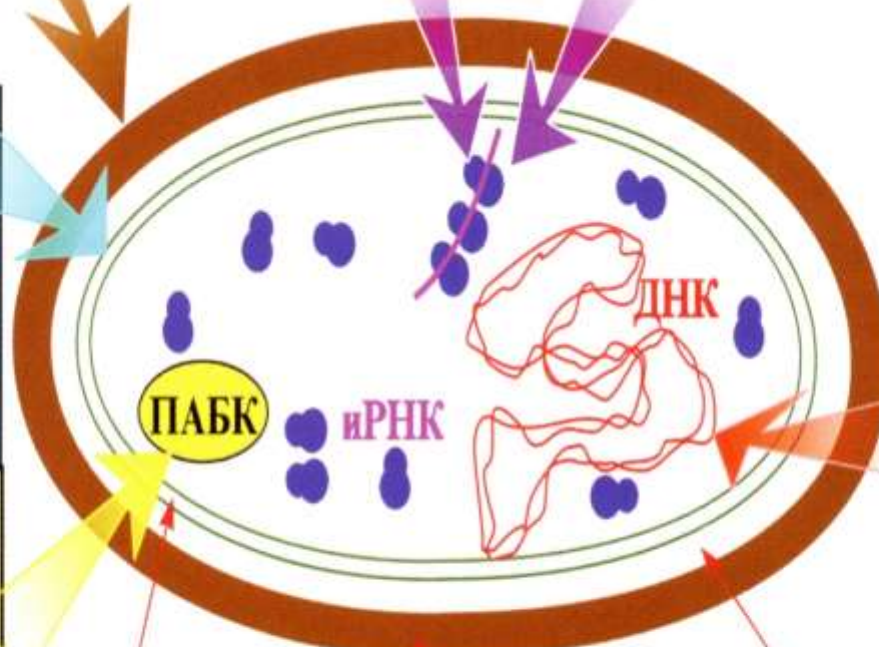
Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот

Рифампицин

(ингибитор ДНК-зависимой РНК-полимеразы; нарушение транскрипции)

Хиволоны

(ингибитор ДНК-гиразы; нарушение репликации ДНК)

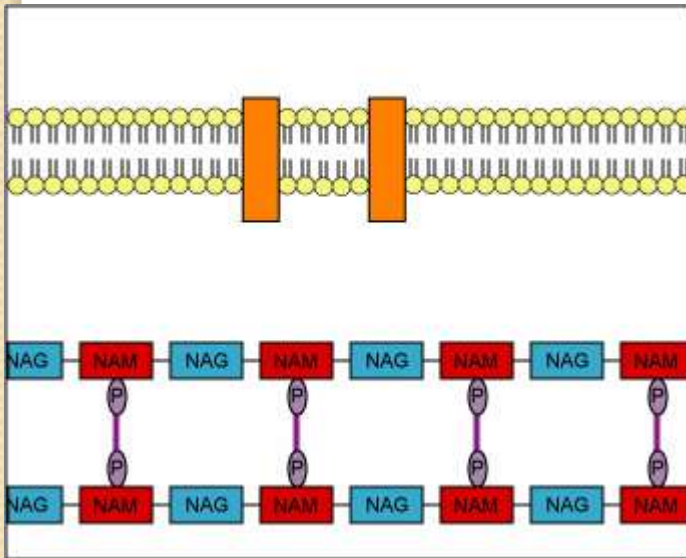


цитоплазматическая мембрана

клеточная стенка

периплазма
(бета-лактамаза,
аминогликозидмодифицирующие ферменты)

Механизм действия В-лактамовых антибиотиков

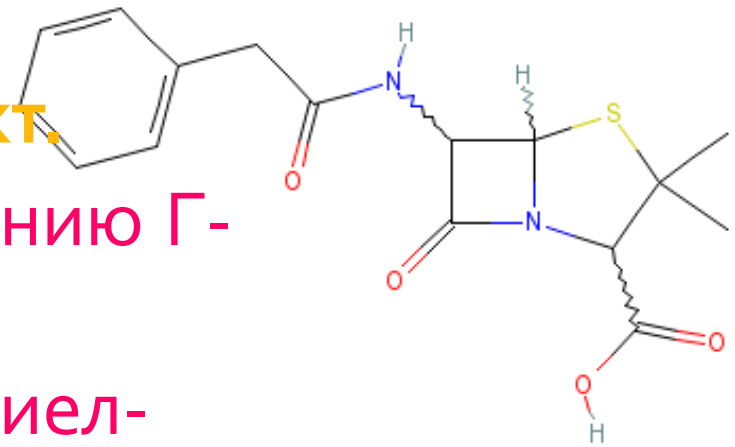


- Ингибируют фермент **транспептидазу** (осуществляет образование поперечных «межпептидных» связей между линейными цепями муреина).

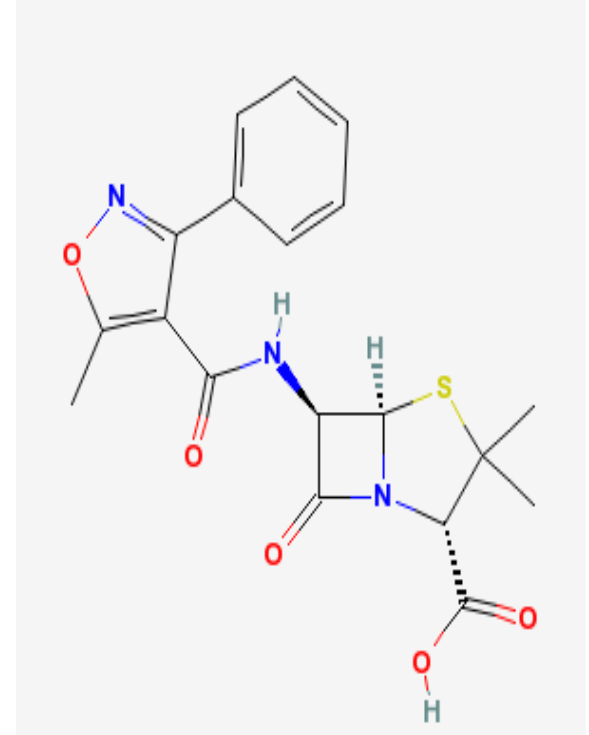
Транспептидаза — один из пенициллин связывающих протеинов (ПСП).

В присутствии пенициллина в бактериальной клетке активируют аутолизины, разрушающие пептидогликан.

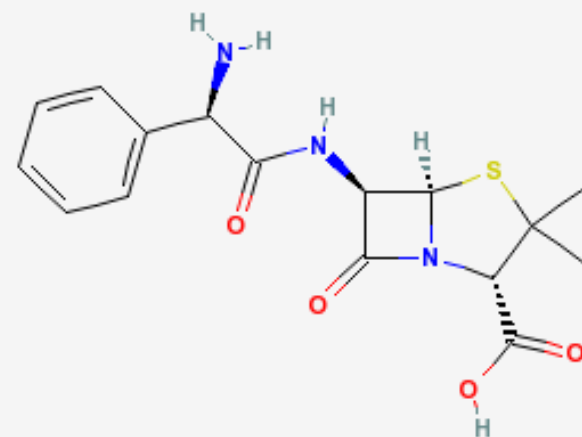
- **Пенициллин (природный).**
- **Высокая активность по отношению Г+ коккам. Г+ палочковидным бактериям (бациллы и клостридии), Г-кокки (менингококки).**
- **Бактерицидный эффект.**
- **Неактивны по отношению Г-палочковидным**
- **(энтеробактерии:клебсиеллы, эшерихии, протей).**
- **Разрушаются В-лактамазами (пенициллиназа).**



- Полусинтетические пенициллины.
- Антистафилококковые пенициллины (оксациллин, клоксациллин).
- Спектр активности как у пеницилина.
- Устойчивы к действию пеницилиназы, (фермент, разрушающий антибиотик), эффективны в отношении **PRSA**, в этом основное клиническое значение препаратов.



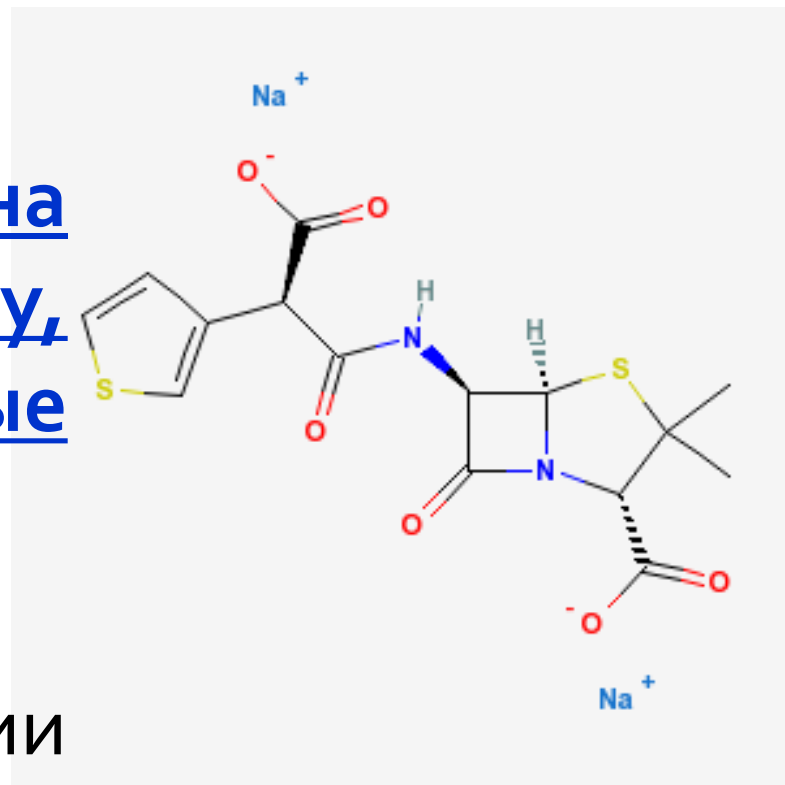
- **Аминопенициллины** (ампициллин, амоксициллин).
- Широкий спектр активности, действует на **грамотрица-тельные** (эшерихии, протей, сальмонеллы).
- **Неэффективен** в отношении **синегнойной палочки и клебсиелл.**
- Слабее чем пенициллин в отношении стрептококков



Карбоксипенициллины
(карбенициллин,
тикарциллин).

Действуют на
синегнойную палочку,
протеи, некоторые
неспоробразующие
анаэробы (*B. fragilis*).

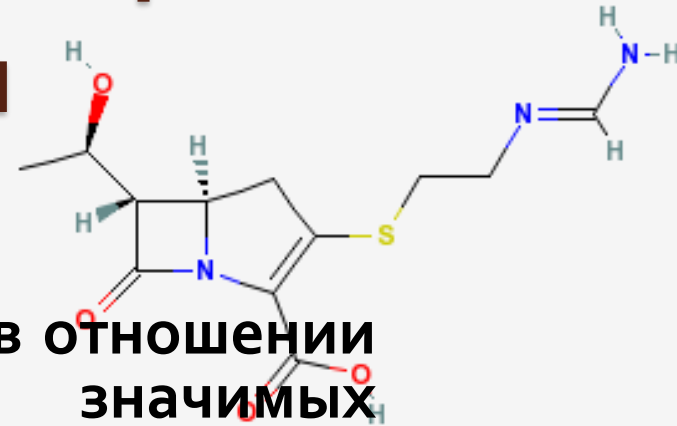
Неактивны в отношении
клебсиелл и PRSA.



В-лактамы структурно близкие пенициллинам соединения

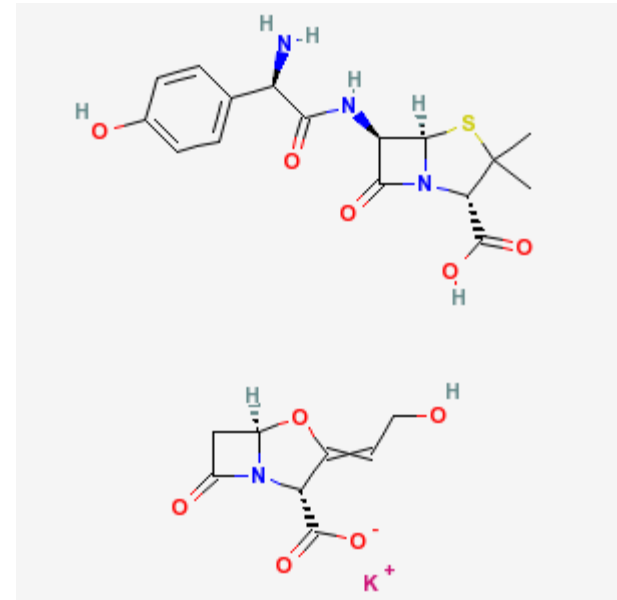
- Карбапенемы
- (имипенем, меропенем)
- Широкий спектр активности в отношении всех клинически значимых микроорганизмов, включая проблемные (синегнойная палочка, энтерококк, неспорообразующие анаэробы).
- Неактивны в отношении **MRSA**.

Антибиотики резерва, назначаются при тяжелых инфекциях, вызванных множественно устойчивыми микроорганизмами
Ингибируют в-лактамазы



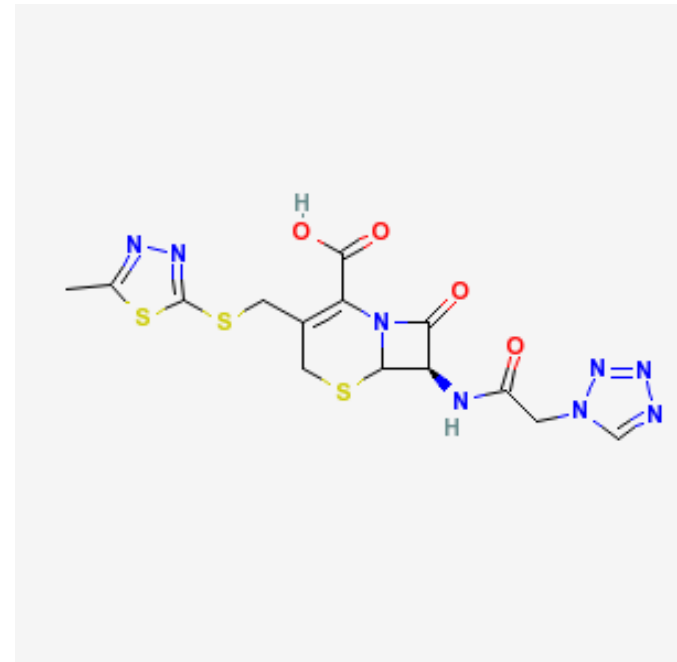
Защищенные пенициллины

- **Состоят из 2-х компонентов: В-лактамы и ингибитор В-лактамаз (клавулановая кислота, сульбактам, тазобактам).**
- **Аугментин (амокксициллин + клавулановая кислота).**
- **Широкий спектр активности.**
- **Неактивны в отношении MRSA.**
- **Антибиотики резерва.**



В-лактамы антибиотики цефалоспорины

- **Общие свойства цефалоспоринов:**
- Выраженный бактерицидный эффект.
- Низкая токсичность.
- Широкий терапевтический диапазон.
- Синергизм с аминогликозидами.
- **Не действуют** на энтерококки, MRSA.



- I поколение цефалоспоринов:
- Цефазолин, цефалотин, цефамезин.
- Спектр активности :
- Активны в отношении грамположительных микроорганизмов.
- Умеренная активность в отношении грамотрицательных.
- Не действует на синегнойную палочку, серрации.
- энтерококки, MRSA.
- Устойчивы к стафилококковым В-лактамазам.

- **II поколение цефалоспоринов**
- **Цефамандол, цефуроксим, цефаклор, цефметазол.**
- По спектру активности в отношении **грамположительных** бактерий аналогичны цефалоспорином I поколения.
- Более активны по отношению к грамотрицательным бактериям
- (клебсиеллы, эшерихии, сальмонеллы).
- **Не действует на синегнойную палочку, серрации. энтерококки, MRSA.**

- **III поколение цефалоспоринов: цефотаксим (клафоран), цефтазидим (фортум).**
- **Высокая активность** в отношении **грамотрицательных бактерий** (включая **госпитальные штаммы**).
- **Активность** в отношении **синегнойной палочки**.
- Избирательная **(цефтазидим)** **антианаэробная (V. fragilis)** **активность**.
- В отношении **грамположительных кокков** **активность** ниже, чем у **цефалоспоринов I – II поколений**
- **Не действуют** на **энтерококки, MRSA.**
- Применяются для **лечения тяжелых форм инфекций**

ИНГИБИРОВАНИЕ СИНТЕЗА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ВАНКОМИЦИНОМ

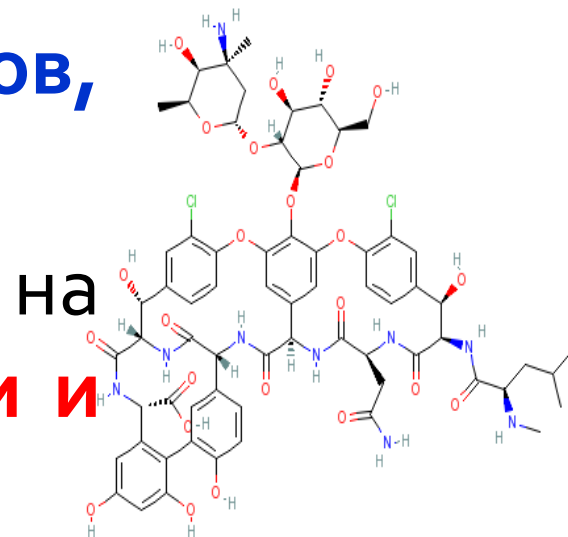
- Ванкомицин, ристомицин.
- Нарушают синтез клеточной стенки, путем комплексообразования с различными пептидными структурами и блокирует оба процесса: образование гликозидных и межпептид-ных связей.
- В результате нарушается целостность клеточной стенки и наступает осмотический лизис бактериальной клетки.

- **Ванкомицин** активен в отношении большинства **грамположительных кокков, включая MRSA.**

- Не действует на **грамотрицательные бактерии и микобактерии.**

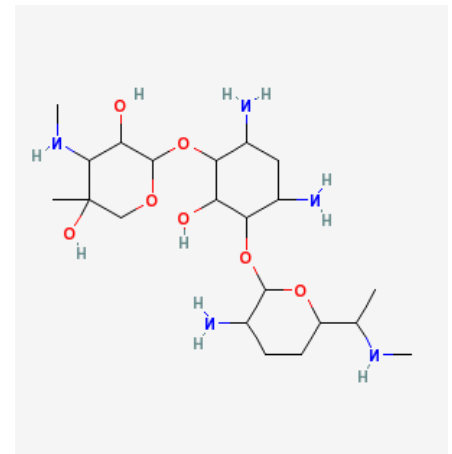
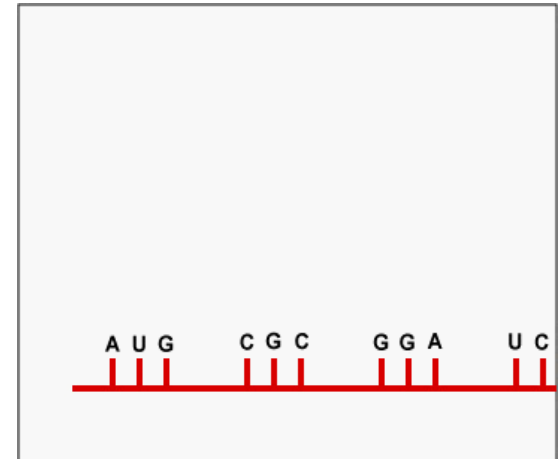
- Препарат выбора для лечения инфекций, **вызванных MRSA и энтерококками.**

- Токсичен (ототоксичность, нефротоксичен, флебиты).



Ингибиторы синтеза белка

- **Аминогликозиды**
- Содержат **аминосахара**, соединенные **гликозидной связью** с **агликановым фрагментом**.
- Связываются с **30S-субъединицей рибосом**.
- Бактерицидный эффект связан с **нарушением механизма связывания рибосом с Т-РНК и образованием дефектных инициационных комплексов**

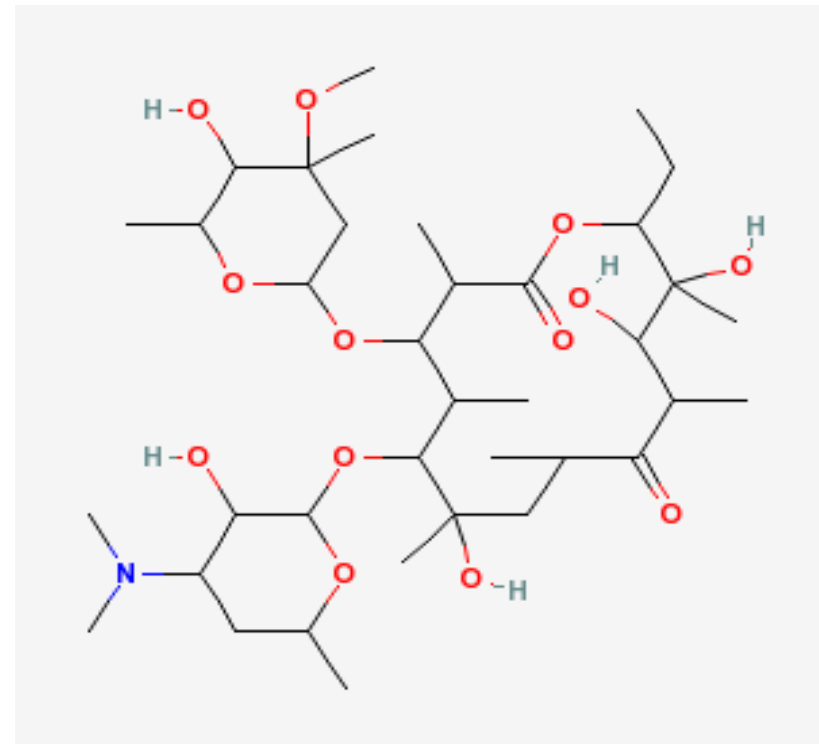


Ингибиторы синтеза белка

- **Аминогликозиды**
- **I поколение** – стрептомицин, канамицин, мономицин.
- **Активны в отношении грамотрицательных бактерий и микобактерий, возбудителей туберкулеза, бруцеллеза.**
- **II поколение** – гентамицин, тобрамицин.
- **Активны в отношении грамотрицательных бактерий, включая синегнойную палочку, энтеробактеры, серрации. Грамположительные кокки.**
- **III поколение** – амикацин, нетилмицин
- **Активны в отношении грамотрицательных бактерий, включая синегнойную палочку, энтеробактеры, серрации.**
- **Устойчивы к ферментам, инактивирующим другие аминогликозиды. Грамположительные кокки.**

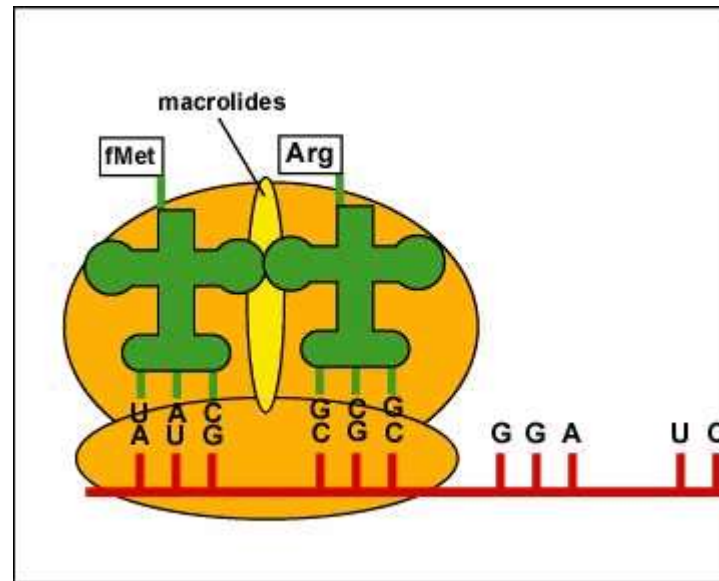
Ингибиторы синтеза белка


- **Макролиды** в структуре содержат макроциклическое лактонное кольцо, связанное с углеводными остатками.
- **Природные :**
 - эритромицин,
 - олеандомицин,
 - рокситромицин
- **Полусинтетические**
 - Азитромицин
 - Кларитромицин



МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ МАКРОЛИДОВ

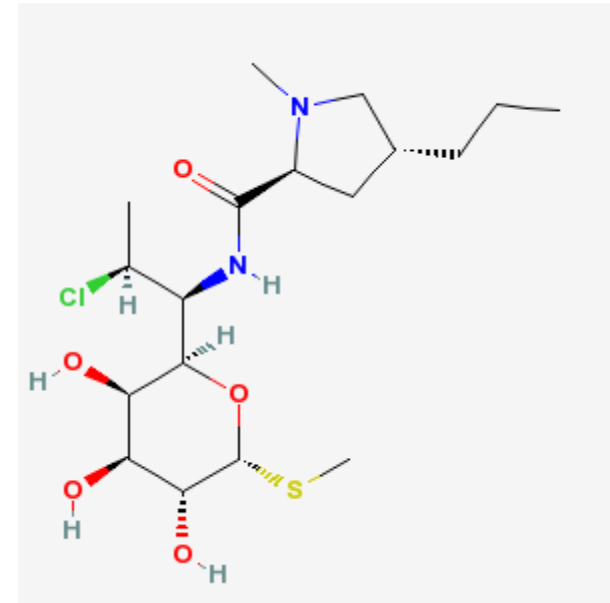
- Связываются с 50S субъединицей рибосом.



- 
- Общие свойства макролидов:
 - Бактериостатическое действие.
 - Преимущественная **активность против грамположительных кокков (стрептококки, стафилококки)**.
 - Активность **против хламидий, микоплазм. риккетсий**.
 - Неактивны **в отношении грамотрицательных бактерий**.
 - Очень низкая **токсичность**.
 - **Усиливают перистальтику кишечника**

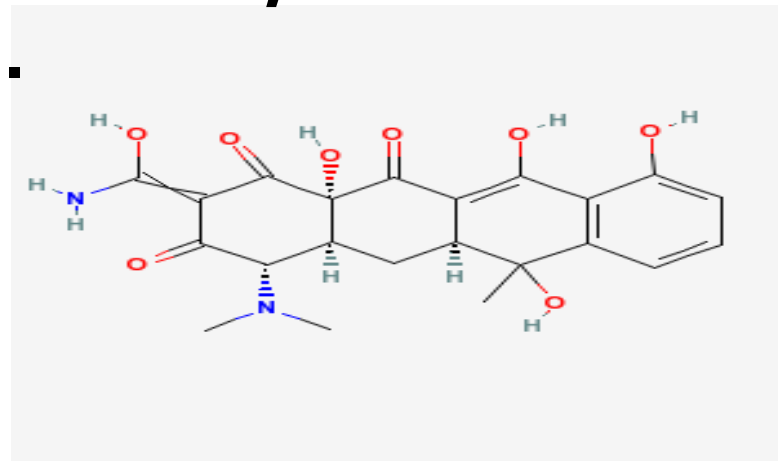
Ингибиторы синтеза белка

- **Линкомицин и клин-дамицин.**
- **Связываются с 50S субъединицей**
- По антимикробному действию близки к макролидам.
- **Активны в отношении грамположительных кокков**
- **Некоторых грамположительных палочек, микоплазм.**
- **Выражена антианаэробная активность**
- **Не действуют на грамотрицательные**



Ингибиторы синтеза белка

- Тетрациклины (доксациклин) связываются с 30S субъединицей, воздействует и на 70S млекопитающих.
- Широкий спектр активности: Г+, Г-, хламидии, риккетсии, бруцеллы, йерсинии.
- Новое поколение-глилцилциклин



Препараты, нарушающие синтез нуклеиновых кислот.

- **Хинолоны - налидиксовая кислота.**
- **Фторхинолоны**
- **Ципрофлоксацин**
- **Офлоксацин**
- **Норфлоксацин.**
- **«Респираторные фторхинолоны»**
Левифлоксацин, моксифлоксацин.

Механизм действия фторхинолонов

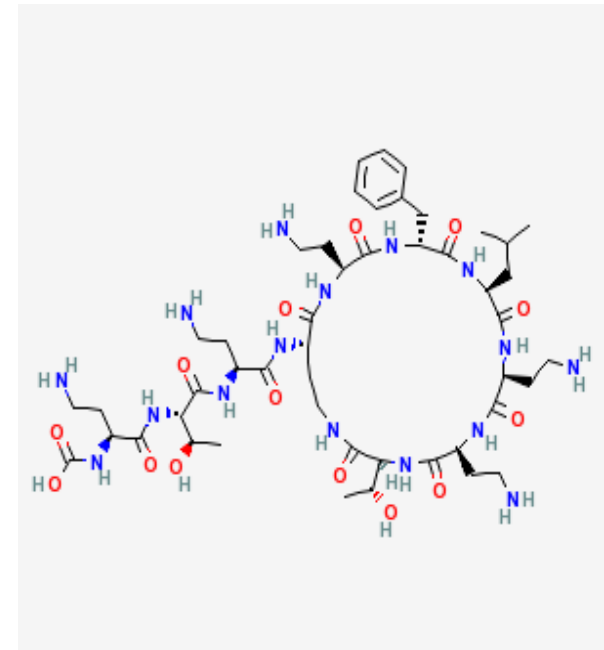
- Ингибируют фермент –
- ДНК-гиразу, бактериальную)
нарушается суперспирализация ДНК.
- Бактериальная клетка не может
осуществлять репликацию ДНК



- **Рифампицин** –нарушает синтез бактериальной РНК, блокируя фермент РНК полимеразу.
- **Активны в отношении**
- **M.tuberculosis,**
- **N.meningitidis,**
- **H.influenzae.**
- **Окрашивает при выведении в оранжевый цвет мочу, слюну.**

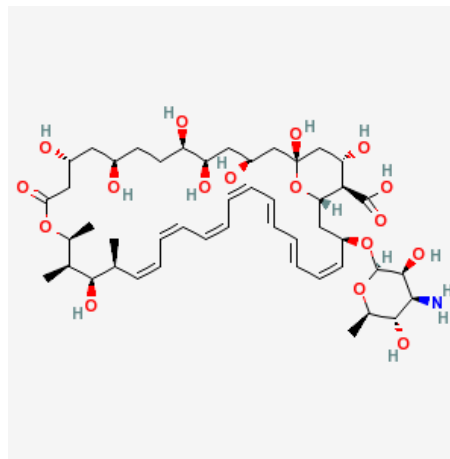
Антибиотики, нарушающие функцию мембран клетки

- **Полимиксины** семейство полипептидных
- **Антибиотиков.**
- **Полимиксин Е** – циклический полипептид, в его составе 10 аминокислот.
- Положительно заряженные аминогруппы действуют как детергент, разрывает фосфолипидные структуры в мембране клетки.
- **Активен в отношении Г- бактерий, особенно синегнойной палочки.**
- **Нефротоксичен, нейротоксичен**




Препараты, нарушающие мембраны клеток грибов

- **Полиеновые антибиотики** (содержат много ненасыщенных двойных связей в макролидной структуре), связываются с эргостеролами мембран грибов.
- **Амфотерицин В**



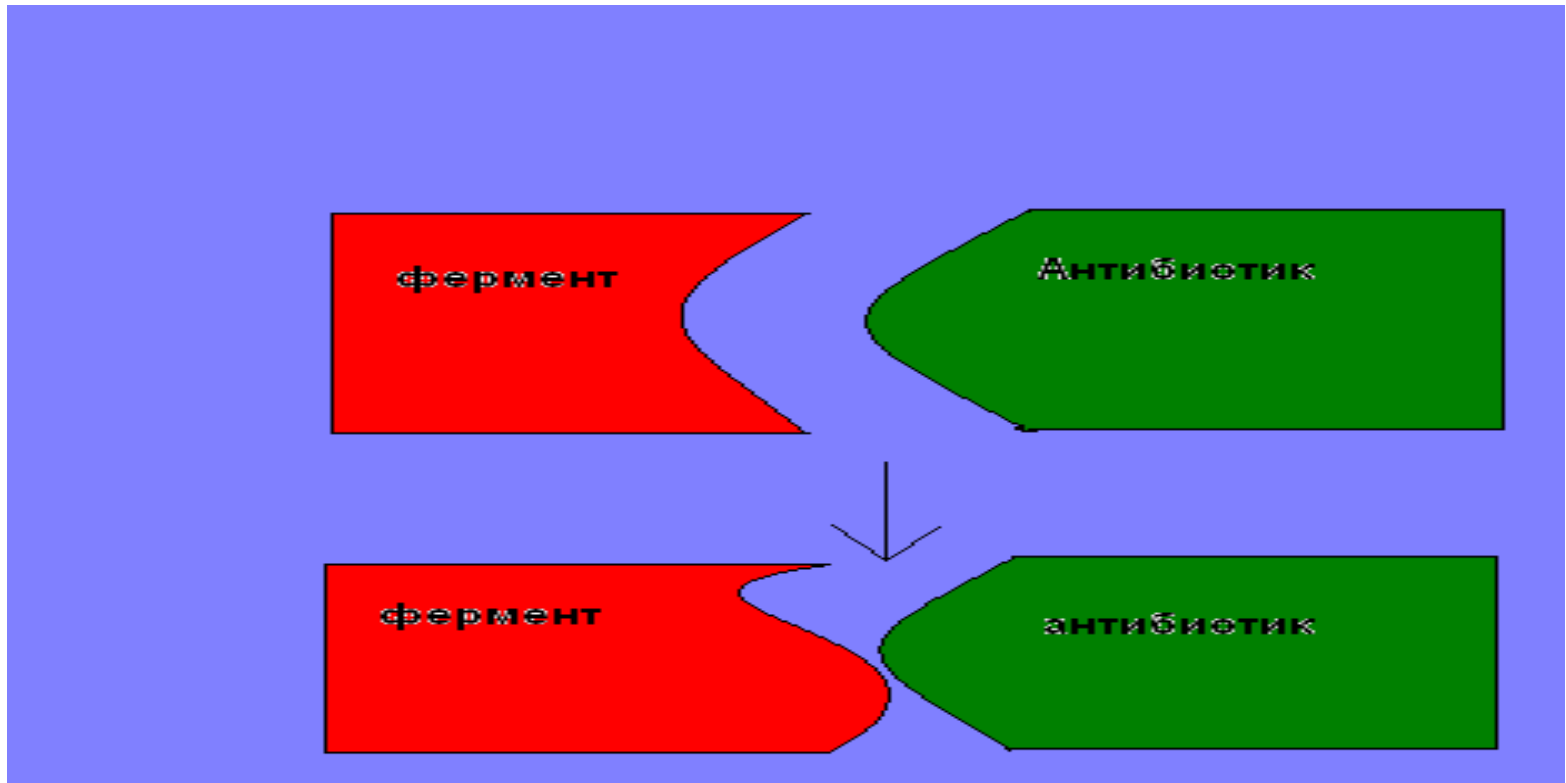
Лекарственная устойчивость

- -Лекарственная устойчивость микроорганизмов — способность микроорганизмов сохранять жизнедеятельность, включая размножение, несмотря на контакт с химиопрепаратами.
- -Различают лекарственную устойчивость, природно присущую микроорганизмам и возникшую в результате мутаций или приобретения чужеродных генов(приобретенная).

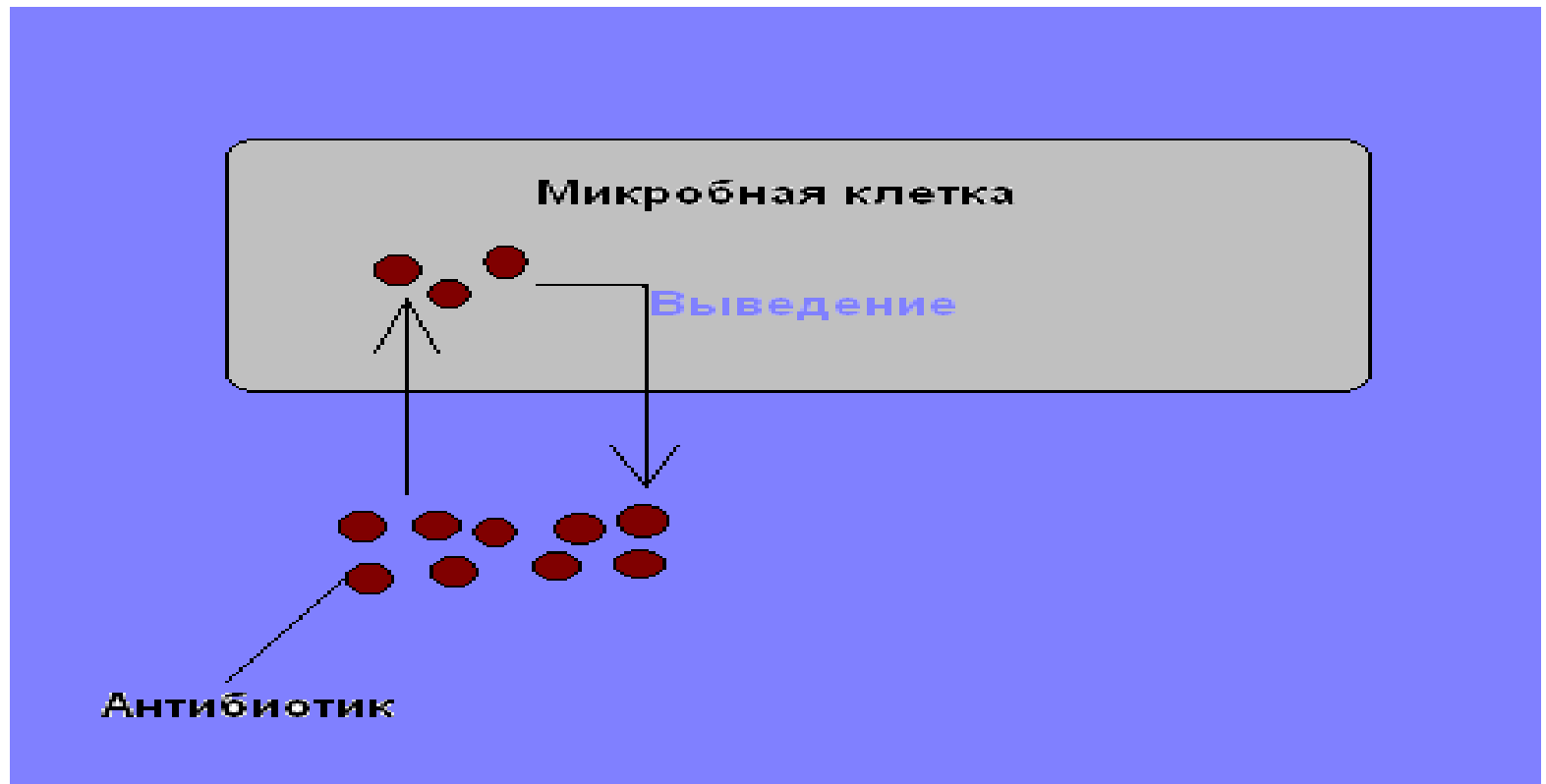
- 
- Лекарственная устойчивость микроорганизмов нередко носит индуцибельный характер, т.е. экспрессия генов устойчивости происходит лишь после контакта клетки с антимикробным агентом.
 - Примером этого являются частые случаи образования инактивирующего фермента после контакта культуры бактерий с бета-лактамным антибиотиком.

МЕХАНИЗМЫ ЛУ

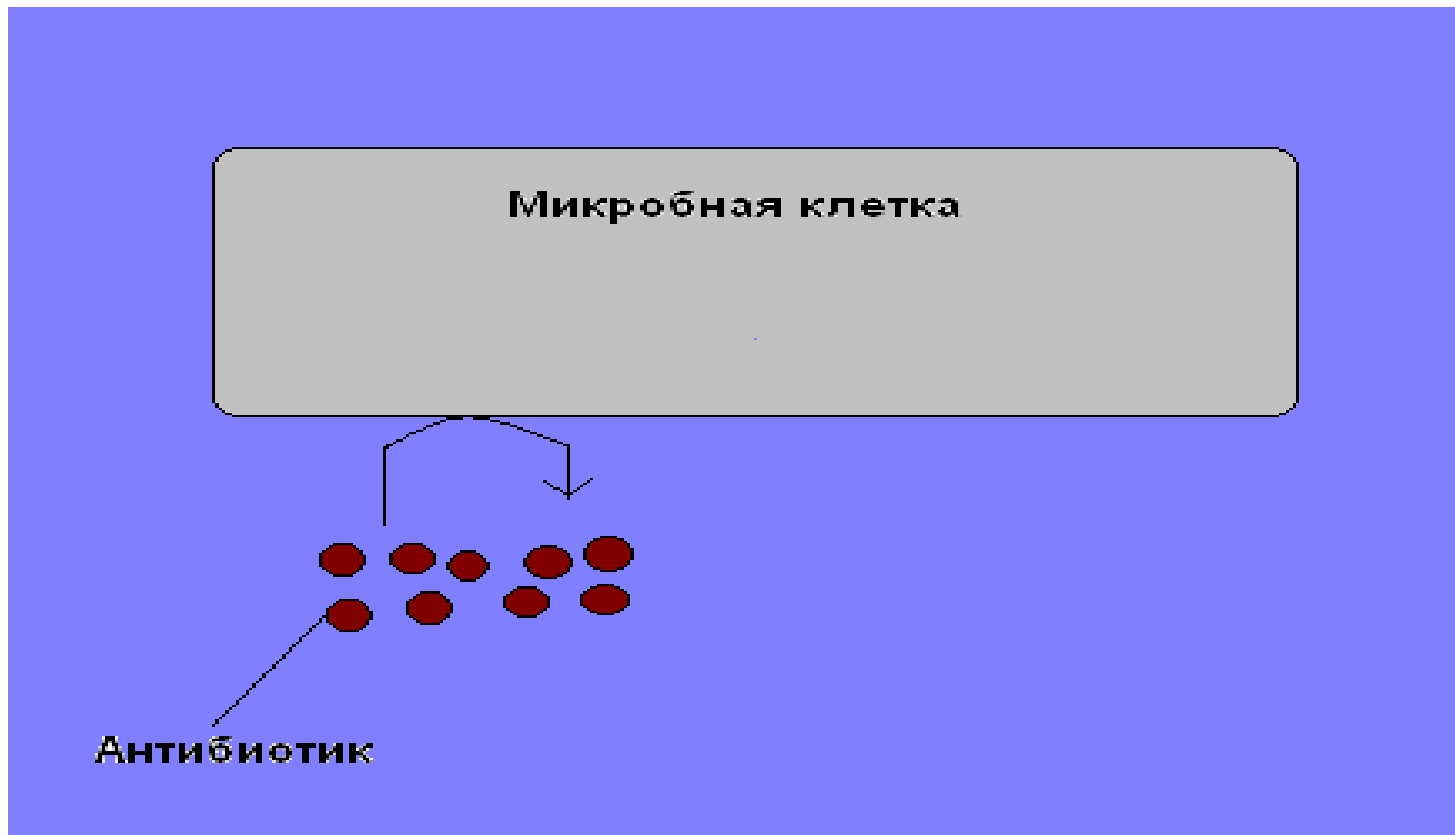
- 1. Модификация мишени для антимикробного агента, что препятствует его взаимодействию с мишенью



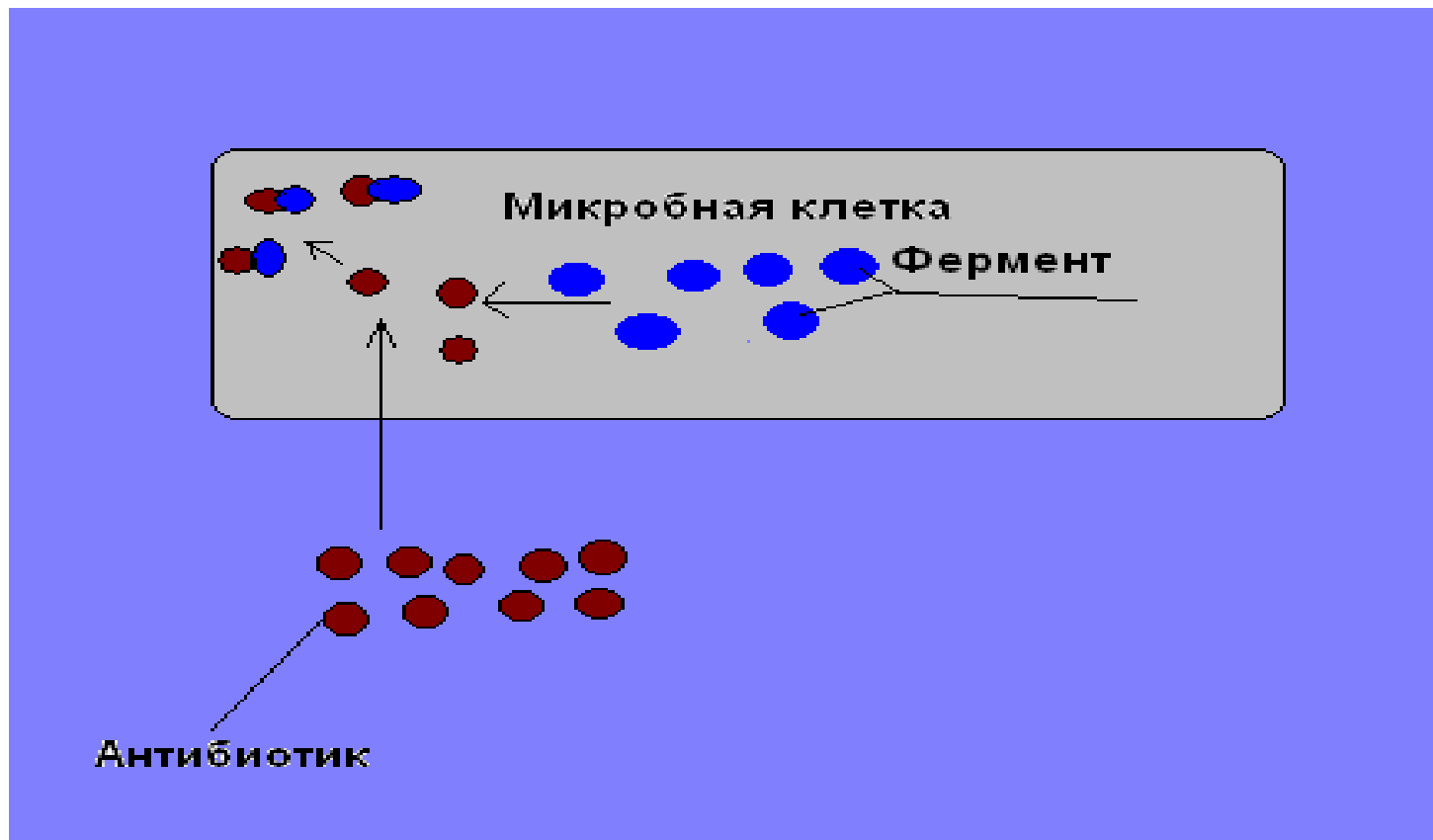
- 2. Активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс)



- 3. Нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки.



4. Ферментативная инактивация антибиотика



Принципы рациональной антибактериальной терапии

клинический принцип (показания, состояние, сопутствующие заболевания и т.д.) – целесообразность назначения

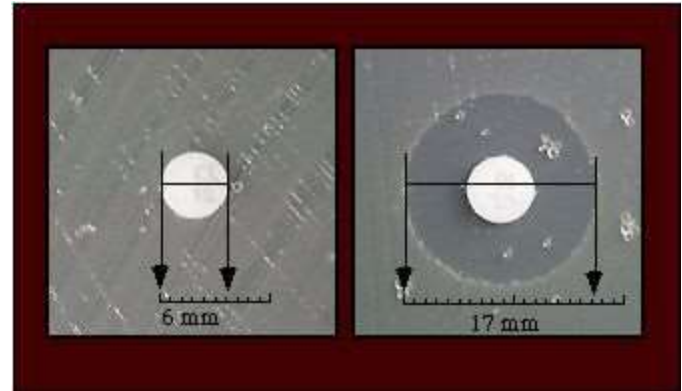
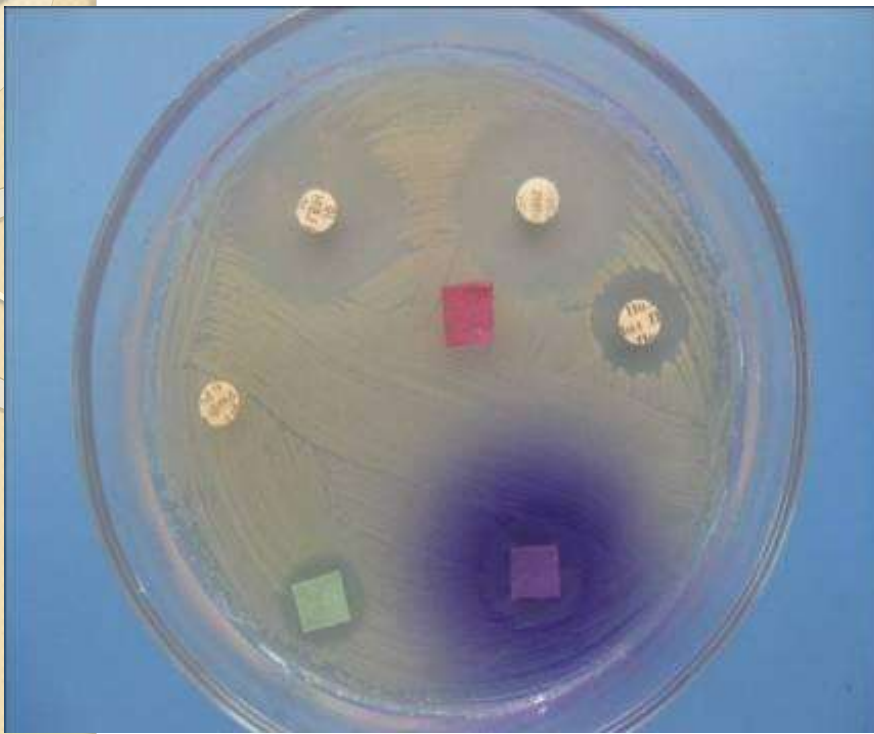
микробиологический принцип (антибиограмма – определение чувствительности возбудителя к антибиотикам в лабораторных условиях)

фармакологический принцип (дозировка, интервалы, способ введения, монотерапия, длительность лечения)

эпидемиологический принцип (мониторинг за распространённостью устойчивых штаммов)

Диско-диффузионный метод 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



Ход исследования

- Приготовить взвесь ЧК м/о
- Сравнить с 0,5 по Мак –Фарленду (стандарт мутности взвеси бактерий)
- Чашку со средой *Мюллер-Хинтона* засеять ЧК
- Уложить диски *не более 6*
- Инкубировать в термостате 18 – 24 часа
- Прочесть и зафиксировать результат



Теперь диспенсер готов к работе



Слегка надавить на рычаг диспенсера над чашкой Петри в том месте, где Вы хотели-бы положить диск



Чашка Петри после инкубации

Работа с диспенсером

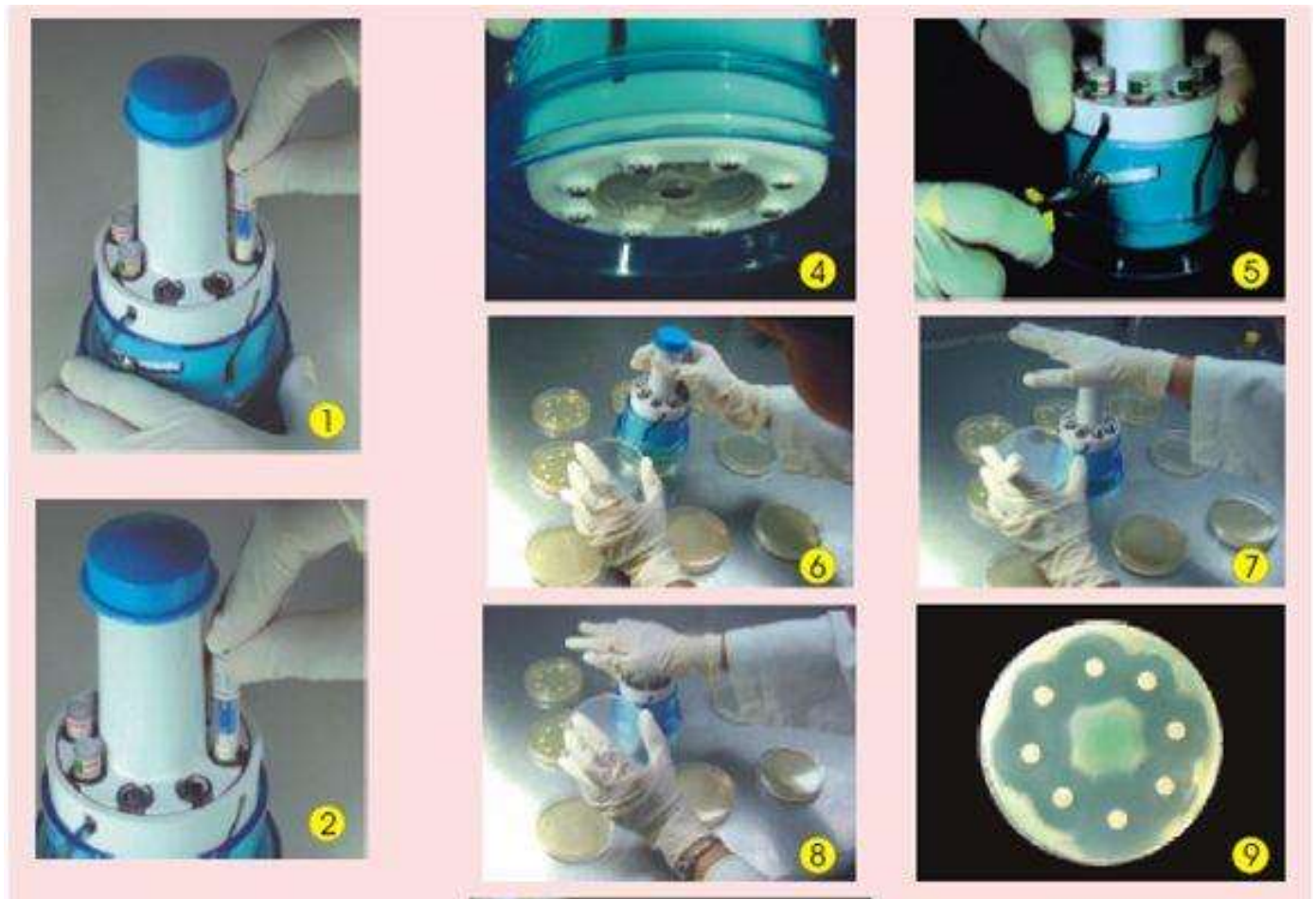
- Быстрее и удобнее использовать диспенсер для дисков



Диспенсер для дисков с антибиотиками
HiDisc™ Dispenser Mark I (SDD020, HiMedia

это полуавтомат, предназначенный для одновременного укладывания на поверхность засеянного агара 8 стандартных дисков с антибиотиками (в том числе с использованием одной руки).

Работа с диспенсером



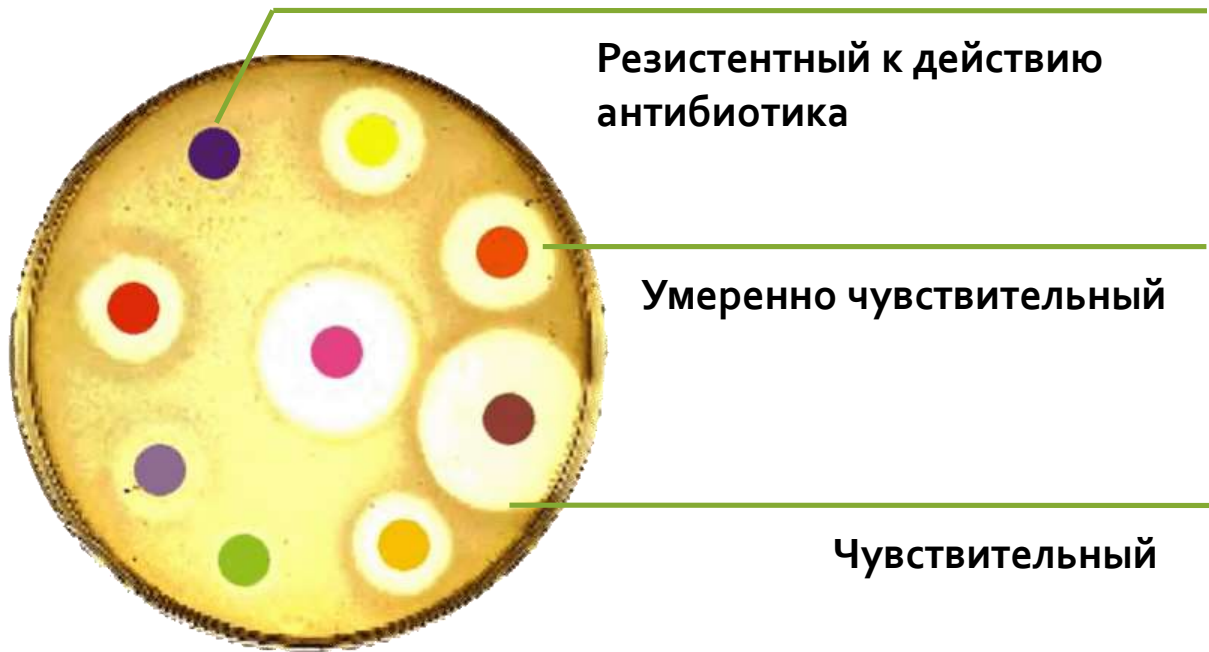
Чтение результатов



Линейка- лекало

применяется для быстрого и легкого определения диаметров зон задержки роста на чашках с относительно прозрачными питательными средами.

Принцип диско-диффузионного метода



Критерии интерпретации чувствительности

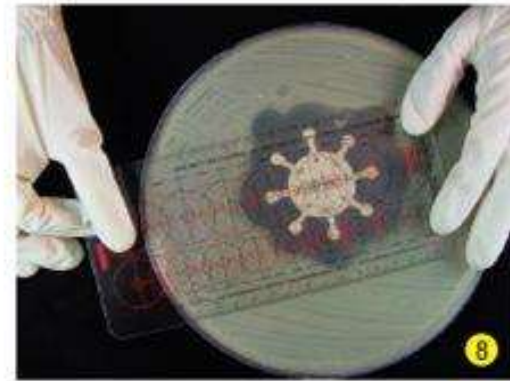
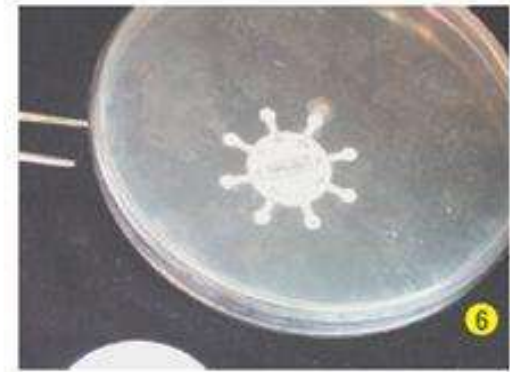
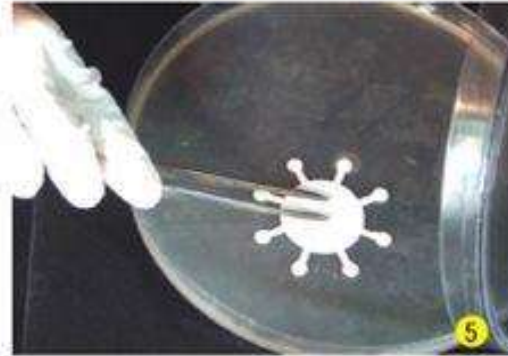
Категория чувствительности микроорганизма	Микробиологическая характеристика	Клиническая характеристика
<i>Чувствительный</i>	Не имеет механизмов резистентности	Терапия успешна при использовании обычных доз
<i>С промежуточной резистентностью (умеренно резистентный)</i>	Субпопуляция, находящаяся между чувствительной и резистентной	Терапия успешна при использовании максимальных доз или при локализации инфекции в местах, где антибиотик накапливается в высоких концентрациях
<i>Резистентный</i>	Имеет механизмы резистентности	Нет эффекта от терапии при использовании максимальных доз

ОКТОДИСКИ

Октодиски представляют собой набор из 8 одиночных дисков, радиально прикрепленных к сердцевине ("ромашка"). Одним из основных преимуществ октодисков является простота и скорость работы с ними, что позволяет существенно сократить время проведения анализа чувствительности в условиях клинической лаборатории. Набор из 8 антибиотиков, входящих в состав октодиска, представлен через обозначение кодов антибиотиков с указанием концентрации (нагрузки) антибиотика в диске (например, Сh означает Цефалотин 30 мкг). Для



Октодиски



Измерение зон задержки роста

Определение чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений

