A glass terrarium containing a small green plant growing on a bed of moss, with a faint globe visible in the background.

Антибиотики. Бактериофаги.

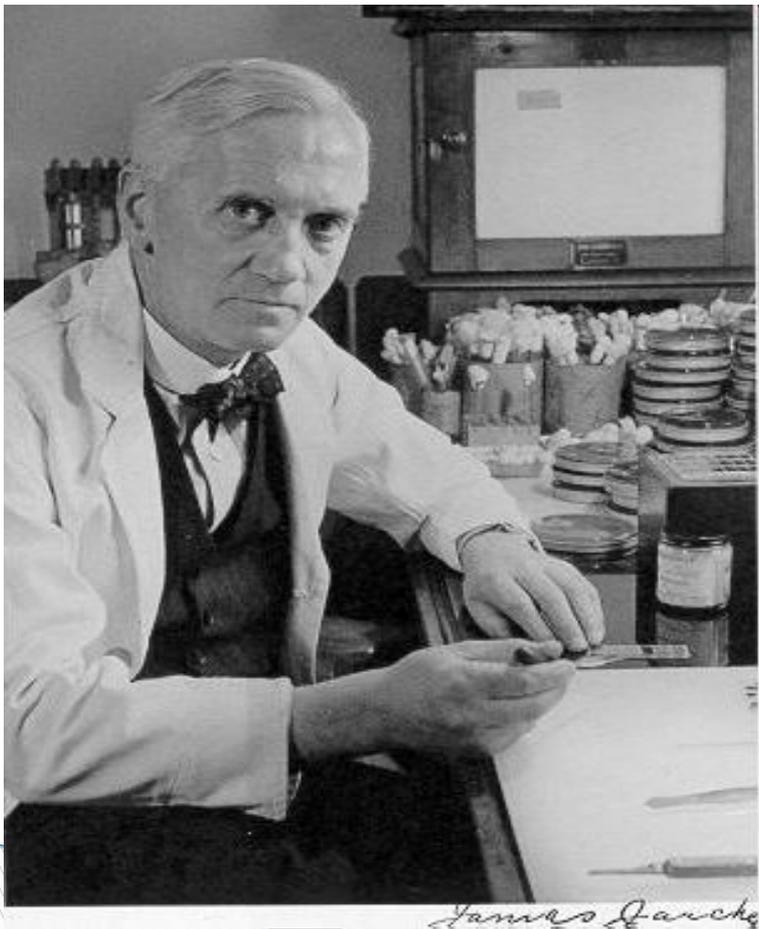
Химиотерапия – лечение инфекционных и паразитарных заболеваний химиотерапевтическими средствами, которые избирательно подавляют развитие и размножение инфекционных агентов в организме человека. Антимикробные агенты действуют только на вегетативные клетки, но не на споры или цисты.

Препараты по специфической активности включают **антибактериальные, противогрибковые, антипротозойные и противовирусные препараты.**



ОТКРЫТИЕ АНТИБИОТИКОВ

А. Флеминг в 1928 г. наблюдал зоны лизиса стафилококка в чашках, случайно проросших зеленой плесенью. Выделенный штамм плесени губительно действовал и на другие микробы.



James Danche



Penicillium

А.Флеминг (1881 – 1955) английский бактериолог.



**Чейн Эрнст Борис
(1906 - 1979),**

английский биохимик

**Флори Хоуард Уолтер
(1898 - 1968),**

английский патолог и микробиолог

в 1938 году получили пенициллин в пригодном для инъекций виде.

Нобелевская премия по физиологии и медицине в 1945 году совместно с Александром Флемингом за открытие и синтез пенициллина.

**Первый отечественный пенициллин (крустозин)
был получен З.В. Ермольевой
из *P. crustosum* в 1942 г.**



**З.В. Ермольева (1898 –
1974)**

- Понятие: антибиотики.
- Чем отличается микробоцидная активность от микробостатической?



- ▣ **АНТИБИОТИКИ** – химические вещества биологического происхождения избирательно тормозящие рост и размножение или убивающие микроорганизмы.

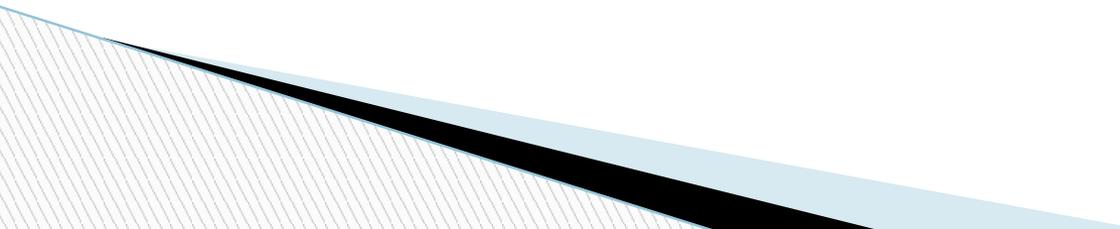
Как
классифицируются?
Спектр,
происхождение, тип
действия



По спектру действия:

- суперузкого спектра – АБ действует на 1 вид микроорганизма
- узкого – на группу бактерий 1-2 вида
- широкого (на несколько видов)

По типу действия:

- микробостатическое – антибиотики вызывает угнетение жизнедеятельности, но не гибель микроорганизма
 - микробоцидное действие – антибиотики вызывает гибель микроорганизма
- 

По происхождению:

Биологическим синтезом

- **бактерии:** тетрациклины, макролиды, левомицетин, аминогликозиды, грамацилин, полимиксины
- **грибы:** пенициллины, цефалоспорины
- **актиномицеты**

Экстракцией:

- ▣ **из животных тканей** (эритрин, экмолин, лизоцим, Ig, интерферон)
- ▣ **Из растительного сырья** (рафанин, аллицин, сальвин, фитонциды)

Химическим синтезом: синтетические (рифампицин, хиноксалины) и полусинтетические (оксациллин)

Методом генной инженерии: интерферон

- Для реализации своей биологической активности АБ должен:
проникнуть в микробную клетку;
связаться с соответствующей мишенью и
модифицировать её, сохранить при этом
свою структуру либо образовать активный
метаболит



Ингибиторы синтеза клеточной стенки

- Пенициллины
- Монобактамы
- Цефалоспорины
- Карбапенемы
- Гликопептиды
- Бацитрацин
- Циклосерин

Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны

- Полмиксены

Антиметаболиты (метаболизм фолиевой кислоты)

- Сульфонамиды
- Триметоприм

Ингибиторы синтеза белка

ингибиторы 30S-субъединиц рибосом

- Тетрациклины
- Аминогликозиды

ингибиторы 50S-субъединиц рибосом

- Макролиды
- Хлорамфеникол
- Линкомицин

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот

- Рифамицины (ингибитор ДНК-зависимой РНК-полимеразы; нарушение транскрипции)
- Хинолоны (ингибитор ДНК-гиразы; нарушение репликации ДНК)

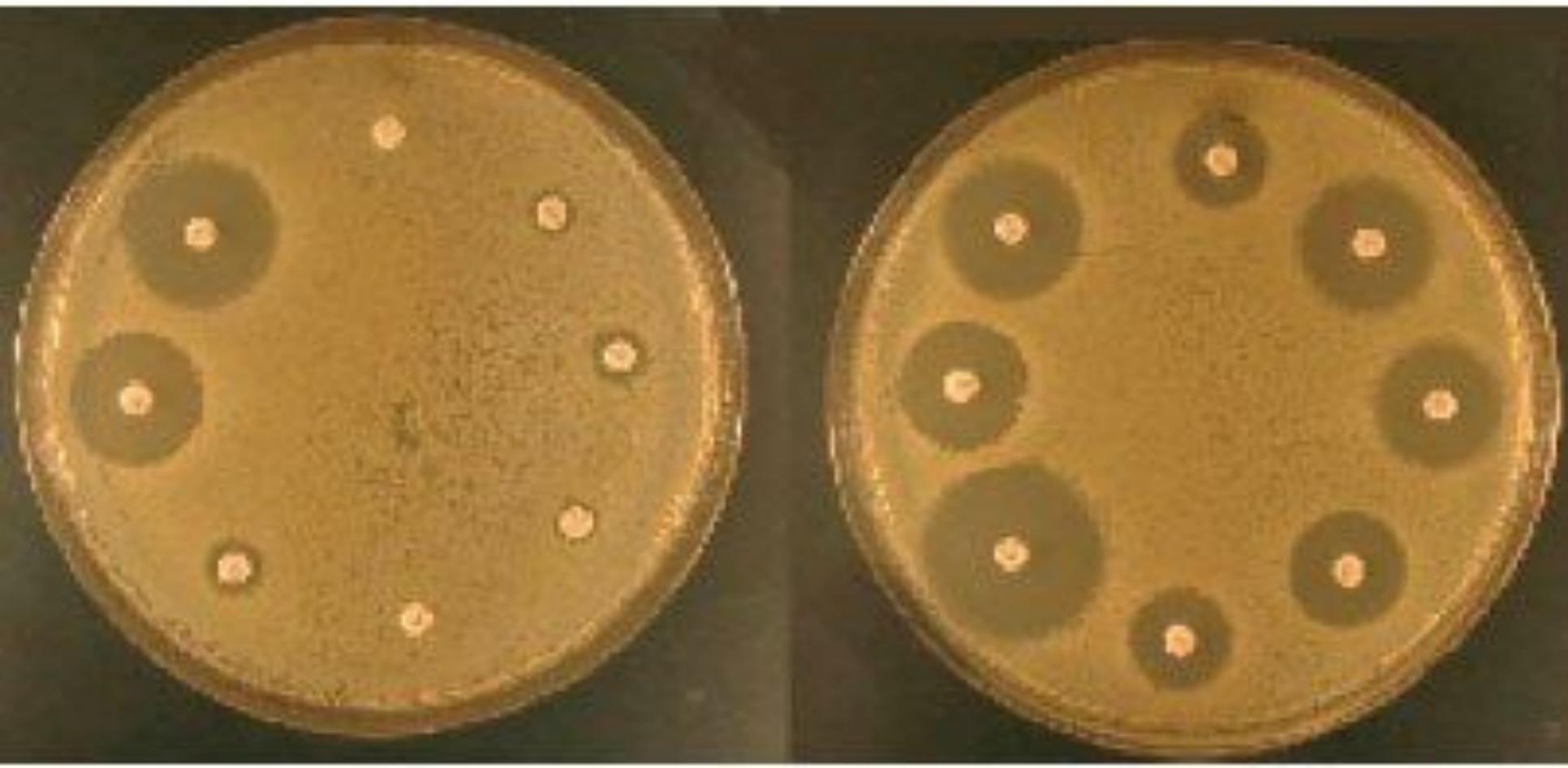


цитоплазматическая мембрана

клеточная стенка

периплазма (бета-лактамаза, аминогликозидмодифицирующие ферменты)

□ КАКИМИ МЕТОДАМИ МОЖНО ИЗУЧИТЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРОБОВ К АНТИБИОТИКАМ?



▣ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ МИКРОБОВ К АНТИБИОТИКАМ

диффузионные методы

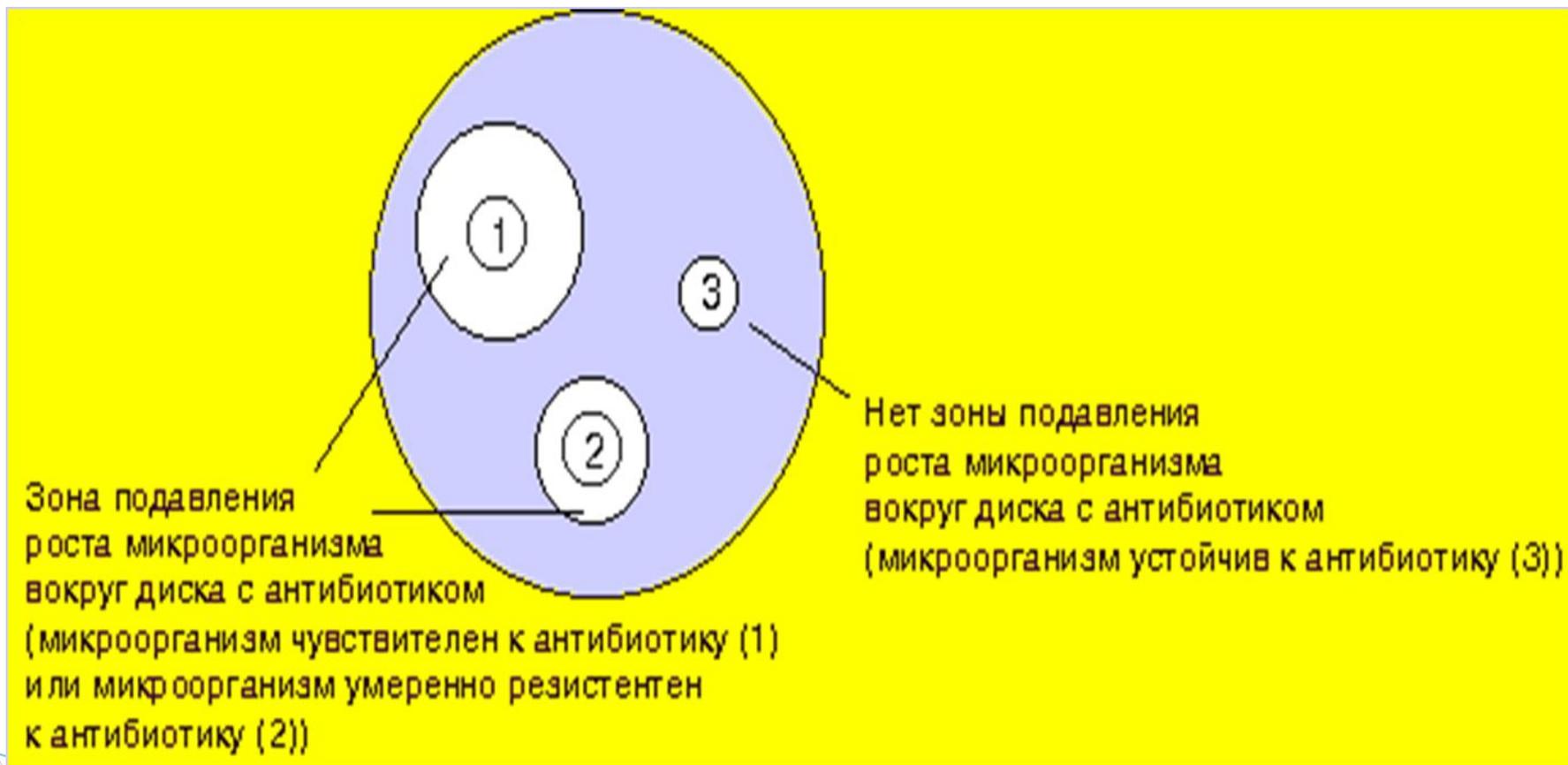
- ▣ с использованием дисков антибиотиками (ДДМ)
- ▣ с помощью Е-тестов



методы разведения

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

▣ **Определение чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом.**



▣ УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

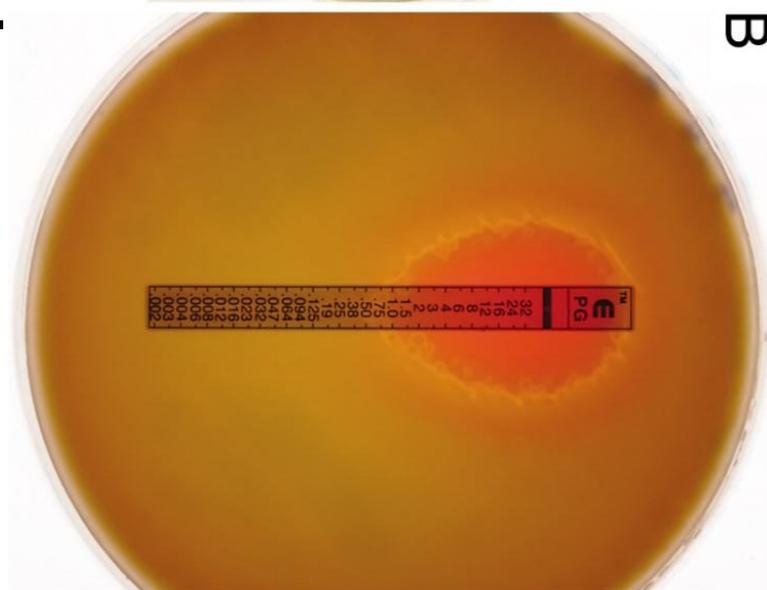
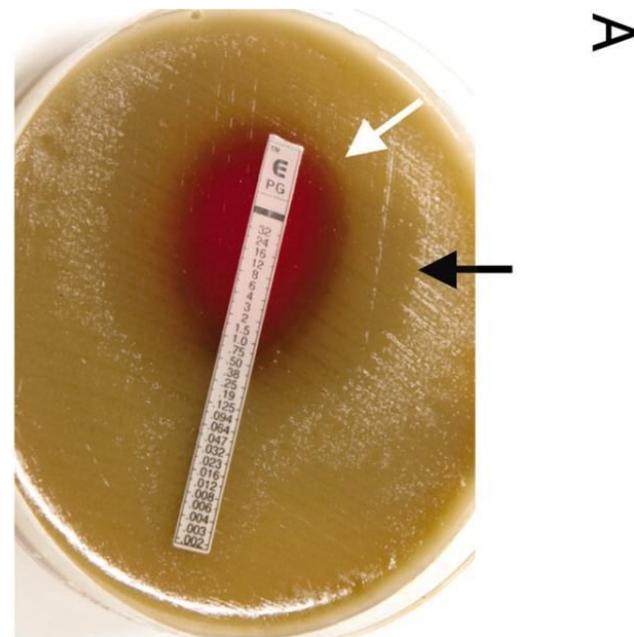
Диаметр зон задержки роста измеряют линейкой с точностью до 1 мм. Величину зоны задержки роста сравнивают с таблицей и определяют три степени чувствительности м/о к АПБ:

- ▣ S – чувствительный (susceptible)
- ▣ I – промежуточный (intermediate)
- ▣ R – резистентный (устойчивый) (resistant)



Е-тест.

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



Определение значения МПК методом разведения в жидкой питательной среде.
Минимальная подавляющая концентрация (МПК) - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост бактерий



По каким причинам возникает устойчивость (резистентность) микроорганизмов к антибиотикам?



■ УСТОЙЧИВОСТЬ (РЕЗИСТЕНТНОСТЬ) МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ.

- Естественная
- Приобретенная

Пути возникновения:

- Мутации в ДНК
- Плазмидный (наличие R- плазмиды)

Механизмы резистентности:

- Синтез ферментов, разрушающих АБ
- Модификация мишени, на которую действуют антибиотики (потеря клеточной стенки)
- Изменение проницаемости клеточной стенки для антибиотика
- Повышение скорости выведения антибиотика
- Способность переводить антибиотик в неактивную форму
- Повышение скорости продукции субстрата.



1-й принцип Флеминга

- ▣ **Назначение противомикробного средства только при условии чувствительности к нему возбудителя !**
- ▣ Рекомендации ВОЗ (к 1-му принципу) -
Всемерное ограничение использования АБ в клинических условиях
- ▣ Обязательное изучение спектра действия АБ и чувствительности возбудителя
- ▣ Предпочтение препарата с узким спектром
- ▣ При назначении АБ по жизненным показаниям - препарат широкого спектра

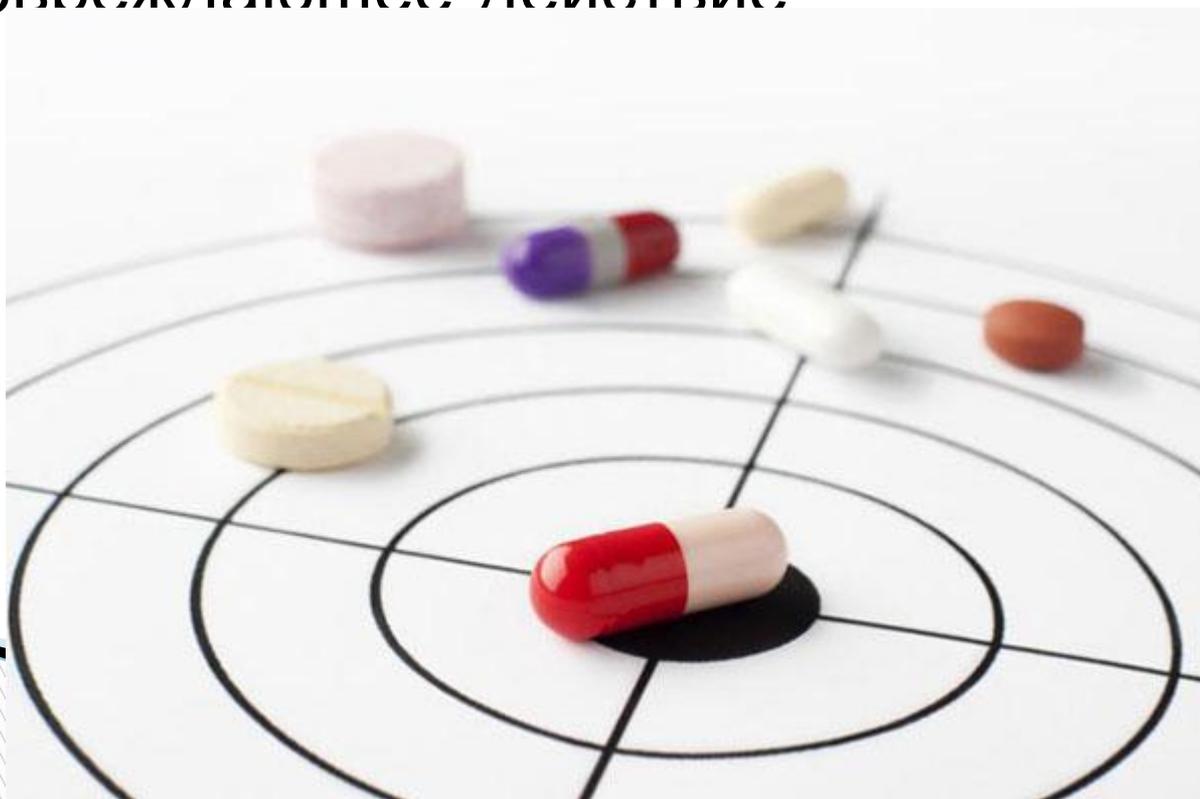
2-й принцип Флеминга

- ▣ **Обеспечение эффективной концентрации в очаге инфекции (дозы- разовая, суточная, курсовая)**
- ▣ Рекомендации ВОЗ (ко 2-му принципу)
- ▣ Уменьшение местного использования АБ
- ▣ Уменьшение профилактического использования АБ
- ▣ Периодическая корректура АБ-терапии на основе исследования микрофлоры раны и ее АБ-граммы (1 раз в 4-6 дней)
- ▣ Отмена АБ сразу, без постепенного снижения дозировки

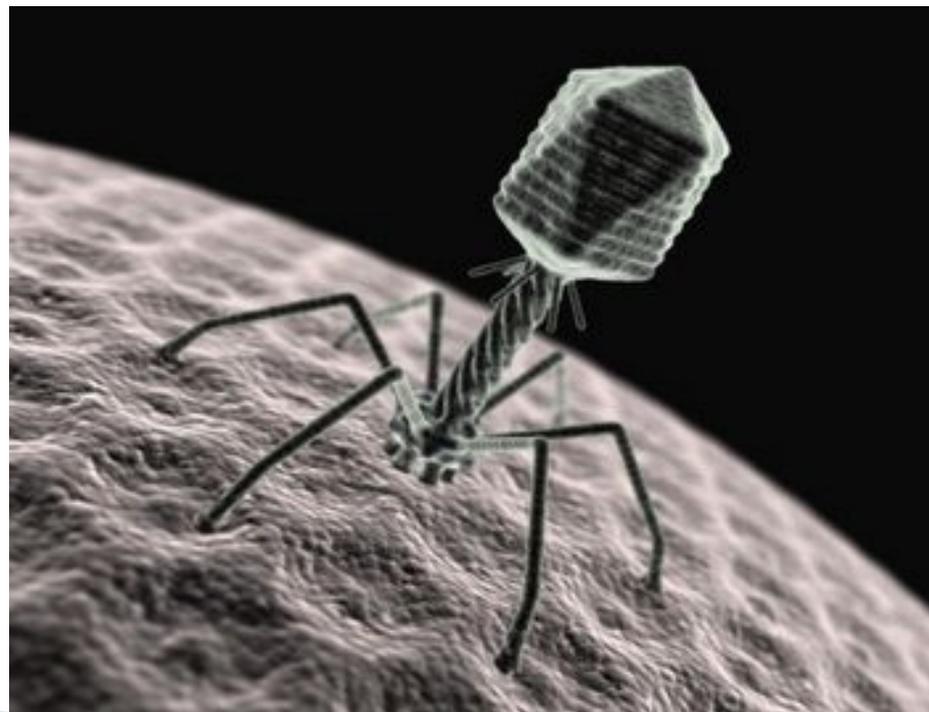


3-й принцип Флеминга

- ▣ Назначение АБ в такой дозе (разовой, суточной, курсовой) и введение таким путем, чтобы максимально ограничить его повреждающее действие



Понятие: бактериофаг. Как используется в практической медицине?



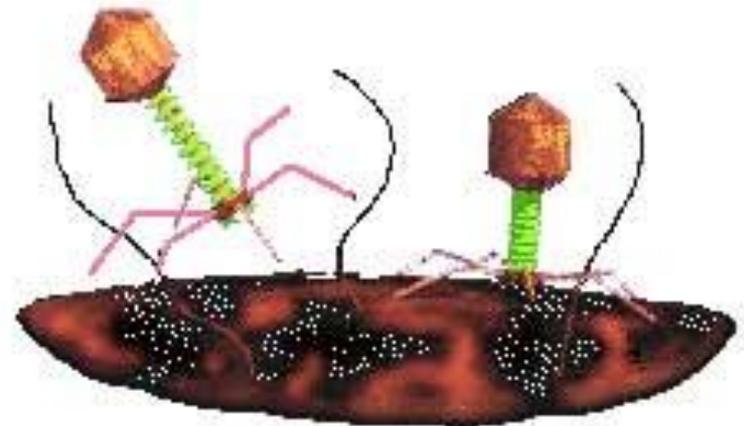
Бактериофаги

Бактериофагами (или просто фагами) называются вирусы, поражающие прокариотическую клетку.

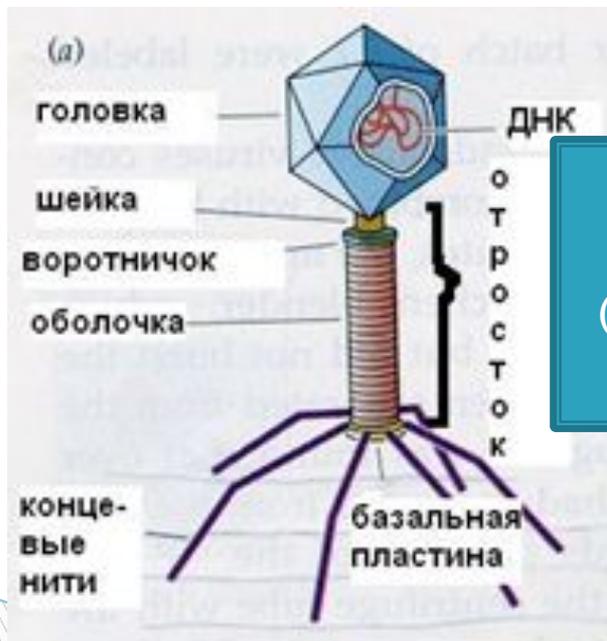
- Бактериофаги были открыты вскоре после эпохального (как, впрочем, выяснилось позднее) открытия Ивановского; однако их структура и особенности взаимодействия с бактериальной клеткой прояснились лишь на переломе XX века.
- Бактериофаги **открыл** д'Эрелль в 1917 году.

Номенклатура фагов основана на видовом наименовании хозяина. Это значит, что название конкретного бактериофага – это название того вида бактериального вида, которые является основным хозяином данного фага, с добавлением буквенного, или числового, или буквенно-числового обозначения (например: *Escherichia coli* λ, *Escherichia coli* T2 и т.п.).

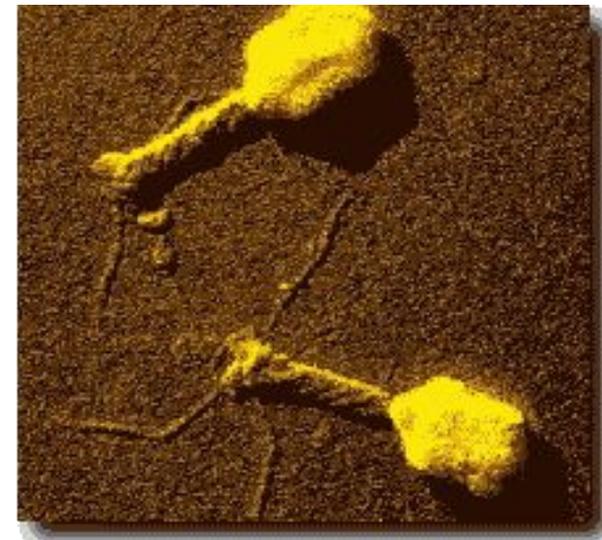
Структура бактериофага: нуклеиновая кислота (или ДНК или РНК), окруженная белковой оболочкой.



- НК бактериофага содержится в его **головке** – икосаэдральной структуре, формирующей вокруг нуклеиновой кислоты белковую оболочку.
- может иметь **отросток** – трубчатую белковую структуру, через которую НК внедряется в клетку, к которой прикрепился бактериофаг.
- 3. БФ могут иметь **дополнительные структуры** – например, базальную пластинку, концевые нити и т.д



Бактериофаг Т2
(схема строения)

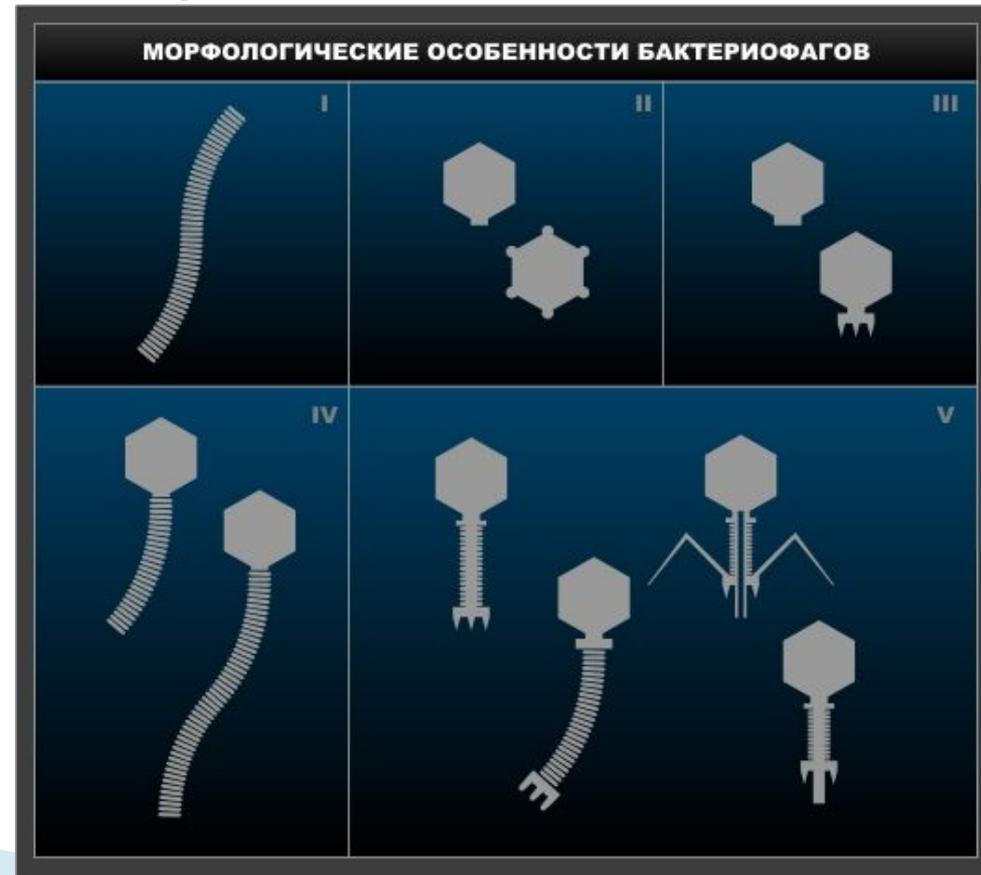


Бактериофаг Т2 (электронная микроскопия – объемная фотография)

Морфологические типы бактериофагов

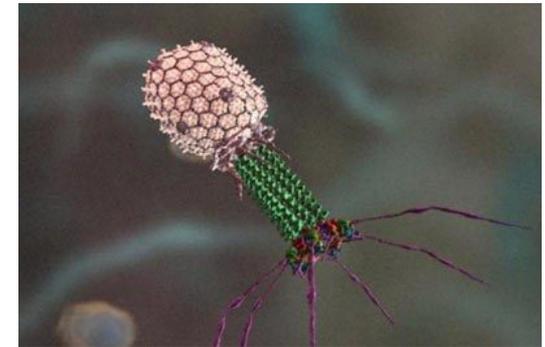
- В зависимости от наличия и характера основных структурных компонентов – головки и отростка – бактериофаги подразделяются на морфологические типы, в пределах которых, в свою очередь, возможны различные варианты, что делает мир бактериофагов очень разнообразным

Различные морфологические типы бактериофагов. БФ может иметь только один из основных структурных компонентов (**простой**). БФ, имеющие и головку и отросток - **сложные**.



Классификация бактериофагов по спектру действия

- БФ, поражающие несколько видов бактерий - **полифаги**.
- **монофаги** – поражают особей только одного вида (= **видовые**).
- **типовые** – они поражают не всех особей данного вида, а только часть их. Именно в зависимости от чувствительности к таким бактериофагам выделяют внутри одного вида различные **фаговары** (или фаготипы).



Прикрепление фага

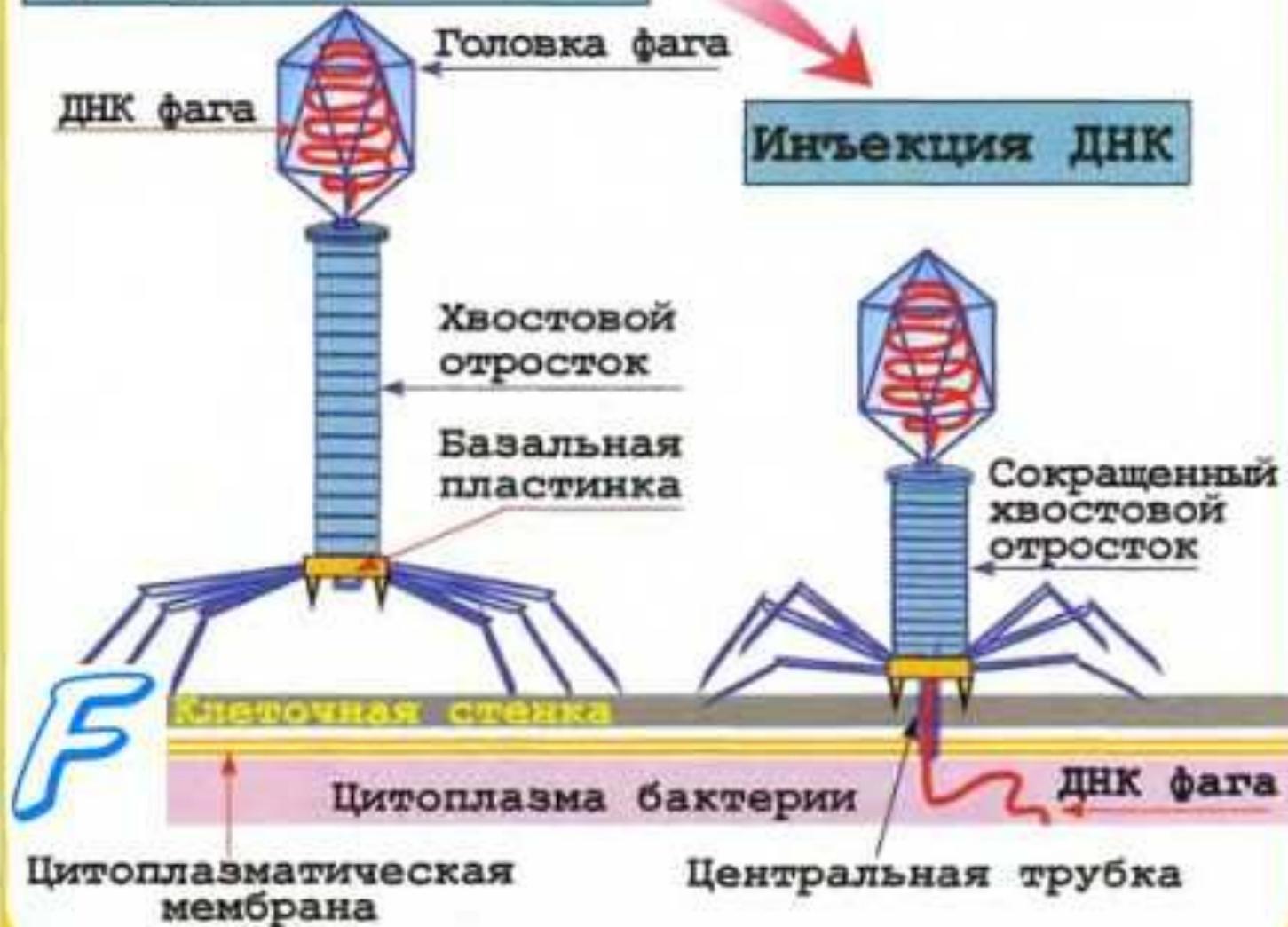
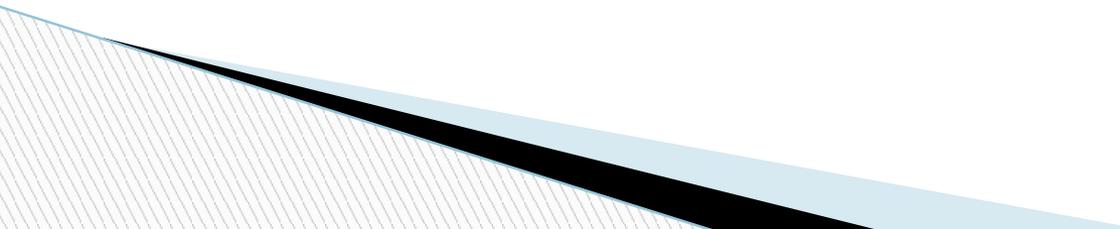


Рис. 4.17. Взаимодействие бактериофага с оболочкой бактерии

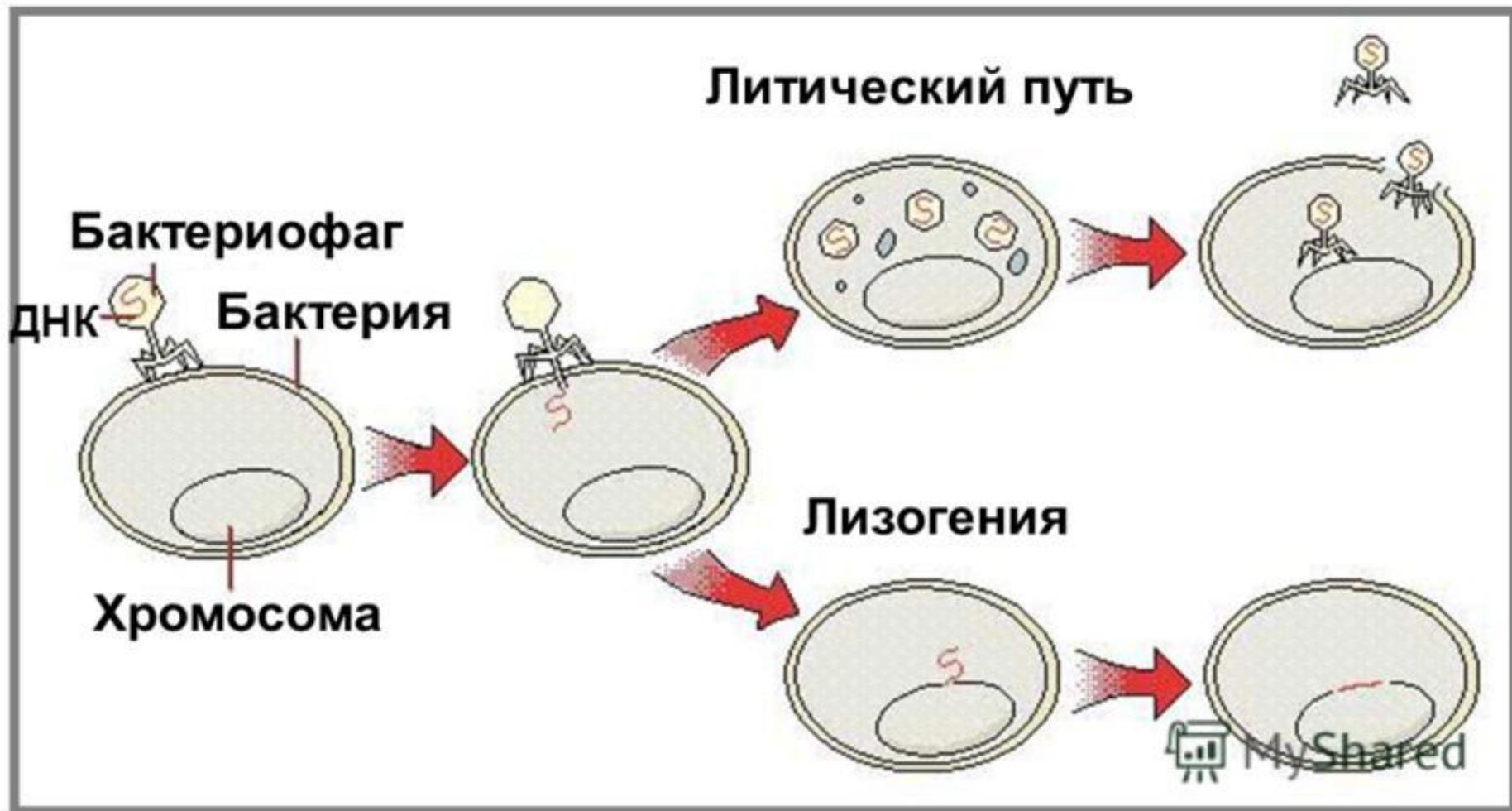
Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

- БФ адсорбируется на специальных, специфических для конкретного фага, рецепторах клеточной стенки **чувствительной** бактериальной клетки.
 - Следующая стадия – **проникновение нуклеиновой кислоты** БФ внутрь бактериальной клетки (*депротеинизация*).
 - В дальнейшем происходит **взаимодействие БФ с геномом** пораженной клетки.
- 

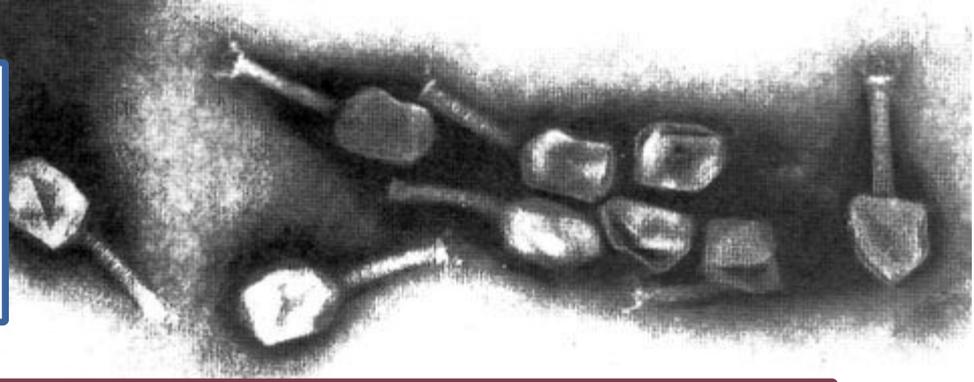
Взаимодействие бактериофага с бактериальной клеткой

- Синтез ДНК и белка

- Формирование



Вирулентные бф вызывают
продуктивную инфекцию
бак. клетки



репликация фаговой НК и синтез фаговых
белков

сборка фаговых частиц (без участия ферментов)

Завершается процесс выходом зрелых фагов

Клетка при этом
может лизироваться (с
выходом фаговых
корпускул).

Некоторые нитчатые фаги
способны выходить из
бактериальной клетки не только
не вызывая ее лизиса, но
клетка при этом даже не
погибает

Умеренные бактериофаги вызывают лизогенизацию бактериальной клетки

НК интегрируется в геном бактерии - профаг.

Транскрипция профага репрессируется фаговым репрессором, вследствие чего информация с него не снимается и он **реплицируется в составе генома** лизогенной бактерии. Все клетки бак. культуры, ведущей начала от такой клетки содержат профаг (культура *лизогенная*).

В **дальнейшем** с профага какой-либо клетки или совокупности клеток лизогенной культуры **может начаться процесс снятия информации** (*индукция профага*): продуктивная инфекция с лизисом клетки и выходом из нее зрелых корпускул умеренного бф.

Практическое применение фагов

- Бактериофаг в медицинской практике применяется в диагностике, лечении и профилактике инфекционных заболеваний.



- В диагностике бактериофаг применяется при осуществлении культурального метода исследования для определения вида выделенной чистой культуры, также для ее типирования.





**Реакция
нарастания титра
фага**



видовой бф
реплицируется
только в клетках
бактерий «своего»
вида



К пат. материалу
добавляют
определенное
количество
видового бф



вновь определяют количество
фага. Если оно возросло,
значит, бф «нашел» для
репликации клетки «своего»
вида, следовательно – в
патологическом материале
присутствуют бактерии
искомого вида.

идентификация чистой культуры

Видовые БФ

используются для
фагоиндикации

Типовые БФ

используются для
фаготипирования

Фагоиндикация.

- Выделенную чистую культуру засевают газоном на пластинчатый агар и капают на него каплю видового БФ. Если культура относится к искомому виду, то в месте нанесения капли роста не будет, в противном случае в месте нанесения капли фага будет наблюдаться бактериальный рост. Иногда после нанесения чашку Петри с пластинчатым агаром наклоняют, давая капле стечь в краю чашки (из-за чего этот метод называют «стекающая капля»).

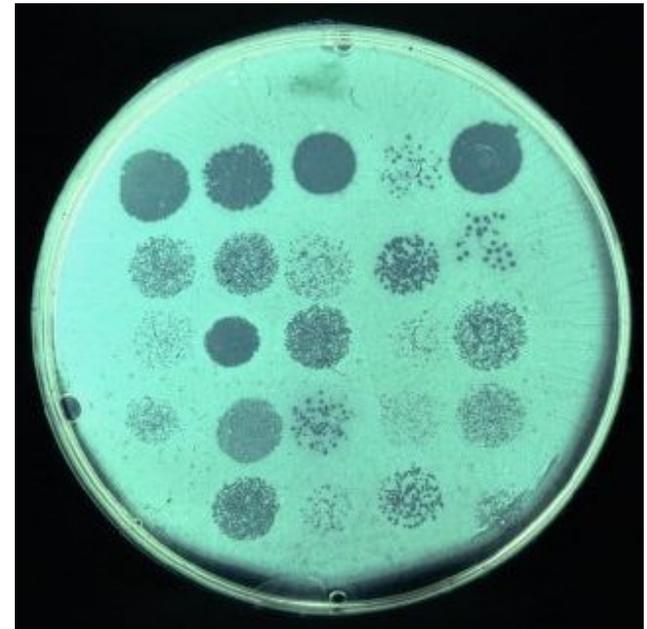


Метод фагоиндикации: в месте нанесения капли бактериофага φ-KX-32 чувствительный к нему вид *Klebsiella planticola* не растет (справа внизу видно «стерильное пятно»), клебсиелла другого вида – *K. oxytoca* – к этому фагу не чувствительна.

фаготипирование.

- ▣ 1. Типируемый штамм засевают газоном на пластинчатый агар.
- ▣ 2. Затем на засеянную поверхность капают капли типовых бактериофагов (каждую в свой квадрат, помеченный заранее, например, стеклогграфом на дне чашки Петри).
- ▣ 3. Чашку с посевом инкубируют в термостате.
- ▣ 4. Учитывают опыт, регистрируя «стерильные пятна» или «бляшки» – места отсутствия роста в месте нанесения капли бактериофага, к которому чувствителен данный вариант бактерий
- ▣ 5. Фаговар (фаготип) обозначается путем перечисления типовых фагов, лизирующих данный вариант.

Стерильные пятна, образованные
типовыми бактериофагами



Фаготерапия.

- Применение бактериофагов (как правило, видовых) для лечения.
- применяются местно (в виде орошения пораженной поверхности, вкалывая в локальный очаг патологического процесса и т.п.), так как введение их парентеральным путем приводит к развитию иммунного ответа на чужеродный фаговый белок. Если лечебный бактериофаг применяют перорально (для лечения кишечных инфекций), то лучше всего использовать таблетированную форму препарата, покрытую кислотоустойчивой оболочкой, растворяющейся в щелочной среде кишечника – БФ очень чувствительный к низкому рН и быстро инактивируются в кислой среде желудка.



- ▣ **Фагопрофилактика** – использование БФ (тоже, как правило, видового) для профилактики развития бактериальной инфекции.
- ▣ Для экстренной профилактики брюшного тифа и дизентерии.

Экстренная профилактика - комплекс мероприятий для предотвращения развития болезни уже после совершившегося акта инфицирования, т.е. попадания возбудителя в организм пациента

