

Микробиологические аспекты антимикробной терапии

доцент Андреев В.А.

Антибиотики — это вещества живых организмов, а также их полусинтетические и синтетические аналоги, способные избирательно подавлять рост и размножение патогенных микроорганизмов в организме больного.

Основные требования к антибиотикам

- Отсутствие или низкий уровень токсичности препарата и продуктов его разрушения в организме.
- Выраженный антимикробный эффект в условиях организма.
- Медленное развитие устойчивости в процессе применения.
- Хорошая растворимость в воде, стабильность в обычных условиях хранения в течение длительного срока.
- Избирательность воздействия на микроорганизмы

Механизм действия антибиотиков

Нарушение синтеза клеточной стенки микроорганизмов

Пенициллины
Цефалоспорины
Монобактамы
Карбопенемы
Гликопептиды

Нарушение функции цитоплазматической мембраны

Полимиксины
Полиены

Нарушение синтеза белка на уровне рибосом

Аминогликозиды
Тетрациклины
Амфениколы
Макролиды
Линкозамиды
Стрептограминны

Нарушение синтеза нуклеиновых кислот

Фторхинолоны
Рифамицины
Гризеофульвин

Нарушение метаболизма фолиевой кислоты

Сульфаниламиды
Триметоприм

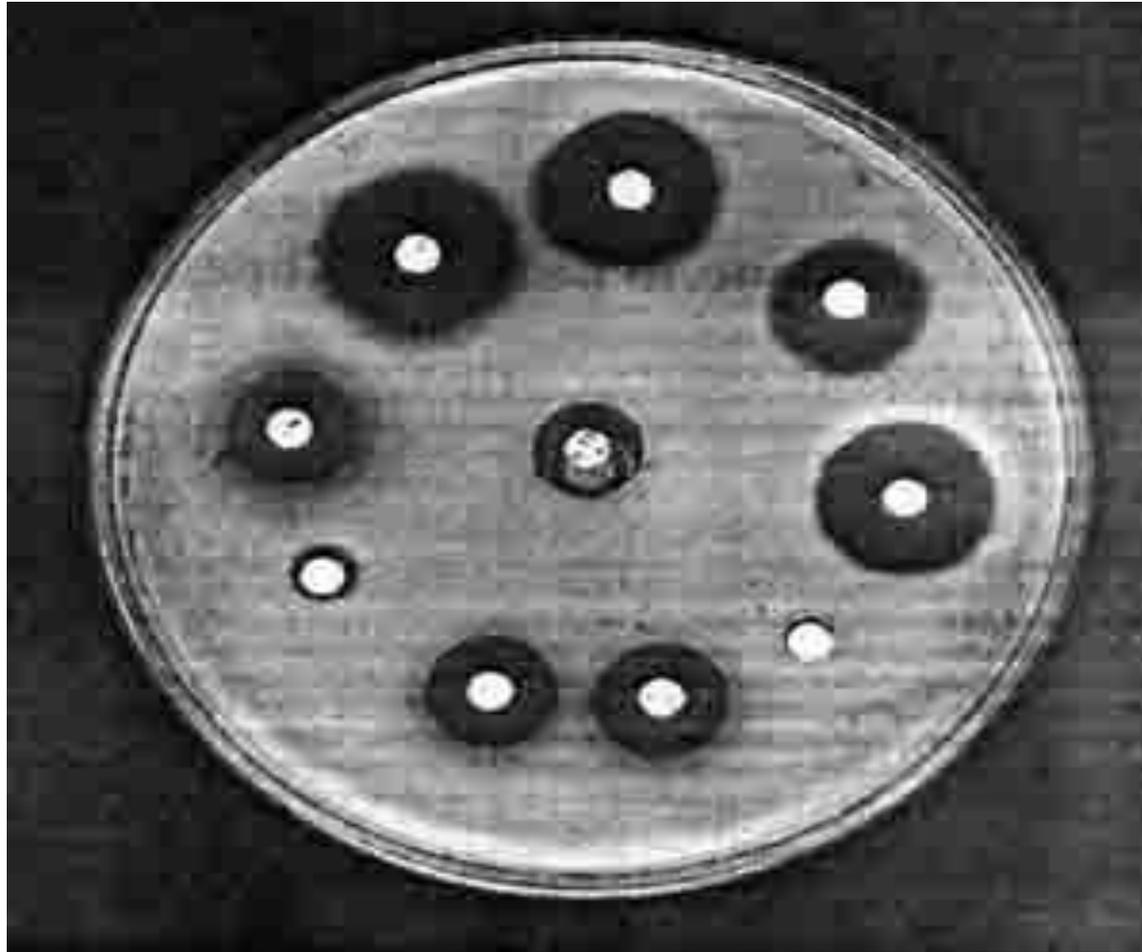
Критерии интерпретации чувствительности бактерий

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

Механизмы развития устойчивости микроорганизмов к антибиотикам

- Нарушение проницаемости клеточной стенки для химиопрепаратов (наличие пориновых каналов у Гр-бактерий)
- Ферментативная инаktivация антибиотиков (например выработка β лактамаз)
- Модификация структуры клеточных мишеней (например появление нового ПСБ 2a у стафилококков, обладающих сниженной афинностью к беталактамам)
- Активное выведение антибиотиков из микробной клетки (эффлюкс описанный для макролидов, линкозамидов, тетрациклинов, вследствие синтеза транспортных белков)
- Формирование метаболического шунта, описанного для сульфаниламидов

Дискодиффузионный метод определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

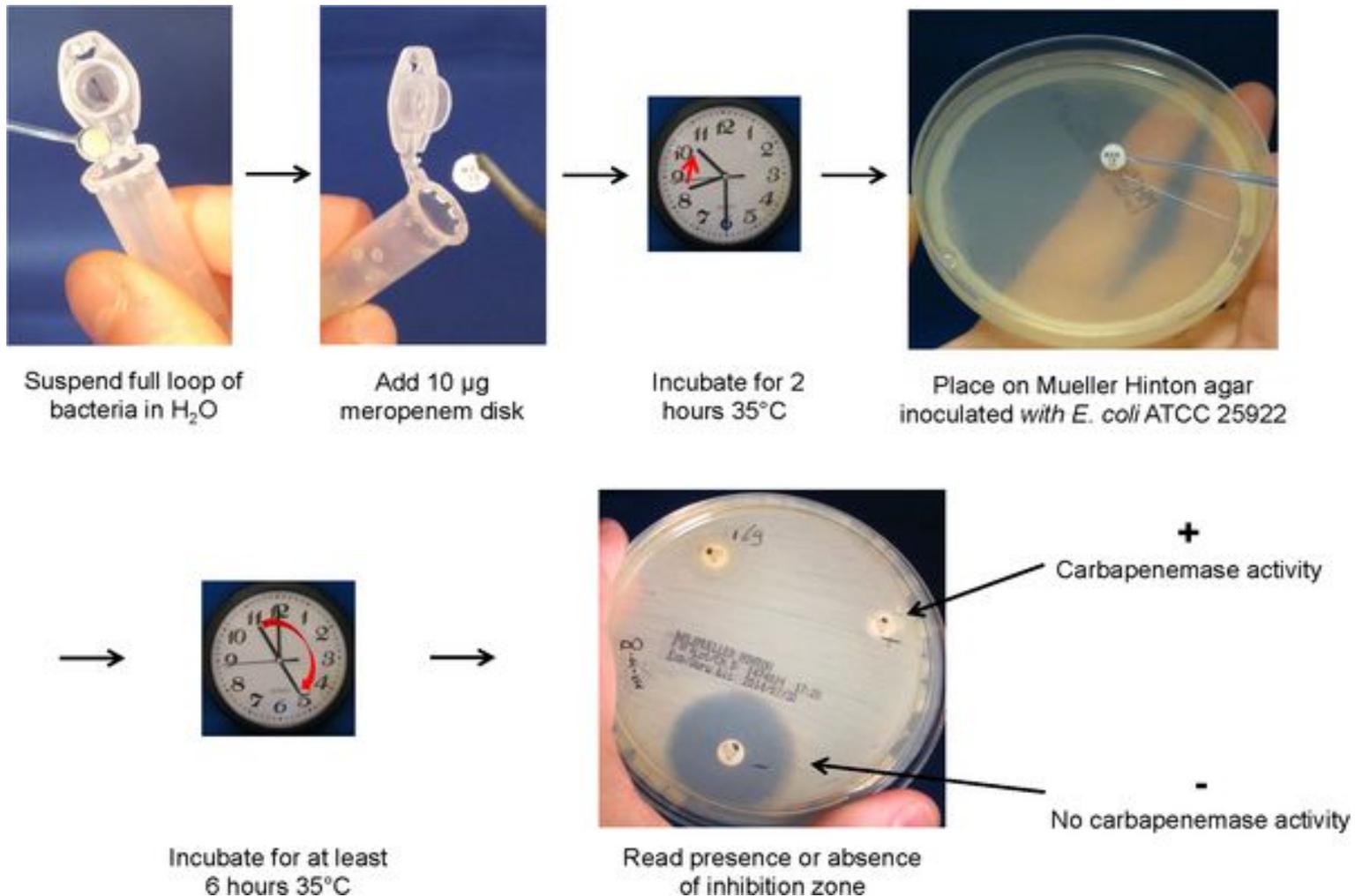


Метод Е-тестов



D:\микроб\106-2.gif

Fig 1. Schematic of the CIM.



van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, et al. (2015) The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. PLOS ONE 10(3): e0123690. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123690>

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0123690>

Выявление БЛРС

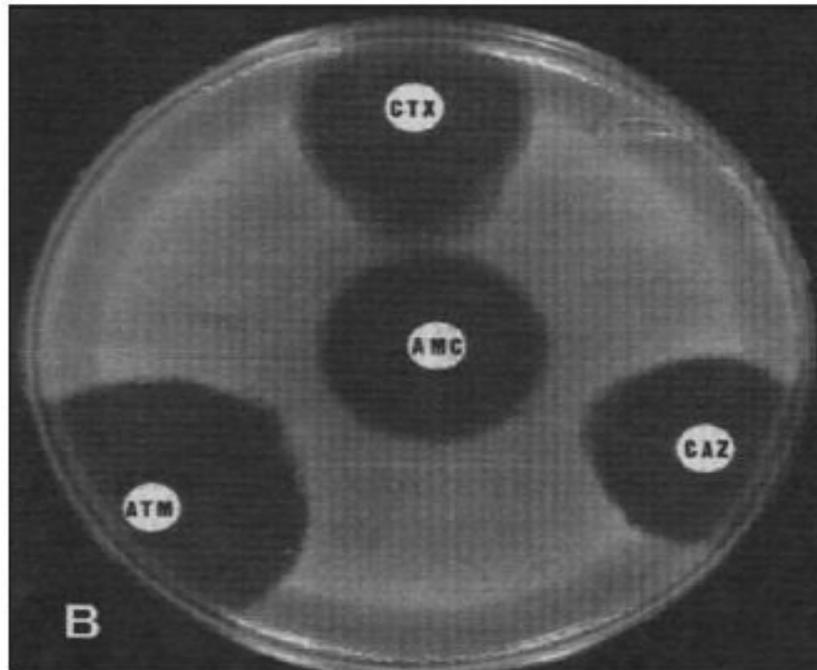


Рис. 1. Выявление продукции БЛРС методом двойных дисков: смещение зоны ингибиции роста в сторону центрального диска с амоксициллином/клавуланатом (АМС). По периферии диски с цефтриаксоном (СТХ), цефтазидимом (САЗ), азтреонамом (АТМ)

Таблица 2. Критерии для выявления диско-диффузионным методом и серийных разведений штаммов *Klebsiella spp.* и *E. coli*, подозрительных на продукцию БЛРС

Антибиотик	Диаметр зоны ингибиции роста, мм	Величина МПК, мкг/мл
Цефотаксим	27	2,0
Цефтриаксон	25	2,0
Цефтазидим	22	2,0

Примечание: цефтазидим включен в набор только как маркер на потенциальную продукцию БЛРС, а его использование для лечения инфекций, вызванных отличными от *P. aeruginosa* и других

Выявление металлобеталактамаз

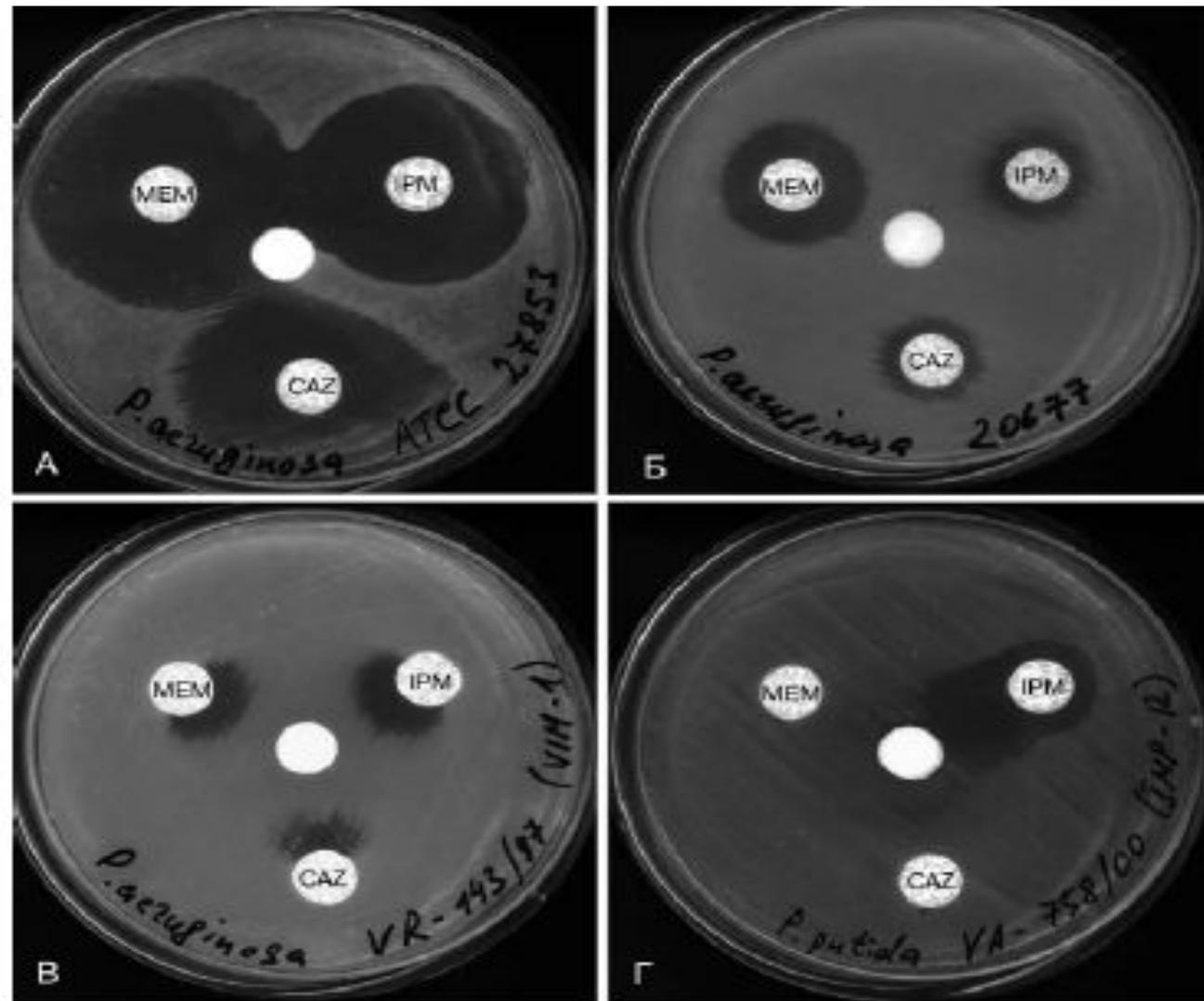


Рис. 1. Выявление продукции МβЛ с помощью метода «двойных дисков с ЭДТА». Отрицательные результаты (МβЛ⁻): А – *P. aeruginosa* ATCC® 27853; Б – *P. aeruginosa* 20677; положительные результаты (МβЛ⁺): В – *P. aeruginosa* VR-143/97 (VIM-1); Г – *P. putida* VA-758/00 (IMP-12).
Обозначения дисков: CAZ – цефтазидим (30 мкг), IPM – имипенем (10 мкг), MEM – меропенем (10 мкг), диск без маркировки содержит 5 мкл 0,5 М раствора ЭДТА.

Схема

1. В центр - пустой диск, на который наносят 5 мкл 0,5 М раствора ЭДТА (рН 8.0), по бокам от него на расстоянии 15 мм между центрами дисков - диски с цефтазидимом, имипенемом, меропенемом. Чашки инкубируют в термостате при 35 С в течение 16-18 ч. Параллельно с анализом испытуемых культур проводят исследование контрольных штаммов.

2. Диски с антибиотиками:

- цефтазидим 30 мкг (BIO-RAD Laboratories, Франция);
- имипенем 10 мкг (BIORAD Laboratories, Франция);
- меропенем 10 мкг (BIO-RAD Laboratories, Франция).

Двунатриевая соль этилен-диаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (РЕАХИМ, Россия).

3. Контрольные штаммы:

- *P. aeruginosa* ATCC8 27853 (MBL-);
- *P. aeruginosa* 20677 (MBL+);
- *P. aeruginosa* VR-143/97 (VIM-I);
- *P. aeruginosa* 565 (VIM-2);
- *P. aeruginosa* 010 (VIM-10);
- *P. aeruginosa* 101/1477 (IMP-1);
- *A. baumannii* AC-54/97 (IMP-2);
- *P. putida* VA-758/00 (IMP-12);
- *P. aeruginosa* MV461 (IMP-13). Агар Мюллера-Хинтон (BIO RAD Laboratories, Франция).

Примечание

При тестировании отдельных МВЛ-продуцирующих штаммов, проявляющих высокий уровень устойчивости к цефтазидиму, имипенему и меропенему (отсутствие зон подавления роста вокруг дисков с данными антибиотиками или МПК >64 мкг/мл), может быть получен ложноотрицательный результат из-за отсутствия видимого синергизма между дисками с ЭДТА и бета-лактамами, расположенными на расстоянии 15мм между центрами. В связи с этим для высокорезистентных штаммов рекомендуется дополнительная постановка теста с размещением дисков на более близком расстоянии - 10 мм между центрами

Минимальная подавляющая концентрация (МПК) - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост бактерий

Концентрация антибиотика (мг/л)

Контроль

0

0.25

0,5

1

2

4

8

16

32



Рост микроорганизма

МПК

Роста нет

