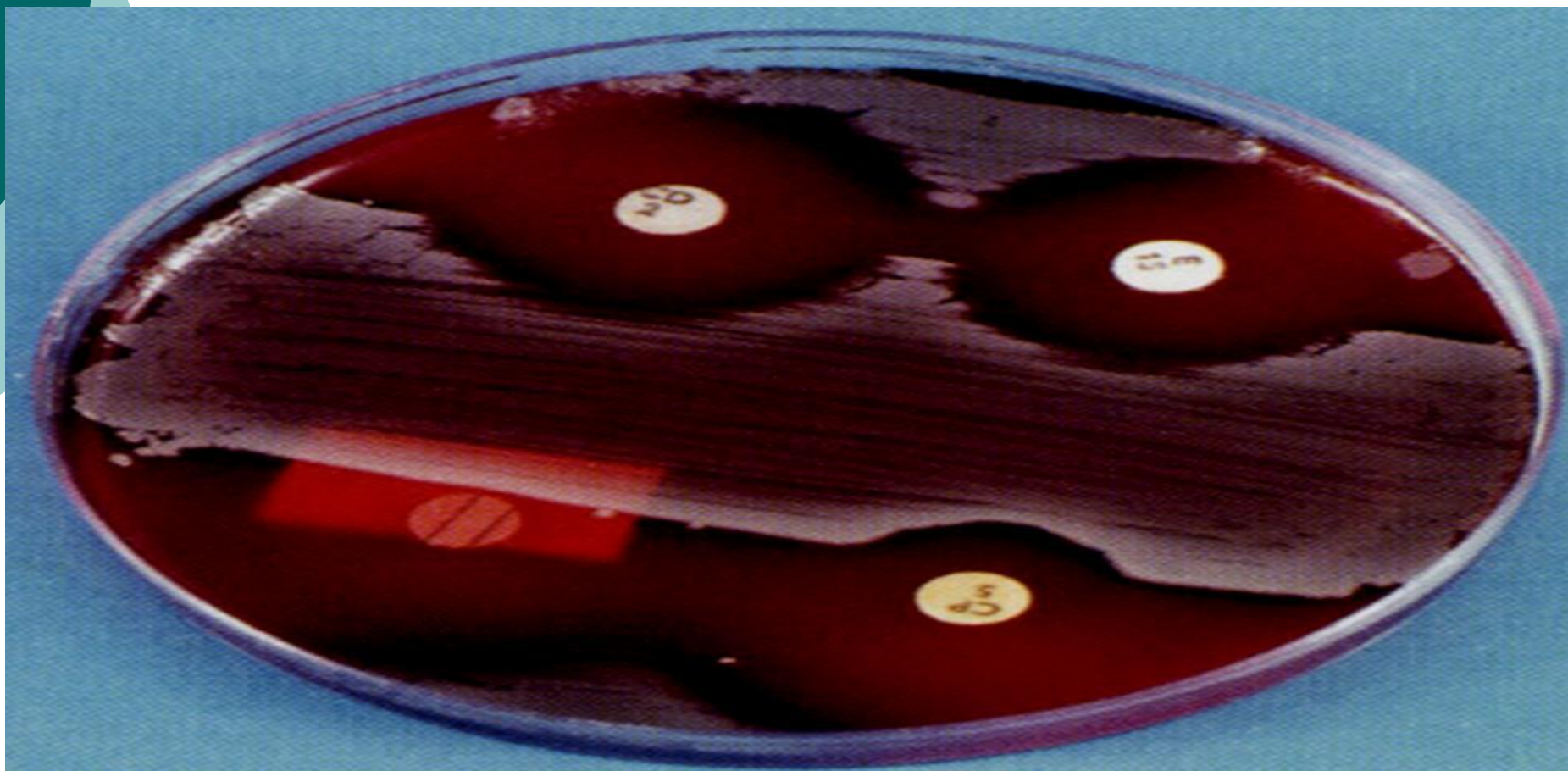


АНТИМИКРОБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И АНТИМИКРОБНАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ





Классификация по происхождению

- Природные (пенициллин)
- Синтетические (химические производные природных а/б)
- Полусинтетические (получены путем модификации природных)



Природные

- полученные из бактерий и актиномицетов
- из грибов(пенициллин)
- из растительных клеток (чеснок)
- ИЗ ЖИВОТНЫХ КЛЕТОК



Классификация

- по направленности действия
 - антибактериальные
 - противогрибковые
 - противовирусные
 - противопротозойные
 - противоопухолевые

Антибактериальные антибиотики

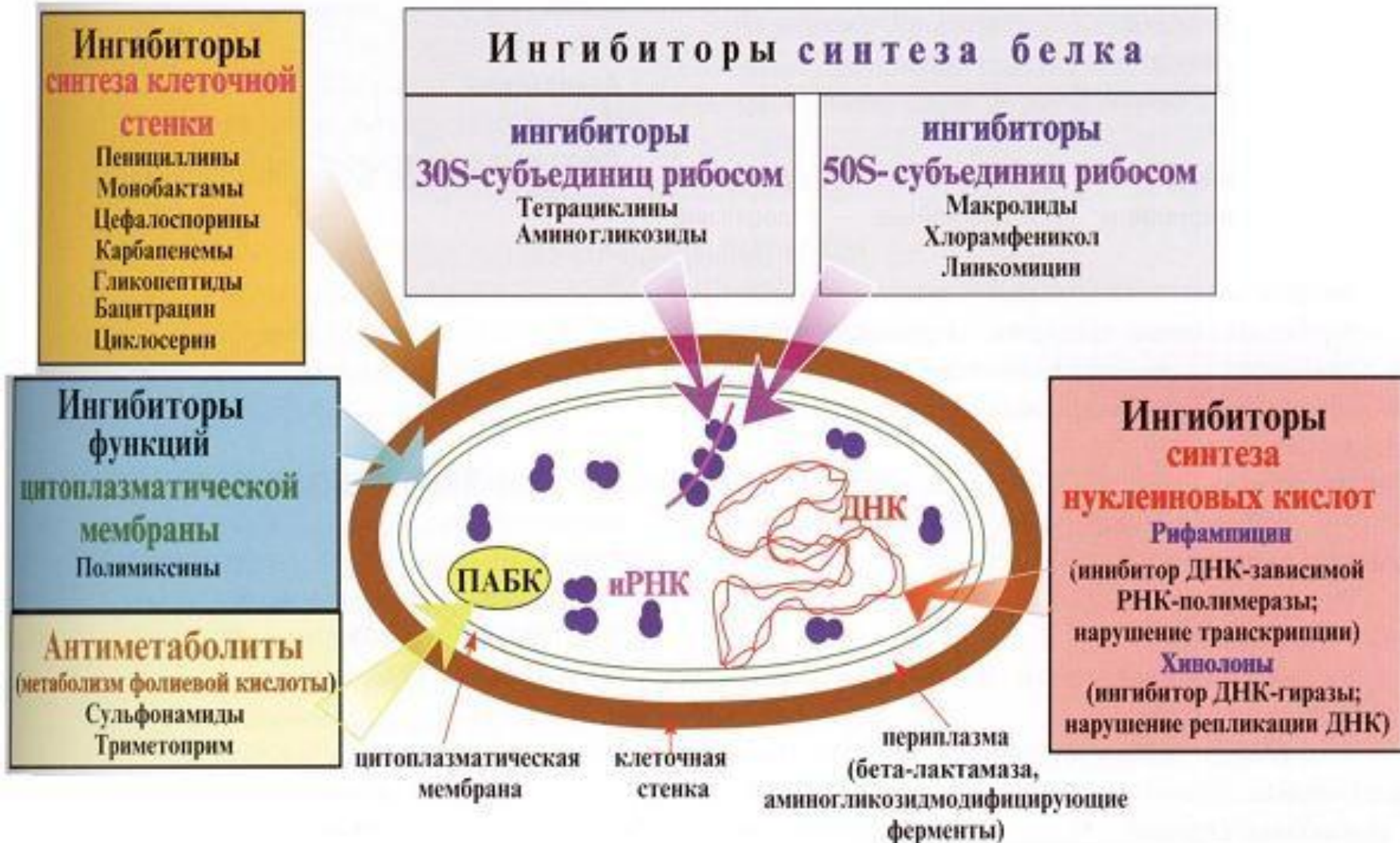
- по антимикробной активности
 - бактерицидные (тетрациклин, хлорамфеникол)
 - бактериостатические (пенициллин), действуют только на растущую микробную клетку (молодую, активно делящуюся)
- по спектру
 - узкого (гр.- или гр.+))
 - широкого (гр.- и гр.+))



по механизму действия

- нарушающие синтез клеточной стенки (пенициллины и цефалоспорины)
- нарушающие синтез белка на уровне транскрипции()
- нарушающие синтез белка на уровне рибосом(стрептомицины/ макролиды)
- нарушающие репликацию ДНК (хинолоны)
- действующие на ЦПМ

Схема клеточных мишеней для антибиотиков.



по химической структуре

- β-лактамы
(пенициллин,
оксациллин,
ампициллин,
цефалотин)
 - пенициллины
 - карбапенемы
(имипинем)
 - цефалоспорины
(цефепим)
 - монобактамы
(азтреонам)

бактерицидные
мишень –
пенициллинсвязанны
е белки (ПСБ),
являющиеся
ферментом для
синтеза
пептидогликана, т.к.
формируют
поперечные связи.
ПСБ и ПГ отсутствуют
у человека, поэтому
нетоксичны для
человека



по химической структуре

- Аминогликозиды (стрептомицины)
 - I поколения
 - II поколения
 - III поколения
- бактерицидные
- нарушают синтез белка на уровне рибосом

по химической структуре

- Макролиды
 - 14-членные
 - 15-членные
 - 16 членные
 - природные (эритромицин, спирамицин)
 - полусинтетические (klarитромицин, азитромицин)
- Хинолоны (ингибиторы РНК-гиразы, которая отвечает за суперспирализацию ДНК)
 - I поколение (нефторированные) налидиксовая кислота
 - II (фторхинолоны) ципрофлоксацин
- нарушают синтез белка рибосомами
- Бактериостатики
- бактерицидный эффект
- нарушает биосинтез ДНК (репликацию)

по химической структуре

- Хинолоны (ингибиторы РНК-гиразы, которая отвечает за суперспирализацию ДНК)
 - I поколение (нефторированные) налидиксовая кислота
 - II (фторхинолоны) цiproфлоксацин
- бактерицидный эффект
- нарушает биосинтез ДНК (репликацию)



по химической структуре

- Тетрациклины
 - бактериостатики
 - нарушают синтез белка
- Менкосамиды
 - бактериостатики
 - нарушают синтез белка рибосомами



по химической структуре

- Гликопептиды
 - бактериостатики
 - нарушают синтез клеточной стенки
- Полимиксины
 - действуют на ЦПМ
 - бактерицидный эффект
- нитроимидазолы
 - бактерицидный эффект
 - нарушают репликацию ДНК
 - нарушают синтез белка
 - ингибируют тканевое дыхание

по химической структуре

- сульфаниламиды
 - бактериостатики
 - аналог ПАБК
 - конкурентно ингибирует фермент, отвечающий за синтез дигидрофолиевой кислоты (предшественницы фолиевой кислоты)

по химической структуре

- нитрофураны
 - акцепторы O_2
 - нарушают клеточное дыхание
 - ингибируют биосинтез нуклеиновых кислот
- рифампицины
 - блокируют трансляцию на этапе ДНК → мРНК, ингибируя ДНК-зависимую РНК-полимеразу
- Хлорамфениколы
 - блокируют синтез белка за счет невозможности присоединения к большой субъединице рибосом тРНК
- Стрептограминны
 - мишень – рибосомы



подходы в назначении антибиотиков

- Эмпирический
- Этиотропный

Этиотропный подход

- во всех случаях, когда выделяется микроб, этиологическая роль которого очевидна или вероятна

Не проводится

- в отношении условно-патогенных м/о при выделении из мест их естественного обитания
- в случаях отсутствия стандартных методов исследования и критерий оценки чувствительности



Этиотропный подход

- когда чувствительность нельзя предположить на основании результатов идентификации, например, чувствительность стрептококка группы А к бензилпенициллину 100%



Этиотропный подход

- в отношении всех м/о, выделенных из стерильных в норме жидкостей, тканей
- в отношении м/о, для которых известна высокая частота формирования приобретенной устойчивости

ДДМ не используется

- если для роста > 48 ч.
- если микроб – облигатный анаэроб
- культура не образует равномерного газона на плотной среде
- если для роста требуются среды не соответствующие применяемым для оценки а/б чувствительности
- если зона подавления роста не соответствует истинной чувствительности.



Резистентность микроорганизмов

- Природная
- Приобретенная



Истинная природная устойчивость

- характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или недоступности мишени вследствие первично низкой проницаемости или ферментативной инактивации
- При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики клинически неэффективны
- Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов и легко прогнозируется.



Приобретенная устойчивость

- свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции
- Возможны ситуации, когда большая часть микробной популяции проявляет приобретенную устойчивость
- Появление у бактерий приобретенной резистентности не обязательно сопровождается снижением клинической эффективности антибиотика
- Формирование резистентности во всех случаях обусловлено генетически: приобретением новой генетической информации или изменением уровня экспрессии собственных генов.

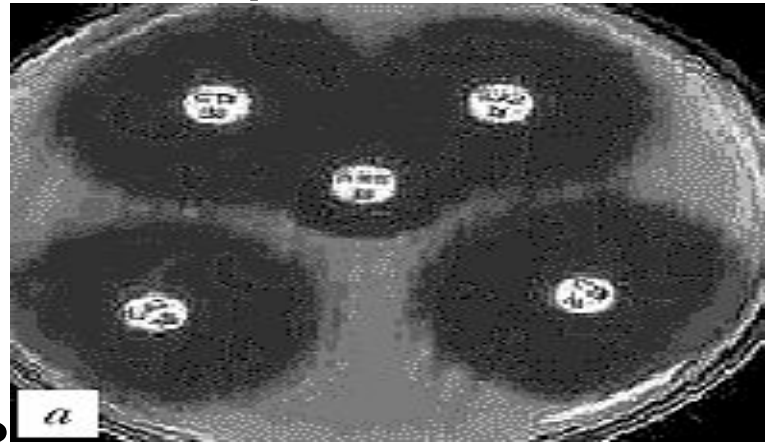


механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам

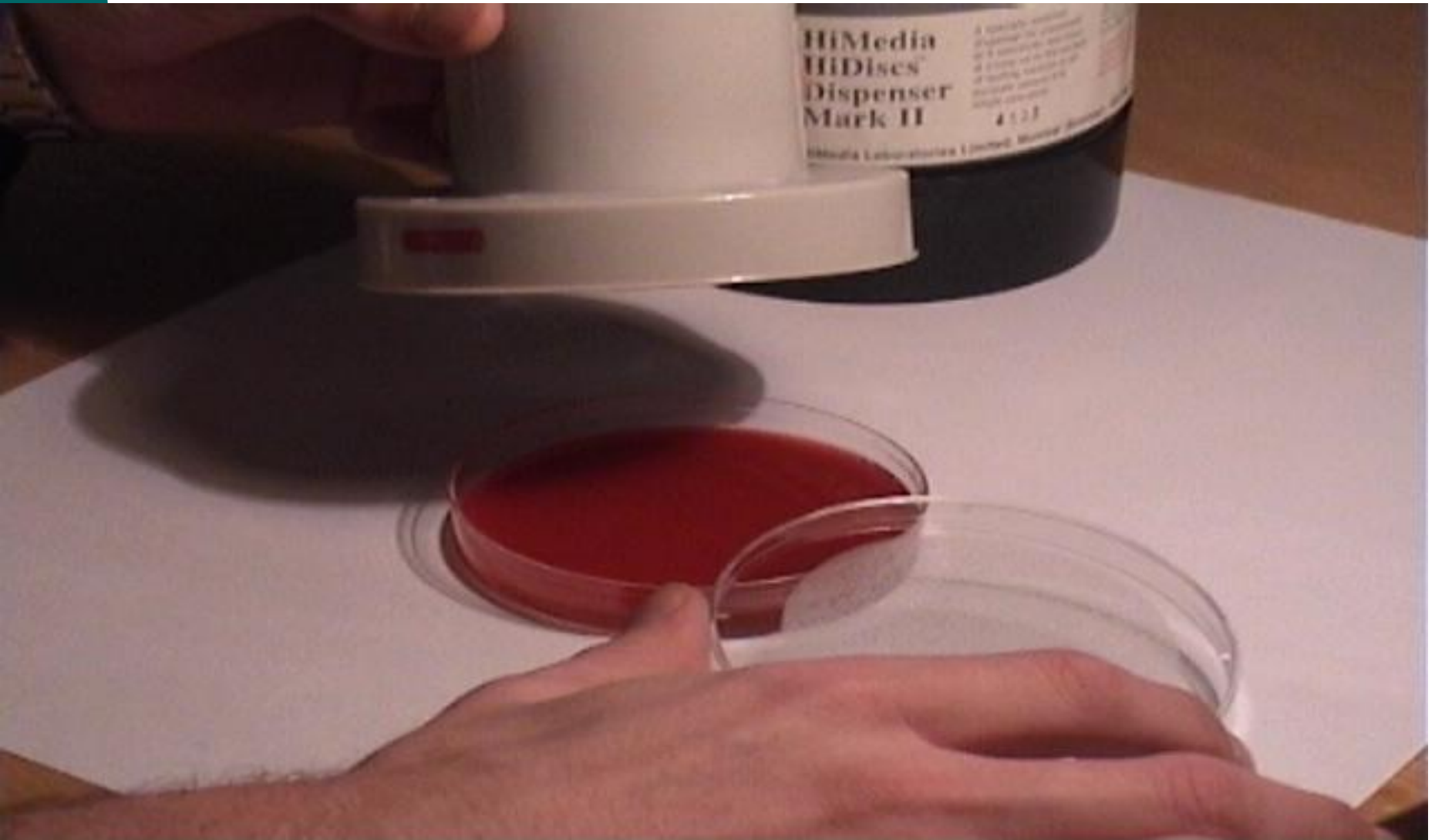
1. Модификация мишени действия.
2. Инактивация антибиотика.
3. Активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс).
4. Нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки.
5. Формирование метаболического "шунта".

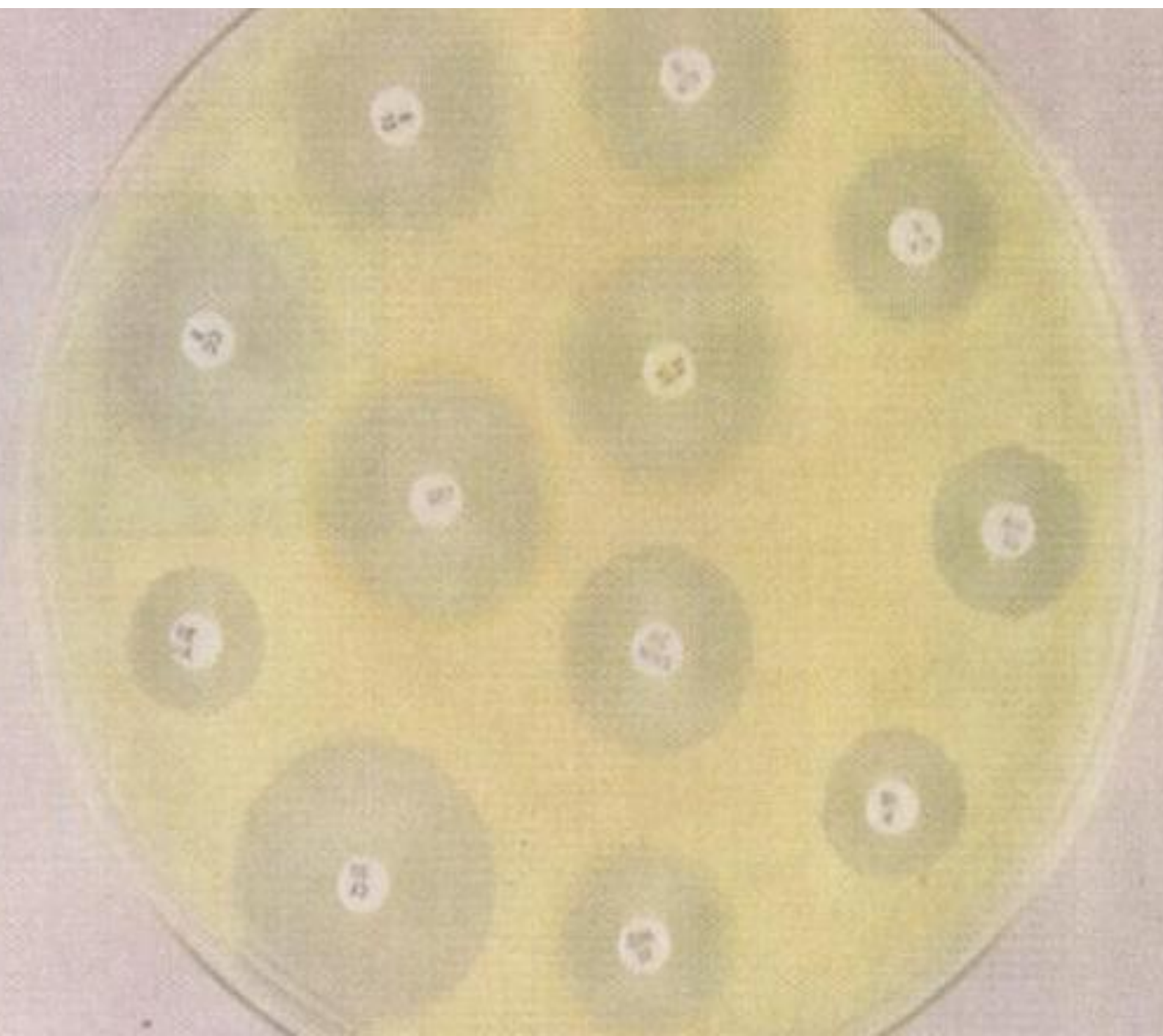
Методы оценки а/б чувствительности

- Диско-диффузионный (качественный/полуколичественный)
-
- серийных разведений (количественный)



Автодиспенсер для нанесения ДИСКОВ.

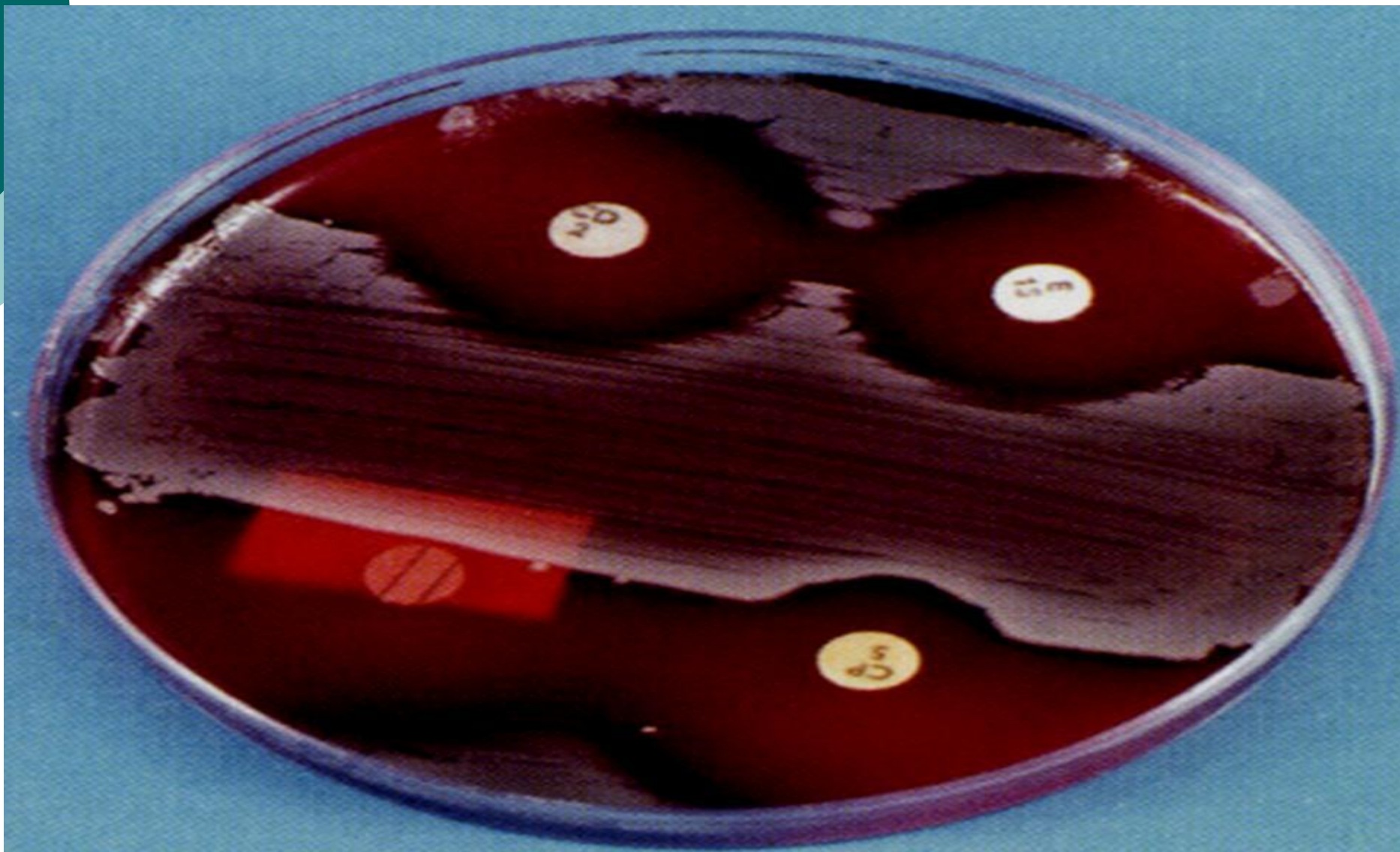




диск1. Антибиотикограмма, способ диск1.

- Бактериологический метод на этапе изучения чисой культуры;
- 2. Применен диффузный способ определения чувствительности к дискам с антибиотикам на плотной среде АГВ;
- 3. Этап исследования определяется по размерам зоны задержки роста культуры или ее отсутствию;
- 4. Для подтверждения диагноза необходимо-определить минимальную подавляющую концентрацию препаратов (МПК), определить чувствительность к лекарственным препаратам с помощью ПЦР;
- 5. Основные формы и механизмы резистентности: модификационная и генетические формы; механизмы связаны с изменчивостью бактерий.

ДИСКО-ДИФФУЗНЫЙ МЕТОД



Возбудители внебольничных инфекций

- *Staphylococcus* spp. - устойчивость к природным и полусинтетическим пенициллинам spp. - устойчивость к природным и полусинтетическим пенициллинам, связанная с продукцией b-лактамаз.

Возбудители внебольничных инфекций

- *S. pneumoniae* - устойчивость различного уровня к пенициллину - устойчивость различного уровня к пенициллину (часть штаммов устойчива к цефалоспорином III поколения - устойчивость различного уровня к пенициллину (часть штаммов устойчива к цефалоспорином III поколения), связанная с модификацией ПСБ - устойчивость различного уровня к

Возбудители внебольничных инфекций

- *H.influenzae*, *M.catarrhalis* - устойчивость к полусинтетическим пенициллинам - устойчивость к полусинтетическим пенициллинам, связанная с продукцией b-лактамаз.

Возбудители внебольничных инфекций

- *N. gonorrhoeae* - устойчивость к пенициллинам - устойчивость к пенициллинам, связанная с продукцией b-лактамаз - устойчивость к пенициллинам, связанная с продукцией b-лактамаз, устойчивость к тетрациклинам - устойчивость к пенициллинам, связанная с продукцией b-лактамаз, устойчивость к тетрациклинам,

Возбудители внебольничных инфекций

- *Salmonella* spp. - устойчивость к ампициллину spp. - устойчивость к ампициллину, ко-тримоксазолу spp. - устойчивость к ампициллину, ко-тримоксазолу, хлорамфениколу spp. - устойчивость к ампициллину, ко-тримоксазолу, хлорамфениколу. Появление устойчивости к цефалоспорином III поколения spp. - устойчивость к ампициллину, ко-тримоксазолу, хлорамфениколу. Появление

Возбудители нозокомиальных инфекций

- *Enterobacteriaceae* - продукция БЛРС (чаще всего среди *Klebsiella* spp.), обуславливающая клиническую неэффективность всех цефалоспоринов spp.), обуславливающая клиническую неэффективность всех цефалоспоринов; очень высокая частота ассоциированной устойчивости к гентамицину spp.), обуславливающая клиническую неэффективность всех цефалоспоринов; очень высокая частота ассоциированной устойчивости к гентамицину/тобрамицину spp.),

Возбудители нозокомиальных инфекций

- *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *S. maltophilia* - ассоциированная устойчивость к цефалоспорином - ассоциированная устойчивость к цефалоспорином, аминогликозидам - ассоциированная устойчивость к цефалоспорином, аминогликозидам, фторхинолонам - ассоциированная устойчивость к

Возбудители нозокомиальных инфекций

- *Enterococcus* spp. - ассоциация устойчивости к пеницилинам spp. - ассоциация устойчивости к пеницилинам, высокого уровня устойчивости к аминогликозидам spp. - ассоциация устойчивости к пеницилинам, высокого уровня устойчивости к аминогликозидам, фторхинолонам spp. - ассоциация устойчивости к пеницилинам, высокого уровня устойчивости к аминогликозидам, фторхинолонам и гликопептидам.
- *Staphylococcus* spp.
(метициллинрезистентные spp.)

Метод "двойных дисков"

○ **Принцип**

Метод "двойных дисков" представляет собой вариант классического дискодиффузионного метода определения чувствительности, который позволяет обнаружить продукцию БЛРС по наличию расширенной зоны подавления роста вокруг диска с цефалоспорином III поколения напротив диска, содержащего клавулановую кислоту (синергизм отмечается в участке пересечения зон диффузии двух дисков, расположенных на небольшом расстоянии друг от друга).

Метод "двойных дисков"

Материалы

- 1. Стерильный физиологический раствор.
- 2. Стерильные пробирки, пипетки, чашки Петри.
- 3. Стандарт мутности 0,5 по МакФарланду (эквивалент $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл).
- 4. Агар Мюллера–Хинтона.

Метод "двойных дисков"

- 5. Диски с антибиотиками: азтреонам (30 мкг), цефотаксим (30 мкг), цефтазидим (30 мкг), цефтриаксон (30 мкг), цефепим (30 мкг), цефпиром (30 мкг), амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг).
- 6. Термостат.
- 7. Контрольные штаммы:
 - *E.coli* ATCC® 25922 – отрицательный контроль (БЛРС–);
 - *K.pneumoniae* ATCC® 700603 – положительный контроль (БЛРС+).
- 8. Суточные культуры исследуемых микроорганизмов.

Метод "двойных дисков"

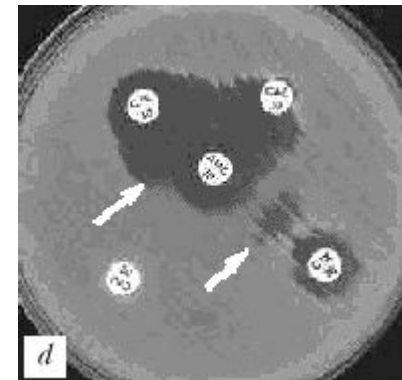
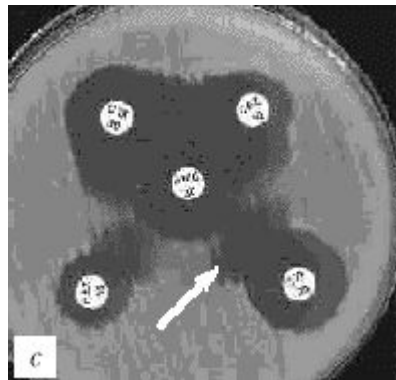
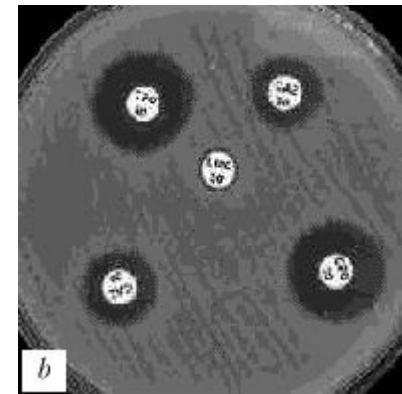
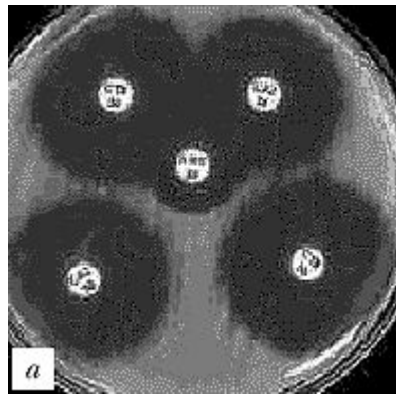
Постановка теста

- Для приготовления инокулюма используют чистую суточную культуру исследуемого микроорганизма, выращенную на агаризованной среде. Несколько колоний стерильным тампоном или петлей переносят в пробирку с 3 мл стерильного физиологического раствора. Взвесь бактериальных клеток доводят до мутности 0,5 по МакФарланду и наносят стерильным ватным тампоном на поверхность агара Мюллера–Хинтона в трех различных направлениях.
- Через 5–10 мин после инокулирования на подсохшую поверхность агара накладывают диски с антибиотиками: в центр – диск, содержащий клавулановую кислоту, обычно в виде комбинации амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг), по бокам от него на расстоянии 20 и 30 мм между центрами дисков – диски с цефтазидимом (30 мкг) и цефотаксимом (30 мкг).

Метод "двойных дисков"

- Использование двух дисков каждого антибиотика, расположенных на разном расстоянии от диска с клавулановой кислотой, позволяет повысить эффективность обнаружения БЛРС ([рис. 1](#)).
- Чашки инкубируют в термостате при температуре 35°C в течение 18–20 ч.
- Параллельно с анализом испытуемых культур исследуют контрольные штаммы.

Метод "двойных дисков"



Выявление продукции БЛРС с помощью метода "двойных дисков".

Отрицательные результаты (БЛРС-): а - *E. coli* (TEM-1), б - *E. cloacae* (гиперпродукция AmpC).

Положительные результаты (БЛРС+): с - *K. pneumoniae* (SHV-2); д - *K. pneumoniae* (SHV-5).

Обозначения дисков: AMC - амоксициллин/клавулановая кислота (20/10 мкг), CAZ - цефтазидим (30 мкг).



Метод "двойных дисков"

***Учет и интерпретация
результатов***

Метод "двойных дисков"

- Расширение зоны подавления роста между одним или несколькими дисками с оксиимино- β -лактамами и диском, содержащим клавулановую кислоту, указывает на наличие БЛРС ([рис. 1](#), [с](#) и [d](#)).
- Независимо от абсолютных значений диаметров зон подавления роста штаммы, продуцирующие БЛРС, рассматриваются как устойчивые ко всем [пенициллинам](#) Независимо от абсолютных значений диаметров зон подавления роста штаммы, продуцирующие БЛРС, рассматриваются как устойчивые ко всем пенициллинам, [цефалоспорином](#) Независимо от абсолютных значений диаметров зон подавления роста штаммы, продуцирующие БЛРС, рассматриваются как устойчивые ко всем пенициллинам, цефалоспорином (за

Е-тест

- Е-тесты, выпускаемые компанией АВ BIODISK (Швеция), представляют собой пластиковые полоски, на внутренней (обращенной к агару) стороне которых нанесен антибиотик в заданном градиенте концентрации, а на внешней стороне – шкала соответствующих значений МПК.

Е-тест

- Е-тесты, используемые для выявления БЛРС, содержат на противоположных концах полоски два убывающих по направлению к центру градиента концентрации: цефтазидима (диапазон МПК – 0,5–32 мг/л) и комбинации цефтазидима (диапазон МПК – 0,125–8 мг/л) с клавулановой кислотой, нанесенной в фиксированной концентрации (4 мг/л) вдоль градиента ([рис. 2](#)).



Е-тест

- Определение продукции БЛРС с помощью Е-тестов основано на количественном сравнении МПК цефтазидима и цефтазидима/клавулановой кислоты.