***Занятие 15***

**Основы антимикробной терапии. Химиотерапевтические препараты. Антибиотики, получение, классификация и применение. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.**

**Основы химиотерапии**

Лечение инфекционных заболеваний химиотерапевтическими препаратами называется ***химиотерапией***. Так как действие этих препаратов направлено против этиологического фактора, а не симптомов заболевания, которое он вызывает, их называют ***этиотропными препаратами.***

**Пауль Эрлих – основоположник химиотерапии**

**Рецепторная теория П.Эрлиха.** В 1885 году П. Эрлих установил, что влияние химических веществ на болезнетворные микробы обусловлено наличием у них специфических рецепторов. Основываясь на результатах собственных исследований П.Эрлих разработал теорию **«волшебной пули»**  - одного из основных принципов химиотерапии - принципа «уничтожения живого в живом», без причинения вреда организму хозяина при уничтожении возбудителя болезни. Для оценки активности препаратов используемых при химиотерапии используется **химиотерапевтический индекс -** отношение минимальной эффективной дозы лекарственного средства, способной убить возбудитель, к максимальной дозе, переносимой организмом.

**Химиотерапевтические препараты.** В настоящее время известно множество химических соединений, обладающих антимикробной активностью, но только некоторые из них используются в качестве химиотерапевтических препаратов. Выбор препарата для химиотерапии определяет *спектр его активности* и чувствительность к нему микроорганизмов. Препараты со специфической активностью включают *антибактериальные*, *противогрибковые*, *антипротозойные* и *противовирусные* препараты.

**Спектр активности.** В зависимости от *спектра активности* различают препараты узкого и широкого спектра. Препараты *узкого спектра действия* активны в отношении только небольшого количества или грамотрицательных или грамположительных бактерий. Препараты *широкого спектра действия* активны против достаточно большого количества разновидностей бактерий обеих групп

**Тип действия.** По типу действия химиотерапевтические препараты подразделяются на:

* *микробоцидные* (бактерицидные, фунгицидные и т.д.) - губительно действующие на микробы за счет необратимых повреждений;
* *микробостатические* (бактериостатики, фунгистатики и т.д.) - ингибирующие рост и размножение микробов

**Способы получения.** По способу получения различают 2 основные группы антимикробных химиотерапевтических препаратов:

* Синтетические химиопрепараты синтетические аналоги антибиотиков, молекулы которых синтезированы химически
* Антибиотики – биосинтетические (природные) и полусинтетические антибиотики

**Основные группы химиотерапевтических препаратов.**

* **Сульфаниламиды–***ко-тримоксазол (бисептол).* *стрептоцид, сульфадимезин, сульфадиметоксин*
* **Хинолоны –** *налидиксовая кислота (невиграмон)*, *офлоксацин, ципрофлоксацин.норфлоксацин и пр.*
* **Нитроимидазолы -** особенно активны против анаэробных бактерий, а также простейших ***(****метронидазол, орнидазол и пр.).*
* **Имидазолы и триазолы –** противогрибковые препараты, подавляющие синтез ЦПМ *(клотримазол, кетоконазол, миконазол, флуконазол*)
* **Нитрофураны –** применяют как уросептики *(фурозалидон, фурадонин, фурагин)*
* **Оксихинолины –***5-нитроксолин, хинозол, интестопан и др*.)
* **Антиметаболиты** – гидразиды никотиновой кислоты (*изониазид, фтивазид, тубазид и др*.)

**Антибиотики.** Одной из распространенных форм антагонизма является способность микроорганизмов образовывать *антибиотики* ( от греч.*anti*, *bios* – против жизни). Низкие концентрации этих веществ оказывают повреждающее или губительное действие на другие микроорганизмы. Термин «*антибиотик»*  был предложен Ваксманом в 1942 г. для обозначения *природных веществ, продуцируемых микроорганизмами и способствующих подавлению роста или гибели определенных бактерий*

**Получение антибиотиков.** При оптимальных условиях культивирования микробы-продуценты выделяют антибиотики в процессе своей жизнедеятельности. В некоторых случаях антибиотики получают путем полусинтеза или синтеза. Поэтому существует три способа получения антибиотиков:

* *Биологический синтез*
* *Биосинтез с последующими химическими модификациями*
* *Химический синтез*

 **Классификация антибиотиков по источникам происхождения.**

***Антибиотики микробного происхождения***:

 - типичные бактерии – эубактерии, бациллы, псевдомонады (полимиксин, грамицидин и др.);

 - актиномицеты (стрептомицин, тетрациклин, хлорамфеникол и др.);

 - плесневые грибы (пенициллины, цефалоспорины и др. );

* ***Антибиотики растительного происхождения*** (фитонциды)
* ***Антибиотики животного происхождения (***лизоцим, интерферон и др.)

**Классификация антибиотиков.**

**По химической структуре:**

* **Бета-лактамные антибиотики** (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы)
* **Макролиды** (эритромицин, спирамицин, кларитромицин )
* **Азалиды** (азитромицин)
* **Тетрациклины** (тетрациклин, доксициклин)
* **Аминогликозиды** (стрептомицин, канамицин, гентамицин)
* **Левомицетин** (хлорамфеникол)
* **Гликопептиды** (ванкомицин )
* **Рифамицины** (рифампицин)
* **Циклические полипетиды (**pоlimiкsinlər, bаsitrаsinlər)
* **Полиены** (нистатин, леворин, амфотерицин B и др.)

 **Механизм антимикробного действия антибиотиков.**

* **Ингибиторы синтеза клеточной стенки -** Бета-лактамные антибиотики (пенициллины и цефалоспорины), гликопептиды (ванкомицин и тейкопланин)
* **Ингибиторы синтеза белка** аминогликозиды и тетрациклины связываясь с 30S-субъединицей рибосом; макролиды, хлорамфеникол и линкозамиды - с 50S-субъединицей рибосом нарушают синтез белка в бактериальной клетке.
* **Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот –** рифамицины (рифампицин) связываясь с РНК-полимеразой блокируют синтез мРНК
* **Ингибиторы проницаемости цитоплазматической мембраны (мембранотропные антибиотики)** – полипептиды (полимиксины), полиеновые антибиотики (нистатин, леворин, амфотерицин В и др.).

 **Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам и ее механизмы.**

Резистентность к антибиотикам может быть природной (естественной) и приобретенной

* **Природная устойчивость** микроорганизмов связана с отсутствием мишеней на клеточной стенке, либо ее непроницаемостью для определенных лекарственных средств
* **Приобретенная устойчивость**  связана с адаптацией микроорганизмов к условиям окружающей среды и формируется под влиянием антибиотиков

 ***-***Снижение проницаемости клеточной стенки и нарушение транспорта антимикробного препарата к внутриклеточным мишеням

 - Ускорение выхода антимикробного агента из клетки

 - Модификация мишени антимикробного действия

 - Инактивация антимикробного агента

**Инактивация антимикробного агента.** Относится к основным механизмам лекарственной резистентности. Некоторые бактерии способны продуцировать особые ферменты, которые инактивируют препараты. Н-р, *бета-лактамазы (пенициллиназы)* пенициллинов и цефалоспоринов разрушающие ß-лактамное кольцо с образованием неактивных соединений. Синтез бета-лактамаз детерминируется R-плазмидами

**Генетические основы антибиотикоустойчивости.** Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности. Плазмиды, содержащие гены резистентности называются *R-плазмиды* или *R-факторы.* Гены резистентности прежде всего кодируют синтез ферментов ( бета-лактамаза и др.) обуславливающих лекарственную устойчивость. Антибиотики не индуцируют образование r-генов, они лишь способствуют *селекции микробных популяций,* обладающих такими генами

В обеспечении устойчивости микроорганизмов к антибиотикам определенная роль принадлежит ***мутациям,*** возникающим в микробной популяции. Ряд штаммов *S.аurеus* вырабатывает устойчивость к метициллину, обусловленную мутацией в генах, в результате кодируется синтез пенициллинсвязывающего белка не способного связываться с бета-лактамными антибиотиками. И поэтому все ***метициллинустойчивые штаммы золотистого стафилококка*** (***MRSА)*** оказываются устойчивыми к бета-лактамным антибиотикам.

**Пути преодоления антибиотикорезистентности.**

* рациональное использование антимикробных препаратов
* синтез новых антибиотиков
* комбинирование антибиотиков с ***ингибиторами фермента бета-лактамазы ( сульбактам и клавулановая кислота):***

 - Эти вещества содержат в составе бета-лактамное кольцо и способны связываться и нейтрализовать бета-лактамазы бактерий, в результате предотвращается действие этого фермента на бета-лактамные антибиотики

 - В медицинской практике широко применяются комбинированные препараты ампициллина и сульбактама (ампицид и пр.), амоксициллина и клавулановой кислоты ( аугментин, амоксиклав и пр.)

* Одним из путей предотвращения развития резистентности к антибиотикам является ***определение чувствительности*** микроорганизмов к антибиотикам учитываемое при терапии. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам проводят качественным и количественным методом.
* ***Качественный метод -*** метод диффузии в агар (метод Кирби-Бауэра)
* ***Каличественный метод -*** определение минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций антибиотиков

**Качественный метод.**

***Диско-диффузионный метод.*** На плотную питательную среду засевают исследуемую культуру, затем вносят бумажные диски, пропитанные антибиотиками. На чашку Петри диаметром 90 мм обычно помещают не более 6 бумажных дисков. Оценка чувствительности к антибиотикам проводится на основании роста бактерий вокруг дисков после суточного инкубирования образца в оптимальных условиях культивирования. При наличии чувствительности к антибиотику наблюдается появление стерильных зон различного диаметра (отсутствие роста) вокруг дисков на питательной среде. Величина стерильной зоны показывает степень чувствительности микроорганизмов к антибиотикам

**Стандартные подходы к определению чувствительности к антибиотикам.**

Существуют стандартные подходы к определению чувствительности к антибиотикам. Одним из них является стандарт EUCAST (Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам). При определении чувствительности к антибиотикам необходимо соблюдать принципы EUCAST, которые включают: концентрацию антибиотика на бумажном диске, состав используемых питательных сред, оценку диаметра стерильной зоны, и необходимость определения чувствительности к антибиотикам (***селективная антибиотикограмма***) для каждого микроорганизма.\*Принципы EUCAST периодически обновляются

**Количественный метод.**

***Количественный метод*** позволяет определять минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) антибиотика

Принцип метода основан на задержке роста микроорганизмов в питательных средах при добавлении в них определенных концентраций антибиотиков.

* Критериями активности препаратов выступают ***минимальная ингибирующая концентрация (МИК) -*** наименьшая концентрация препарата, тормозящая рост микроорганизмов и  ***минимальная бактерицидная концентрация (МБК)* -** наименьшая концентрация препарата, вызывающая гибель микроорганизмов.
* Эти значения обычно выражаются в микрограммах (мкг / мл) на 1 мл. Для некоторых антибиотиков эти значения выражены в ***единицах действия*** (ЕД). Единицей действия антибиотика является наименьшая его доза, которая останавливает рост микроорганизма. Для большинства антибиотиков 1 ЕД примерно равна 1 мкг.

**Метод серийных разведений.** Метод серийных разведений в жидких средах позволяет установить МИК препарата для возбудителя. Н-р, с целью определения МИК тетрациклина для культуры *Staphylococcus aureus* в пробирках с питательным бульоном готовят двойные разведения бактерицидных концентраций этого антибиотика. Концентрацию антибиотика уменьшают соответственно от 1-ой к пробирке ко 2-ой и т.д. переливая каждый раз по 1 мл из предыдущей пробирки, конечный объем среды в каждой пробирке составляет 1 мл.

**Эпсилометрический метод(E-тест).** Для Е-теста используют полоску фильтровальной бумаги пропитанную различными концентрациями препарата (128, 64, 32, 16, 8, 4, ..., мкг/мл). Е-тест полоски наносят на чашку Петри, засеянную тест культурой таким образом, чтобы участок с наименьшей концентрацией располагался ближе к центру, а участок с наибольшей концентрацией – ближе к периферии. После инкубации вокруг полоски образуется эллипсовидная стерильная зона, форма которой обусловлена действием сразу разных концентраций препарата на чувствительные бактерии. МИК соответствует участок полоски, где ее пересекает граница зоны задержки роста.

 **Механизмы антибиотикорезистентности.** Одним из механизмов формирования резистентности микроорганизмов к антимикробным к препаратам является продукция ферментов, инактивирующих молекулу антибиотика. К таким ферментам можно отнести *бета-лактамазу,* разрушающую бета-лактамное кольцо антибиотиков. Продукция таких ферментов кодируется генами плазмид микроорганизмов. В последнее время растет число микроорганизмов, продуцирующих *бета-лактамазы широко спектра (БЛШС),* которые обуславливают разрушение антибиотиков, устойчивых к действию обычных бета-лактамаз.

 ***Определение синтеза бета-лактамаз широко спектра (БЛШС) (фенотипический тест).***

На поверхность инокулированной твердой среды наносят диск с бета-лактамным антибиотиком (н-р, цефепимом), и диск, содержащий ингибитор бета-лактамазы и антибиотик (н-р, амоксициллин + клавулановая кислота). Оценка результатов проводится после суточной инкубации чашки со средой. В случае синтеза БЛШС бактериями стерильная зона вокруг диска с цефепимом распространяется по направлению к диску с амоксиклавом и клавулановой кислотой

**Осложнения антимикробной терапии и пути их предупреждения.**

* **Аллергические реакции**

 - назначение препаратов в соответствии и с индивидуальной чувствительностью пациента

* **Дисбиозы и дисбактериозы**

 - сочетание лечения основного заболевания с противогрибковой терапией.

 - применение пробиотиков,

 - использование по возможности препаратов узкого спектра действия

* **Токсическое действие**

 - принимать во внимание противопоказания и побочные эффекты

 **Принципы химиотерапии вирусных инфекций.**

По характеру действия и клинической значимости препараты, применяемые для лечения вирусных инфекций подразделяют на группы:

* Этиотропные препараты (противовирусные);
* Патогенетические препараты (влияющие на механизмы развития заболевания);
* Симптоматические препараты ( купирующие сопутствующую симптоматику заболевания)

**Этиотропные препараты.**

* Этиотропные препараты, используемые при лечении вирусных инфекций можно разделить на несколько групп:
* Химиопрепараты
* Интерфероны и индукторы интерферонов

**Противовирусные химиотерапевтические препараты.**

Противовирусные химиотерапевтические препараты – это синтетические лекарственные средства, используемые в основном для этиотропной терапии вирусных инфекций. Механизм их действия заключается ***в избирательном подавлении отдельных этапов репродукции вирусов*** без существенного нарушения жизнедеятельности клеток.

* **Ингибиторы адсорбции вирусов**
* **Ингибиторы депротеинизации вирусов в клетке хозяина** *(амантадин и ремантадин)*
* **Ингибиторы ДНК-полимераз**

 - аналоги нуклеозидов (идоксуридин, видарабин и др.)

 - избирательно действующие в зараженной вирусом клетке

 (ацикловир, ганцикловир, фамцикловир, рибавирин, фоскарнет и др.)

* **Ингибиторы обратной транскриптазы** – азидотимидин (зидовудин), залцитабин, ламивудин и др.
* **Ингибиторы вирусных протеаз** (саквинавир, ритонавир и др.)
* **Ингибиторы синтеза поздних вирусных белков** (марборан и метисазон )

**Интерфероны.** Интерфероны были открыты в 1957 г. Айзексом и Линдеманом как факторы, определяющие феномен ***интерференции вирусов*** - явления невосприимчивости, возникшей при первом контакте с вирусом, к повторному заражению другими вирусами.Интерферон – гликолипид с молекулярной массой 15-70 кД, синтезируемый клетками иммунной системы и соединительной ткани**.** В зависимости от клеток продуцентов различают несколько типов интерферонов:

**Интерфероны**

* **Альфа-интерферон -** (лейкоцитарный) вырабатывается лейкоцитами;
* **Бета-интерферон** - (фибробластный) синтезируется клетками соединительной ткани

 (фибробластами);

* **Гамма-интерферон** – (иммунный), продукт стимулированных Т-лимфоцитов, макрофагов и NK-клеток

**Механизм действия интерферона.** Противовирусное действие интерферона реализуется не внутри клетки, а посредством его взаимодействия с рецепторами вирусинфицированной клетки и последующей блокадой репродукции подавлением *синтеза вирусных белков*. Помимо антивирусной активности интерфероны также оказывают антипролиферативное (задерживает размножение опухолевых клеток) и иммунорегуляторное действие (стимуляция функций макрофагов, ЕК, выработки антител, образования комплемента, ИЛ-1 и ИЛ-2, экспрессии антигенов II класса МНС).

**Индукторы интерферона – интерфероногены.** Синтез интерферона индуцируется при заражение клеток вирусами. Синтез интерферона усиливается также под влиянием индукторов интерферона – РНК, ДНК, сложных полимеров и пр. Такие индукторы интерферона получили название *интерфероногенов.* В настоящее время в медицинской практике широко используются синтетические интерфероногены ( циклоферон **и др.)**