

Занятие 8

Химиотерапевтические препараты. Антибиотики: получение, классификация. **Определение чувствительности бактерий к антибиотикам.**

План занятия:

1. Основные принципы химиотерапии.
2. Синтетические химиотерапевтические препараты (сульфаниламиды, производные хинолонов, нитроимидазола, 8-оксихинолина, нитрофурана, имидазола, тиазола).
3. Принципы химиотерапии вирусных инфекций. Антивирусные химиотерапевтические препараты.
4. Антибиотики, их открытие.
5. Источники получения антибиотиков (микроорганизмы, животные и растения)
6. Химический состав антибиотиков.
7. Механизмы действия антибиотиков.
8. Спектр (узкий и широкий) и тип (бактерицидный и бактериостатический) действия антибиотиков.
9. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам методом диск-диффузии.
10. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам методом серийных разведений.
11. Определение единицы действия антибиотиков (ЕД).
12. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам методом эпсилومتрии (Е-тест)
13. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, механизмы приобретения устойчивости и пути ее преодоления
14. Осложнения, развивающиеся в организме после антибиотикотерапии и пути их преодоления.

Основные принципы антимикробной терапии. Основные группы противомикробных препаратов.

Химиотерапевтические противомикробные лекарственные средства — это химические препараты, которые применяют при инфекционных заболеваниях для этиотропного лечения (т.е. направленного на микроб как на причину болезни), а также (редко) для профилактики инфекций.

Химиотерапевтические препараты вводят внутрь организма, поэтому они кроме губительного действия на возбудителей инфекций должны быть нетоксичными для человека и животных, т.е. обладать избирательностью действия. Для осуществления избирательности необходимо, чтобы противомикробный препарат действовал на такую мишень, которая есть у микроба, но отсутствует в клетках макроорганизма. Такие мишени легче подобрать для прокариотов (бактерий), так как у них гораздо больше отличий от клеток хозяина, чем у эукариотических микробов (грибов и простейших). Наиболее отличаются от клеток хозяина вирусы, как не имеющие клеточных структур и собственного метаболизма. Выбрать

мишени для селективного действия противовирусных препаратов оказалось чрезвычайно сложно, так как вирусы — облигатные внутриклеточные паразиты и, следовательно, противовирусные препараты должны осуществлять свое действие внутри клетки хозяина, не принося ей вреда.

По тому, на какие микробы действуют химиотерапевтические препараты, определяют спектр их активности

- препараты, действующие на клеточные формы микроорганизмов (антибактериальные, противогрибковые, противопротозойные). Антибактериальные, в свою очередь, принято подразделять на препараты узкого и широкого спектра действия (препарат узкого спектра действия активен в отношении только небольшого количества разновидностей или грамположительных, или грамотрицательных бактерий, а широкого спектра действия действует на достаточно большое количество разновидностей представителей обеих групп);

- противовирусные химиотерапевтические препараты.

Кроме того, существуют некоторые антимикробные химиотерапевтические лекарственные средства, обладающие также противоопухолевой активностью. По типу действия различают микробоцидные и микростатические химиотерапевтические препараты. К антимикробным химиотерапевтическим средствам относят следующие группы препаратов:

- антибиотики (действуют только на клеточные формы микроорганизмов; также известны противоопухолевые антибиотики);

- синтетические химиотерапевтические препараты разного химического строения (среди них есть препараты, которые действуют или на клеточные, или на неклеточные формы микробов).

Антибиотики

Термин «антибиотик» (от греч. anti, bios — против жизни) был предложен С. Ваксманом в 1942 г. для обозначения природных веществ, продуцируемых микроорганизмами и в низких концентрациях антагонистичных к росту других бактерий. Антибиотики — это химиотерапевтические препараты из химических соединений биологического происхождения (природные), а также их полусинтетические производные и синтетические аналоги, которые в низких концентрациях оказывают избирательное повреждающее или губительное действие на микроорганизмы и опухоли.

Источники и способы получения антибиотиков

Основными источниками получения природных и полусинтетических антибиотиков стали:

- актиномицеты (особенно стрептомицеты) — ветвящиеся бактерии; они синтезируют большинство природных антибиотиков (80%);

- плесневые грибы — синтезируют природные β-лактамы (грибы рода *Cephalosporium* и *Penicillium*) и фузидиевую кислоту;

- типичные бактерии — например, эубактерии, бациллы, псевдомонады — продуцируют бацитрацин, полимиксины и другие вещества, обладающие антибактериальным действием.

Существует три основных способа получения антибиотиков:

1) биологический синтез (так получают природные антибиотики — натуральные продукты ферментации, когда в оптимальных условиях культивируют микробы-продуценты, которые выделяют антибиотики в процессе своей жизнедеятельности);

2) биологический синтез с последующими химическими модификациями (так создают полусинтетические антибиотики). Сначала с помощью биосинтеза получают природный антибиотик, а затем его первоначальную молекулу видоизменяют путем химических модификаций, например присоединяют определенные радикалы, в результате чего улучшаются противомикробные и фармакологические характеристики препарата;

3) химический синтез (так получают синтетические аналоги природных антибиотиков, например хлорамфеникол/левомицетин). Это вещества, которые имеют такую же структуру, как и природный антибиотик, но их молекулы синтезированы химически.

По химической структуре антибиотики сгруппированы в семейства (классы):

- β -лактамы (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы);
- гликопептиды;
- аминогликозиды;
- тетрациклины;
- макролиды (и азалиды);
- линкозамиды;
- левомицетин (хлорамфеникол);
- рифамицины;
- полипептиды;
- полиены;
- разные антибиотики (фузидиевая кислота, фузафунжин и др.).

Бета-лактамы. Основу молекулы составляет β -лактамное кольцо, при разрушении которого препараты теряют свою активность; тип действия — бактерицидный. Антибиотики этой группы подразделяют на пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы.

Гликопептиды (ванкомицин и тейкопланин) — это крупные молекулы, которым трудно пройти через поры грамотрицательных бактерий. Вследствие этого спектр действия ограничивается грамположительными бактериями. Их используют при резистентности или аллергии к β -лактамам, при псевдомембранозном колите, вызываемом *Clostridium difficile*.

Аминогликозиды — соединения, в состав молекулы которых входят аминсахара. Сейчас различают несколько поколений препаратов: 1) стрептомицин, канамицин и др.; 2) гентамицин; 3) сизомицин, тобрамицин и др. Препараты бактерицидны, спектр действия — широкий (особенно активны против грамотрицательных бактерий, действуют на некоторых простейших).

Тетрациклины — семейство крупномолекулярных препаратов, имеющих в своем составе четыре циклических соединения. В настоящее время в основном применяют полусинтетики, например доксициклин. Тип действия — статический. Спектр действия — широкий.

Макролиды (и азалиды) — семейство больших макроциклических молекул. Эритромицин — наиболее известный и широко используемый антибиотик. Более

новые препараты: азитромицин, кларитромицин. Спектр действия — широкий, включая внутриклеточные микроорганизмы. Тип действия — статический.

Линкозамиды (линкомицин и его хлорированный дериват — клиндамицин). Бактериостатики. Клиндамицин особенно активен против анаэробов.

Левомецетин (хлорамфеникол) имеет в составе молекулы нитробенzenовое «ядро», которое делает препарат токсичным для клеток организма человека. Статический тип действия. Спектр действия — широкий, включая внутриклеточных паразитов.

Рифамицины (рифампицин). Тип действия — бактерицидный. Спектр действия — широкий (в том числе внутриклеточные паразиты; очень эффективны против микобактерий).

Полиены (амфотерицин В, нистатин и др.). Противогрибковые препараты, токсичность которых достаточно велика.

К настоящему времени создано много разновидностей антибактериальных, противогрибковых, противопротозойных синтетических химиотерапевтических лекарственных средств разного химического строения. К наиболее значимым группам относятся:

Сульфаниламиды. Основу молекулы этих препаратов составляет парааминогруппа, поэтому они действуют как аналоги и конкурентные антагонисты парааминобензойной кислоты, которая необходима бактериям для синтеза жизненно важной фолиевой (тетрагидрофолиевой) кислоты — предшественника пуриновых и пиримидиновых оснований. Бактериостатики, спектр действия — широкий. Единственным препаратом этой группы, который продолжает достаточно широко использоваться в клинической практике, является ко-тримоксазол и его аналоги.

Хинолоны. Сейчас используют так называемые фторхинолоны, т.е. принципиально новые фторированные соединения. У фторхинолонов (ципрофлоксацин, норфлоксацин и др.) спектр — широкий, тип действия — цидный. Применяют при инфекциях, вызванных грамотрицательными бактериями (в том числе синегнойной палочкой), внутриклеточными паразитами, микобактериями.

Нитроимидазолы (метронидазол, трихопол). Особенно активны против анаэробных бактерий, так как только эти микробы способны активировать метронидазол путем восстановления. Тип действия — цидный, спектр — анаэробные бактерии и простейшие.

Имидазолы (клотримазол и др.). Противогрибковые препараты, действуют на уровне ЦПМ.

Нитрофураны (фуразолидон и др.). Тип действия — цидный, спектр — широкий. Накапливаются в моче в высоких концентрациях. Применяются как уросептики для лечения инфекций МВП.

Оксазолидиноны (линезолид). Тип действия в отношении стафилококков статический, в отношении некоторых других бактерий — цидный, спектр действия — широкий. Обладают активностью против широкого спектра грамположительных бактерий, включая MRSA, PRP и VRE.

Основа избирательности противомикробных химиотерапевтических препаратов состоит в том, что мишени для их воздействия в микробных клетках отличаются от

таковых в клетках макроорганизма. Большинство химиотерапевтических препаратов вмешиваются в метаболизм микробной клетки и обычно не повреждают готовые структуры, поэтому препараты особенно активно воздействуют на микроорганизмы в фазе их активного роста и размножения.

По механизму действия различают следующие группы противомикробных препаратов: ингибиторы синтеза клеточной стенки, ингибиторы синтеза белка, нарушающие синтез и функции нуклеиновых кислот, нарушающие синтез и функции цитоплазматической мембраны.

Классификация антимикробных препаратов по механизму действия

Ингибиторы синтеза клеточной стенки	Ингибиторы синтеза белка	Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот	Ингибиторы функции клеточных мембран
Бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы) Гликопептиды (ванкомицин, тейкопланин) Бацитрацин	Аминогликозиды Тетрациклины Хлорамфеникол Линкозамиды Макролиды Фузидиевая кислота Оксазолидиноны	<i>Ингибиторы синтеза предшественников нуклеиновых кислот</i> Сульфаниламиды Триметоприм <i>Ингибиторы репликации ДНК</i> Хинолоны Нитроимидазолы Нитрофураны <i>Ингибиторы РНК-полимеразы</i> Рифамицины	Полимиксины Полиены Имидазолы

Осложнения при антимикробной химиотерапии

Как и всякие лекарственные средства, практически каждая группа антимикробных химиотерапевтических препаратов может оказывать побочное действие, причем и на макроорганизм, и на микробы, и на другие лекарственные средства.

Осложнения со стороны макроорганизма

Наиболее частыми осложнениями антимикробной химиотерапии со стороны макроорганизма являются: токсическое действие препаратов, дисбиоз, отрицательное воздействие на иммунную систему, эндотоксический шок, взаимодействие с другими препаратами.

Токсическое действие препаратов. Как правило, развитие этого осложнения зависит от свойств самого препарата, его дозы, способа введения, состояния больного и проявляется только при длительном и систематическом применении антимикробных химиотерапевтических препаратов. Особенно часто такие осложнения бывают, когда мишенью действия препарата являются процессы или структуры, близкие по составу или строению к аналогичным структурам клеток макроорганизма. Токсическому действию антимикробных препаратов особенно подвержены дети, беременные, а также пациенты с нарушением функций печени, почек.

Побочное токсическое влияние может проявляться как нейротоксическое (гликопептиды и аминогликозиды); нефротоксическое (полиены, полипептиды, аминогликозиды, макролиды, гликопептиды, сульфаниламиды); общетоксическое

(противогрибковые препараты). Возможно угнетение кроветворения (тетрациклины, сульфаниламиды и левомицетин/хлорамфеникол); тератогенное действие (аминогликозиды, тетрациклины, левомицетин/хлорамфеникол, хинолоны).

Предупреждение осложнений состоит в отказе от противопоказанных данному пациенту препаратов, контроле за состоянием функций печени, почек и т.п.

Дисбиоз (дисбактериоз). Антимикробные химиотерапевтические препараты, особенно широкого спектра, могут воздействовать не только на возбудителей инфекций, но и на чувствительные микроорганизмы нормальной микрофлоры. В результате формируется дисбиоз, поэтому нарушаются функции ЖКТ, возникает авитаминоз и может развиваться вторичная инфекция (в том числе эндогенная, например кандидоз, псевдомембранозный колит, вызванный *C. difficile*).

Отрицательное воздействие на иммунную систему. К этой группе осложнений относят прежде всего аллергические реакции. Причинами развития гиперчувствительности могут быть сам препарат, продукты его распада, а также комплекс препарата с сывороточными белками. Аллергические реакции развиваются примерно в 10% случаев и проявляются в виде сыпи, зуда, крапивницы, отека Квинке. Относительно редко встречается такая тяжелая форма проявления аллергии, как анафилактический шок. Такое осложнение чаще дают β-лактамы (пенициллины), рифамицины, сульфаниламиды

Эндотоксический шок (терапевтический) возникает при лечении инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. Введение антибиотиков вызывает гибель и разрушение клеток и высвобождение больших количеств эндотоксина. Это закономерное явление, которое сопровождается временным ухудшением клинического состояния больного.

Побочное воздействие на микроорганизмы

Применение антимикробных химиотерапевтических препаратов оказывает на микробы не только прямое угнетающее или губительное воздействие, но также может привести к формированию атипичных (например, к образованию L-форм бактерий или изменению других свойств микробов, что затрудняет диагностику инфекционных заболеваний) и персистирующих форм микробов. **Лекарственная устойчивость бактерий**

Резистентность может быть природной и приобретенной.

Природная лекарственная устойчивость бактерий. Некоторые виды микробов природно устойчивы к определенным семействам антибиотиков или в результате отсутствия соответствующей мишени (например, микоплазмы не имеют клеточной стенки, поэтому не чувствительны ко всем препаратам, действующим на этом уровне), или из-за непроницаемости клеточной стенки бактерий для данного препарата (например, грамотрицательные микробы менее проницаемы для крупномолекулярных соединений, чем грамположительные бактерии, так как их наружная мембрана имеет «маленькие» поры).

Приобретенная лекарственная устойчивость бактерий.

Приобретение лекарственной резистентности — это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганизмов к условиям окружающей среды. К противомикробным химиотерапевтическим препаратам

могут стать устойчивыми не только бактерии, но и остальные микробы — от эукариотов (простейших, грибов) до вирусов.

Генетические основы приобретенной резистентности

Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях.

Приобретенная лекарственная устойчивость может возникать и распространяться в популяции бактерий в результате мутаций, переноса трансмиссивных плазмид резистентности, переноса транспозонов, несущих гены резистентности, экспрессии интегронами генных кассет, несущих гены резистентности.

Мутации в хромосоме бактериальной клетки с последующей селекцией (т.е. отбором) мутантов. Особенно легко селекция происходит при наличии антибиотиков, так как в этих условиях мутанты получают преимущество перед остальными клетками популяции, которые чувствительны к препарату. Мутации возникают независимо от применения антибиотика, т.е. сам препарат не влияет на частоту мутаций и не является их причиной, но служит фактором отбора.

Перенос трансмиссивных плазмид резистентности (R-плазмид). Плазмиды резистентности (трансмиссивные) часто кодируют устойчивость сразу к нескольким семействам антибиотиков. Некоторые плазмиды могут передаваться между бактериями разных видов, поэтому один и тот же ген резистентности можно встретить у бактерий, таксономически далеких друг от друга. Н-р, β -лактамаза, кодируемая плазмидой TEM-1, широко распространена у грамотрицательных бактерий и встречается у кишечной палочки и других кишечных бактерий, а также у гонококка, резистентного к пенициллину, и гемофильной палочки, резистентной к ампициллину.

Перенос транспозонов, несущих гены резистентности. Транспозоны могут мигрировать с хромосомы на плазмиду и обратно, а также с плазмиды на другую плазмиду. Таким образом гены резистентности могут передаваться далее дочерним клеткам или при рекомбинациях другим бактериям-реципиентам.

Реализация приобретенной устойчивости

Реализация приобретенной лекарственной устойчивости возможна в результате модификации мишени, «недоступности» мишени и инактивации препарата бактериальными ферментами.

Модификация мишени. Фермент-мишень может быть так изменен, что его функции не нарушаются, но способность связываться с препаратом (аффинность) резко снижается или может быть включен «обходной путь» метаболизма, т.е. в клетке активируется другой фермент, который не подвержен действию данного препарата.

«Недоступность» мишени реализуется за счет снижения проницаемости клеточной стенки и клеточных мембран или эффлюкс-механизма, когда клетка как бы «выталкивает» из себя антибиотик.

Инактивация препарата бактериальными ферментами. Некоторые бактерии способны продуцировать особые ферменты, которые делают препараты неактивными (например, β -лактамазы, хлорамфениколацетилтрансфераза). Гены, кодирующие эти ферменты, широко распространены среди бактерий и могут быть

в составе как хромосомы, так и плазмиды. Для борьбы с инактивирующим действием β -лактамаз используют ингибиторы (например, клавулановую кислоту, сульбактам, тазобактам). Эти вещества содержат в своем составе β -лактамное кольцо и способны связываться с β -лактамазами, предотвращая их разрушительное действие на препарат.

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам (антибиотикограммы) применяют метод диффузии в агар и методы определения минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций.

Метод диффузии в агар. Метод дисков — качественный. Он позволяет оценить, чувствителен или устойчив микроб к препарату.

Методы определения минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций, т.е. минимального уровня антибиотика, который позволяет *in vitro* предотвратить видимый рост микробов в питательной среде или полностью ее стерилизует. Это количественные методы, которые позволяют рассчитать дозу препарата, так как концентрация антибиотика в крови должна быть значительно выше минимальной ингибирующей концентрации для возбудителя инфекции.

Разработаны также ускоренные способы с применением автоматических анализаторов.

Основы рациональной антибиотикотерапии

Профилактика развития осложнений состоит прежде всего в соблюдении принципов рациональной антибиотикотерапии (антимикробной химиотерапии).

Микробиологический принцип. До назначения препарата следует установить возбудителя инфекции и определить его индивидуальную чувствительность к антимикробным химиотерапевтическим средствам. По результатам антибиотикограммы больному назначают препарат узкого спектра действия, обладающий наиболее выраженной активностью в отношении конкретного возбудителя, в дозе, в 2–3 раза превышающей минимальную ингибирующую концентрацию.

Фармакологический принцип. Учитывают особенности препарата — его фармакокинетику и фармакодинамику, распределение в организме, кратность введения, возможность сочетания препаратов и т.п. Дозы препаратов должны быть достаточными для того, чтобы обеспечить в биологических жидкостях и тканях микробостатические или микробоцидные концентрации.

Клинический принцип. При назначении препарата учитывают, насколько безопасным он будет для данного пациента, что зависит от индивидуальных особенностей состояния больного (тяжесть инфекции, иммунный статус, пол, наличие беременности, возраст, состояние функции печени и почек, сопутствующие заболевания и т.п.) При тяжелых, угрожающих жизни инфекциях пациентам назначают комбинации из двух-трех препаратов, чтобы обеспечить максимально широкий спектр действия.

Эпидемиологический принцип. Выбор препарата, особенно для стационарного больного, должен учитывать состояние резистентности микробных штаммов, циркулирующих в данном отделении, стационаре и даже регионе. Следует помнить, что антибиотикорезистентность может не только приобретаться, но и теряться, при этом восстанавливается природная чувствительность микроорганизма к препарату. Не изменяется только природная устойчивость.

Фармацевтический принцип. Необходимо учитывать срок годности и соблюдать правила хранения препарата, так как при нарушении этих правил антибиотик может не только потерять свою активность, но и стать токсичным за счет деградации. Немаловажна также и стоимость препарата.

Противовирусные средства

Среди препаратов, обладающих противовирусной активностью, можно выделить несколько основных групп. По химическому составу и механизмам действия различают: химиотерапевтические препараты, интерфероны, индукторы эндогенных интерферонов, иммуномодуляторы.

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 макроорганизма.

В качестве противовирусных средств сегодня применяют в основном аномальные нуклеозиды (аналоги нуклеозидов), производные адамантана, синтетические аминокислоты, аналоги пирофосфата и тиосемикарбозона, некоторые препараты, имеющие прямое вирулицидное действие на вирионы, находящиеся вне клеток. В настоящее время разработаны противовирусные лекарственные средства, которые угнетают следующие стадии взаимодействия вируса с клеткой: процесс депротеинизации вирусного генома (производные адамантана), синтез «ранних» вирусных белков (гуанидин), синтез нуклеиновых кислот (аналоги нуклеозидов), синтез «поздних» вирусных белков (производные пептидов), сборку вирионов (производные тиосемикарбозона) и др.

Сейчас существует достаточно много средств борьбы с гриппом, ОРВИ и герпесом. При вирусных гепатитах и ВИЧ/СПИДе применяют единичные препараты.