

Занятие 15

**Химиотерапевтические препараты.
Антибиотики, получение и классификация.
Определение чувствительности микробов к
антибиотикам**

Обсуждаемые вопросы:

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

Цель занятия:

- ознакомить студентов с основными принципами химиотерапии, антимикробными лекарственными препаратами (химиотерапевтические препараты и антибиотики). Дать информацию о классификации антибиотиков (по источникам, химической структуре, спектру активности, механизму действия), осложнениях, возникающих при антибиотикотерапии, их предотвращении, возникновении антибиотикорезистентности у микроорганизмов и путях ее преодоления, объяснить важность правильного выбора антибиотиков при терапии (в особенности, учитывая развивающуюся антибиотикорезистентность).

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;
- **микростатические** (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

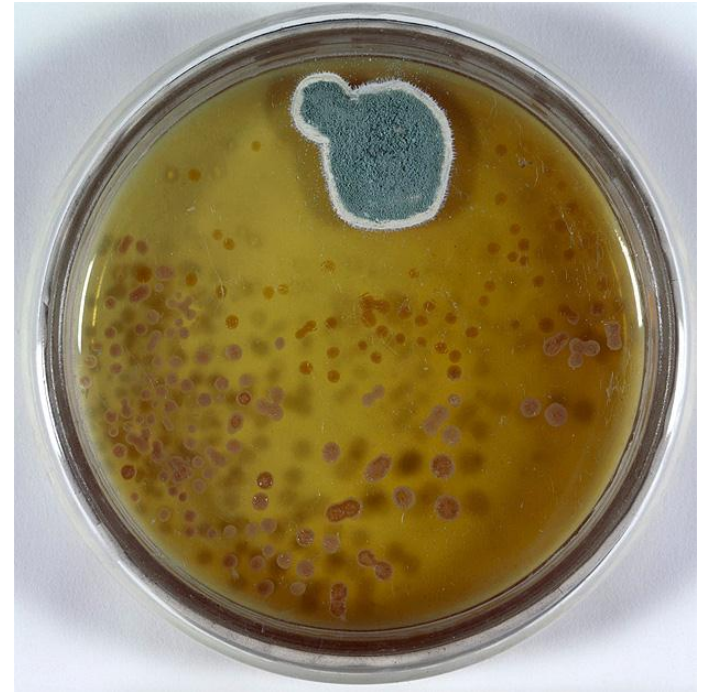
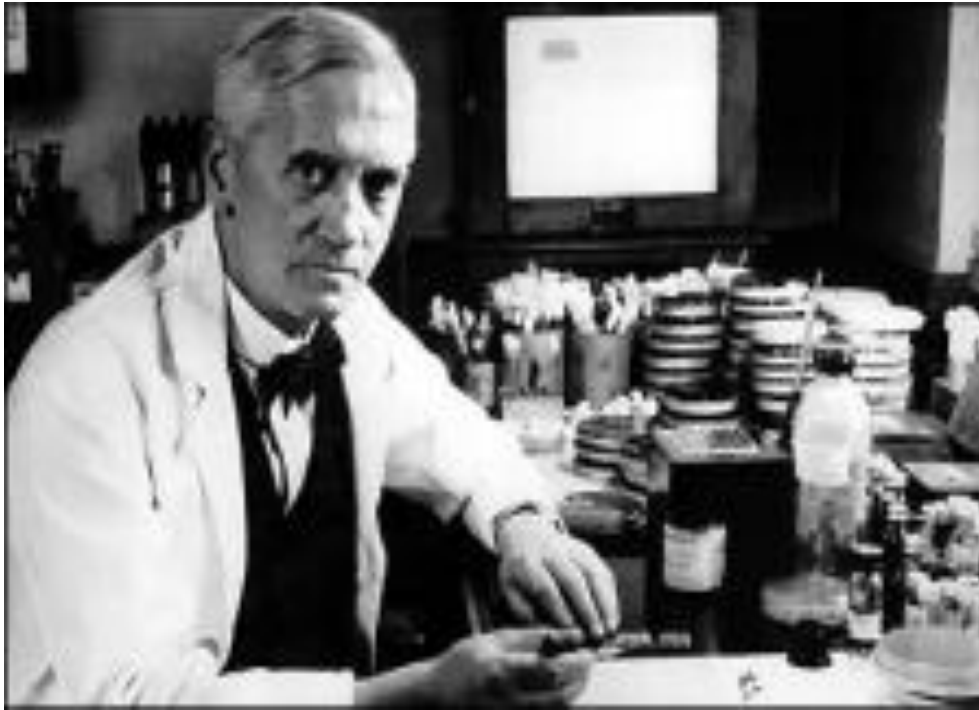
Основные группы химиотерапевтических препаратов

- **Сульфаниламиды–ко-тримоксазол** (бисептол).
стрептоцид, сульфадимезин, сульфадиметоксин
- **Хинолоны** – *налидиксовая кислота (невиграмон), офлоксацин, цiproфлоксацин. 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 (*фуразалидон, 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.**

Открытие антибиотиков



В 1928-1929 гг. английский микробиолог А.Флеминг открыл штамм плесневого гриба (*Penicillium notatum*), выделяющего токсическое вещество, задерживающее рост золотистого стафилококка

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*** (лизозим, интерферон и др.)

Классификация антибиотиков

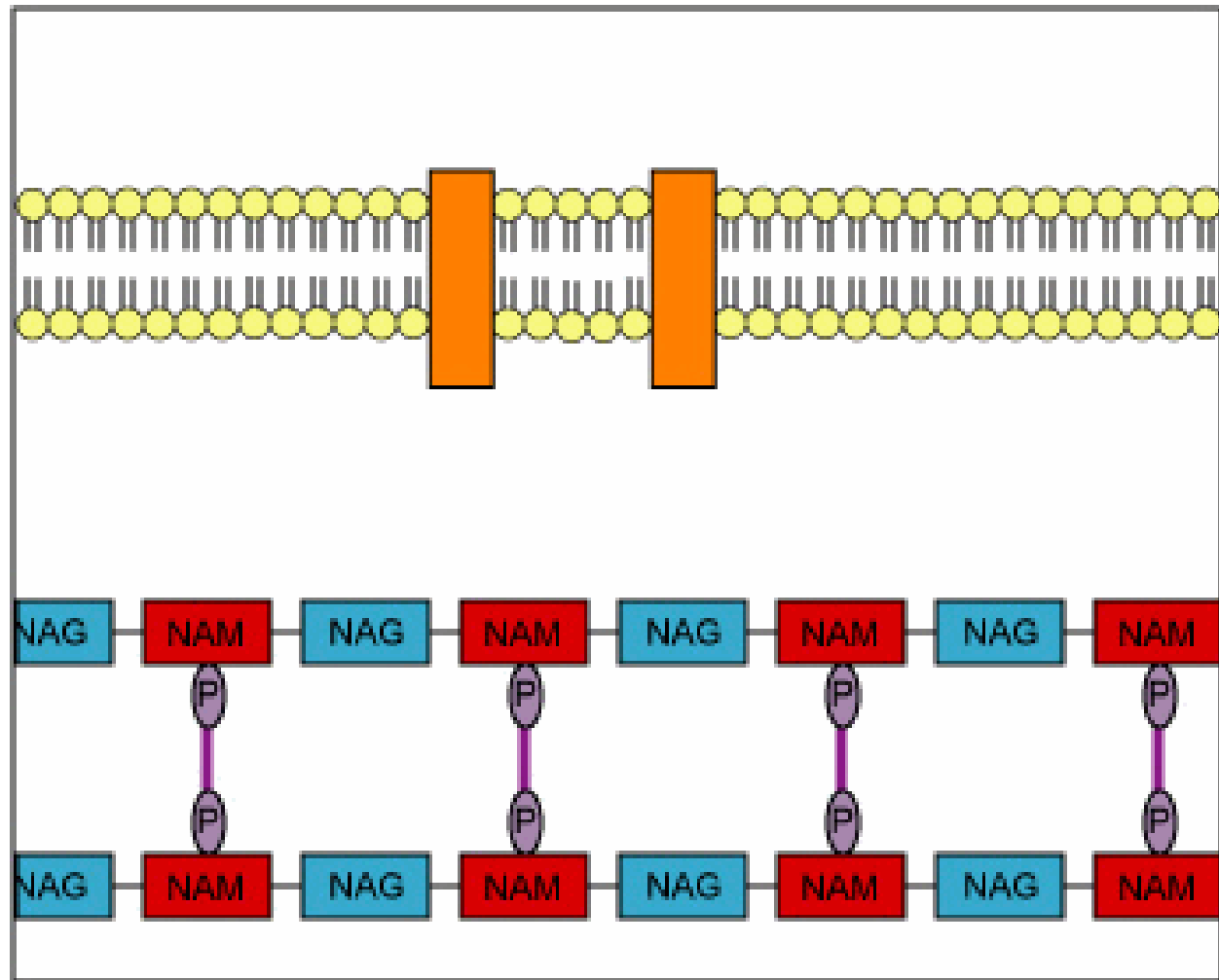
По химической структуре:

- **Бета-лактамы** (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы)
- **Макролиды** (эритромицин, спирамицин, кларитромицин)
- **Азалиды** (азитромицин)
- **Тетрациклины** (тетрациклин, доксициклин)
- **Аминогликозиды** (стрептомицин, канамицин, гентамицин)
- **Левомецетин** (хлорамфеникол)
- **Гликопептиды** (ванкомицин)
- **Рифамицины** (рифампицин)
- **Циклические полипептиды** (polimiksinlər, basitrasinlər)
- **Полиены** (нистатин, леворин, амфотерицин В и др.)

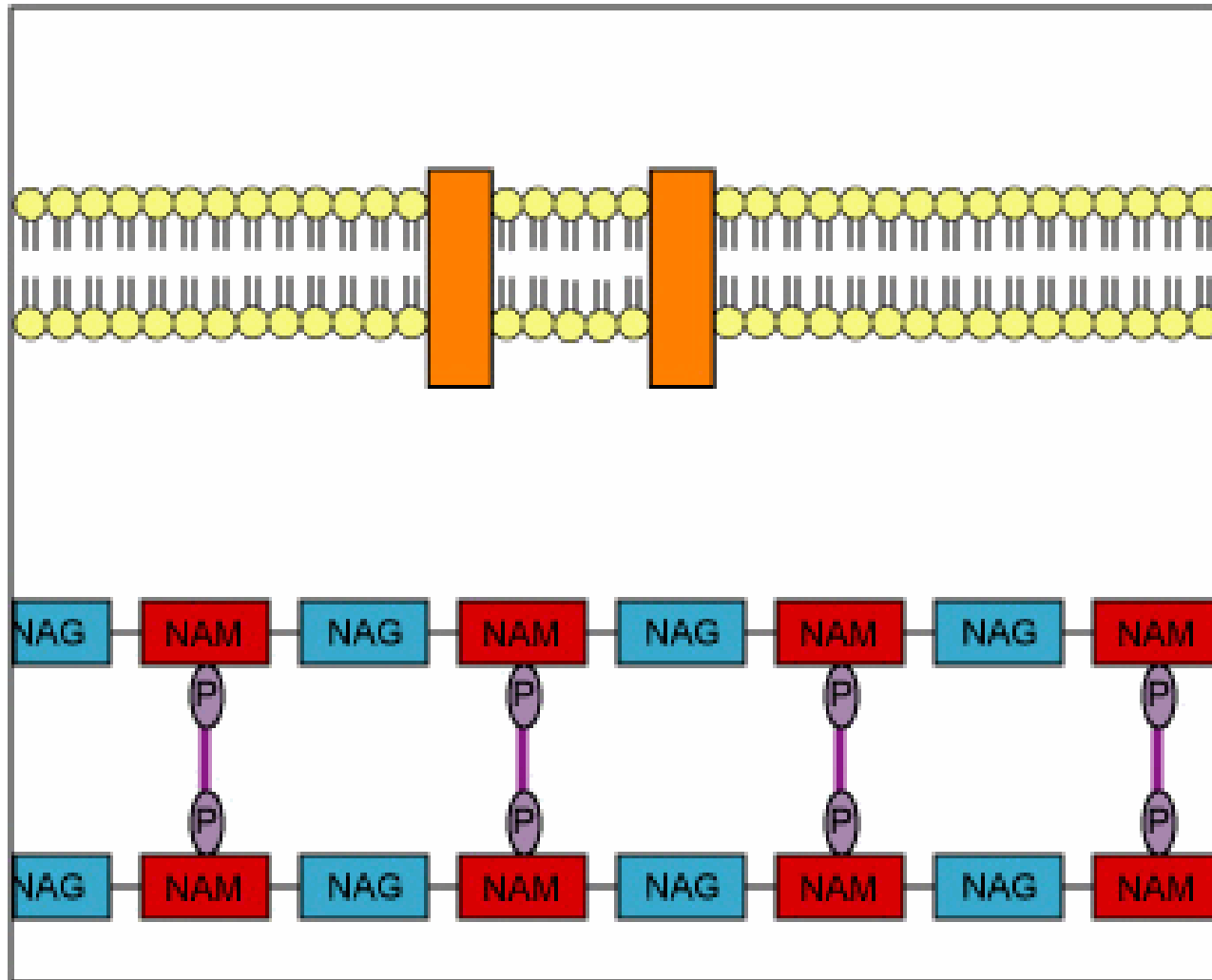
Механизм антимикробного действия антибиотиков

- **Ингибиторы синтеза клеточной стенки** - Бета-лактамы (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.)

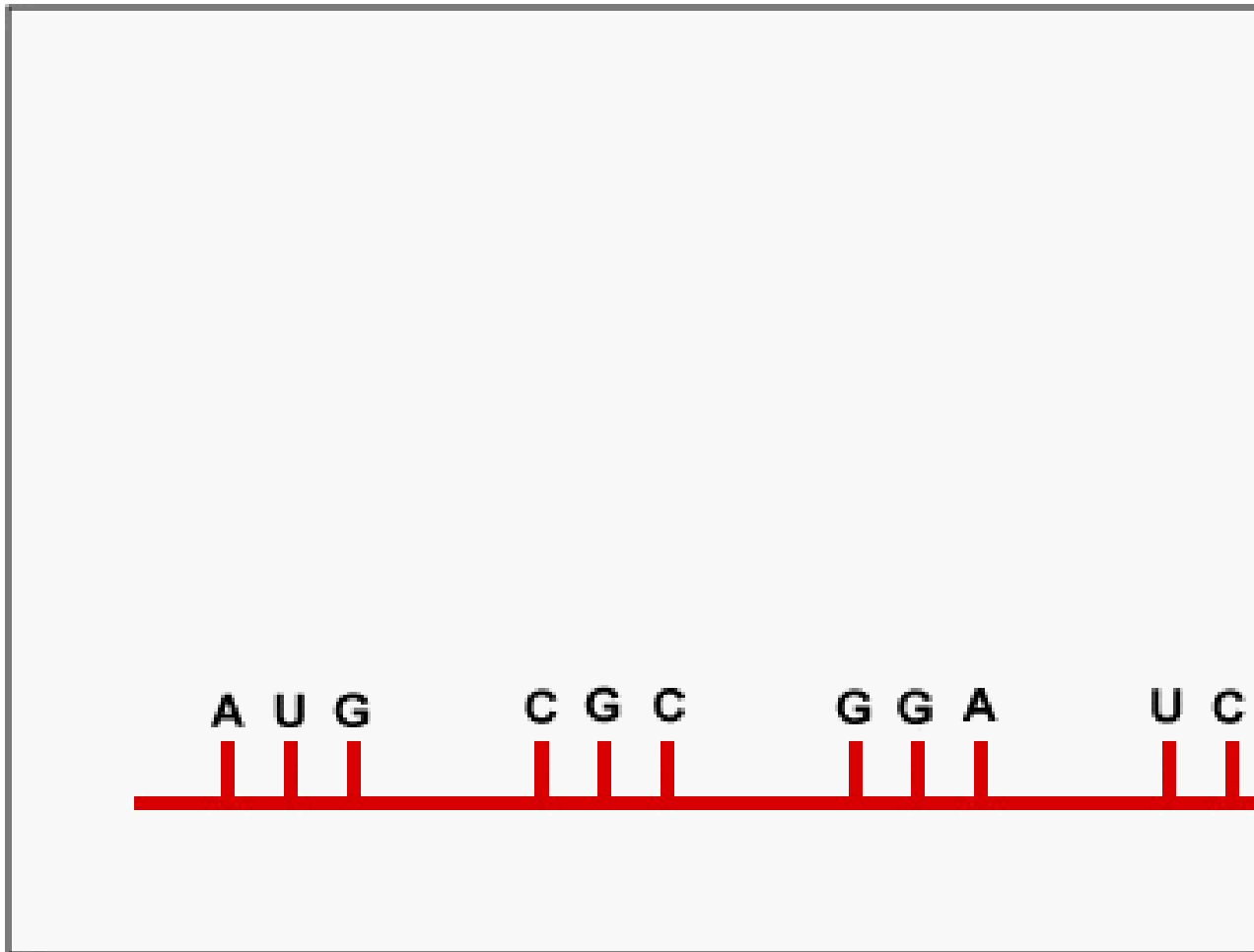
Синтез пептидогликана клеточной стенки



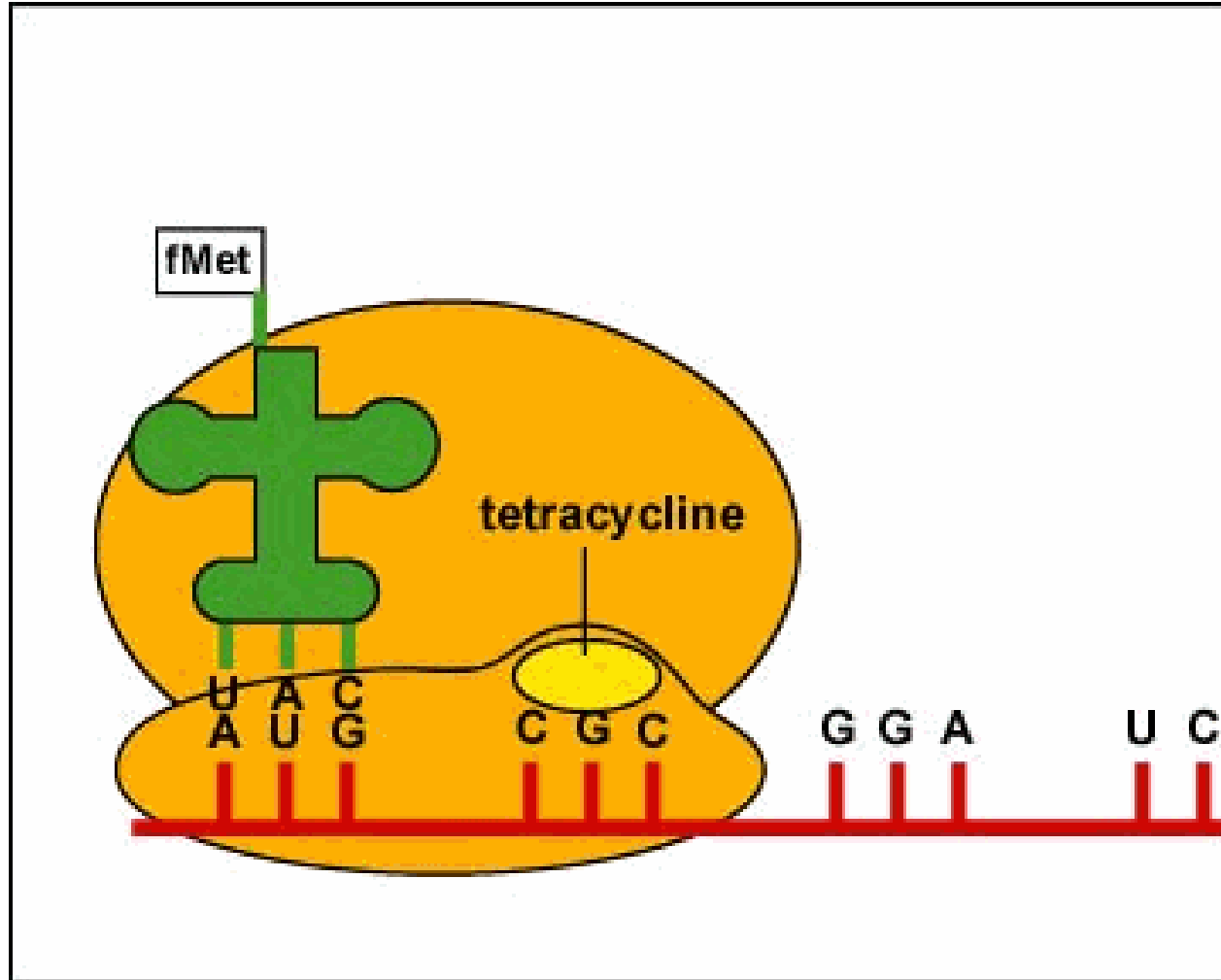
Подавление синтеза пептидогликана клеточной стенки пенициллином



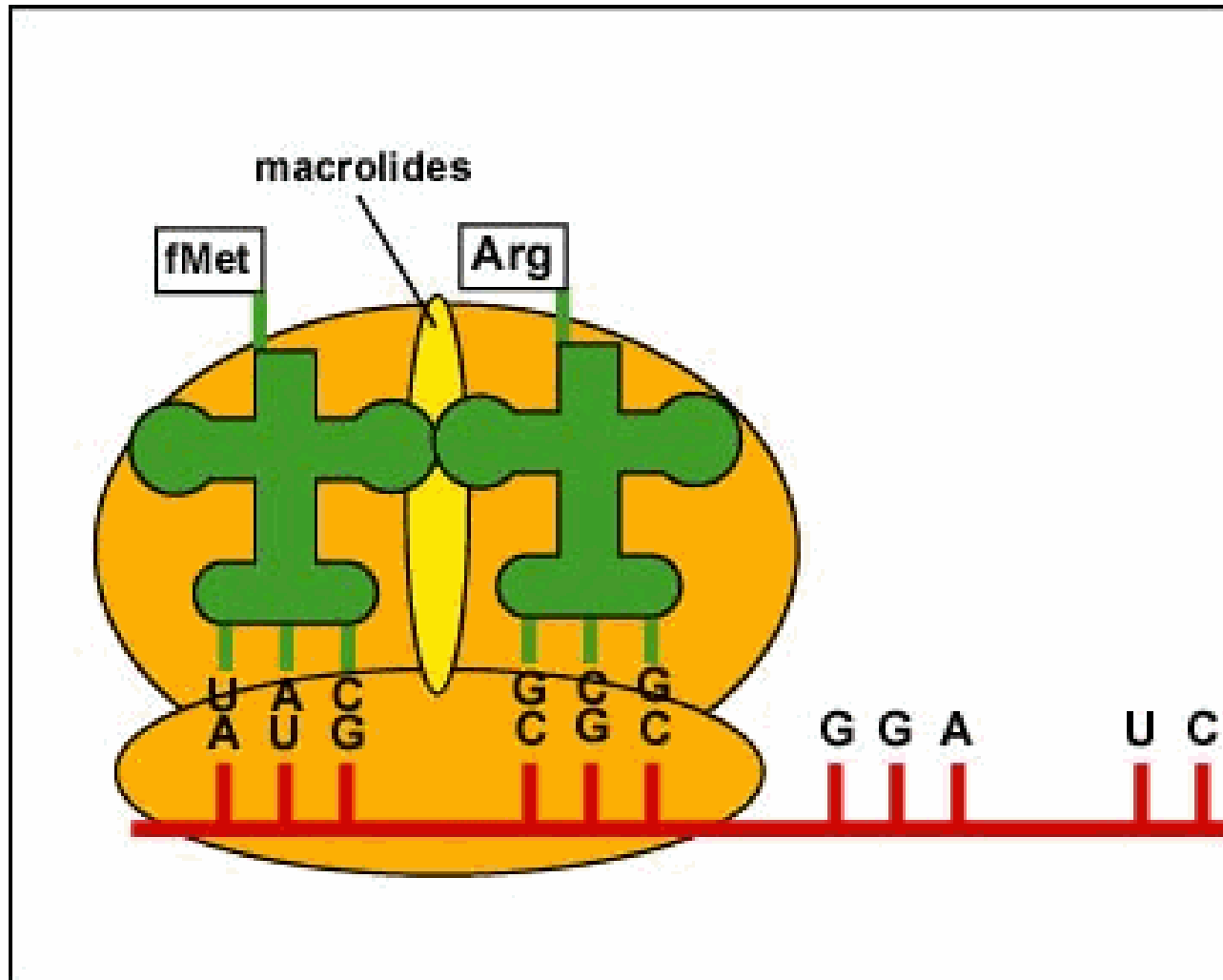
**Аминогликозиды присоединяясь к 30S-субъединице
рибосом ингибируют синтез бактериального белка**



Тетрациклины присоединяясь к 30S-субъединице рибосом ингибируют синтез бактериального белка



Макролиды присоединяясь к 50S-субъединице рибосом ингибируют синтез белка в бактериальной клетке



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

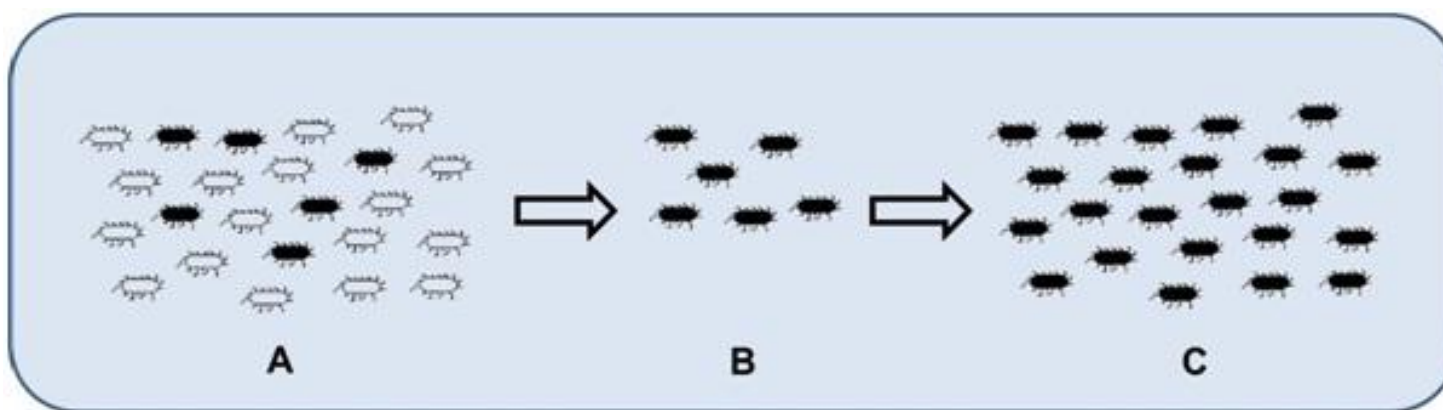
- Инактивация антимикробного агента

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 β -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

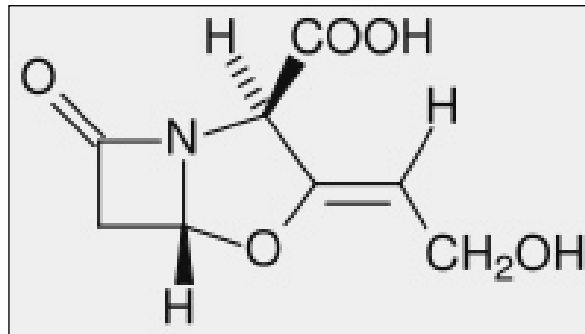


Генетические основы антибиотикоустойчивости

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



Пути преодоления антибиотикорезистентности

- 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)
- **Количественный метод** - определение минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций антибиотиков

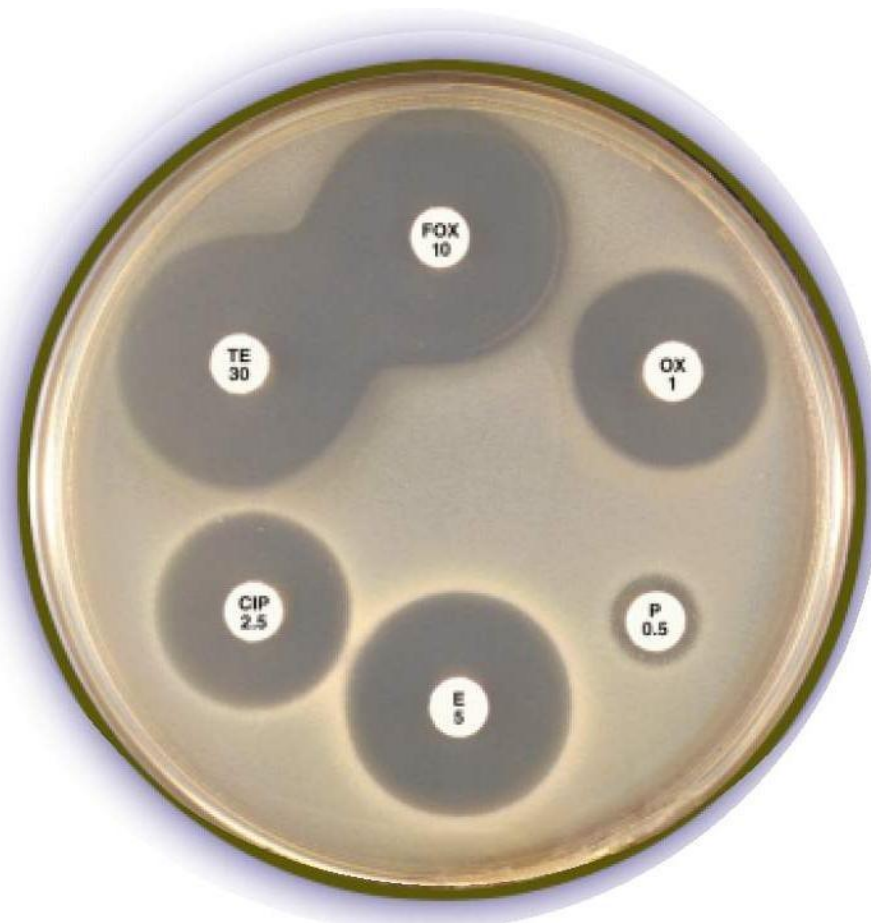
Качественный метод

- **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

Бумажные диски пропитанные антибиотиками



Метод диффузии дисков



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

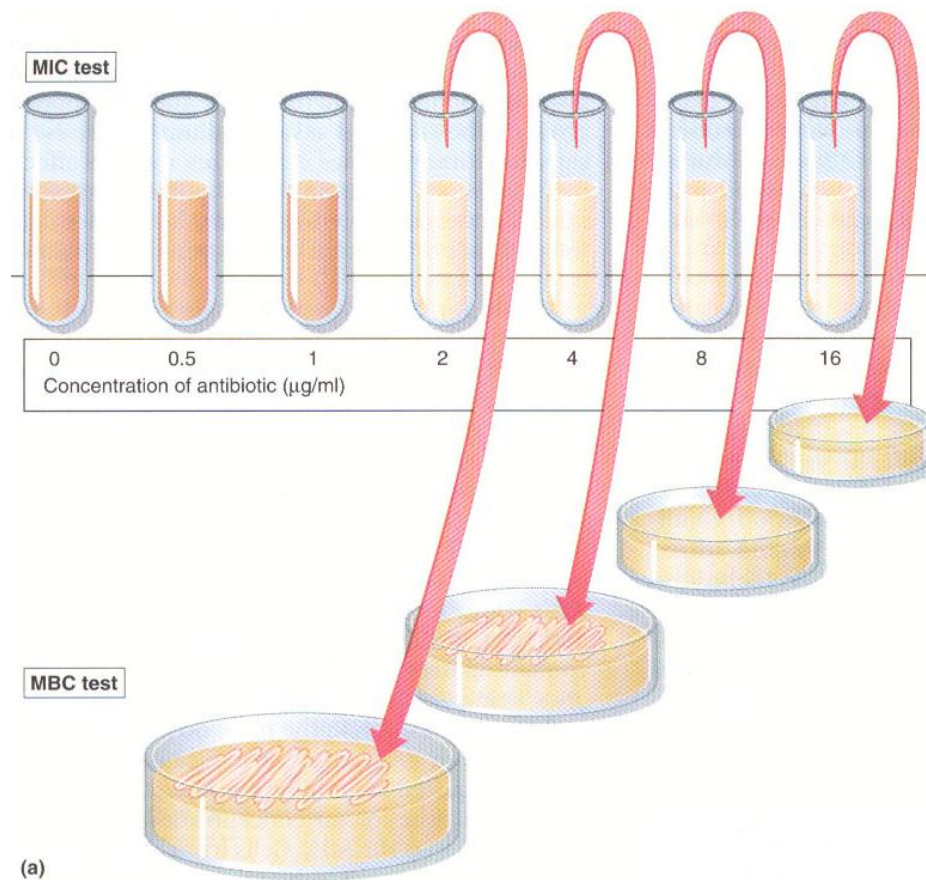
- Принцип метода основан на задержке роста микроорганизмов в питательных средах при добавлении в них определенных концентраций антибиотиков.
- Критериями активности препаратов выступают **минимальная ингибирующая концентрация (МИК)** - наименьшая концентрация препарата, тормозящая рост микроорганизмов 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.

Определение МИК методом серийных разведений

Принцип метода основан на задержке роста микроорганизмов в питательных средах с добавлением определенных концентраций антибиотика



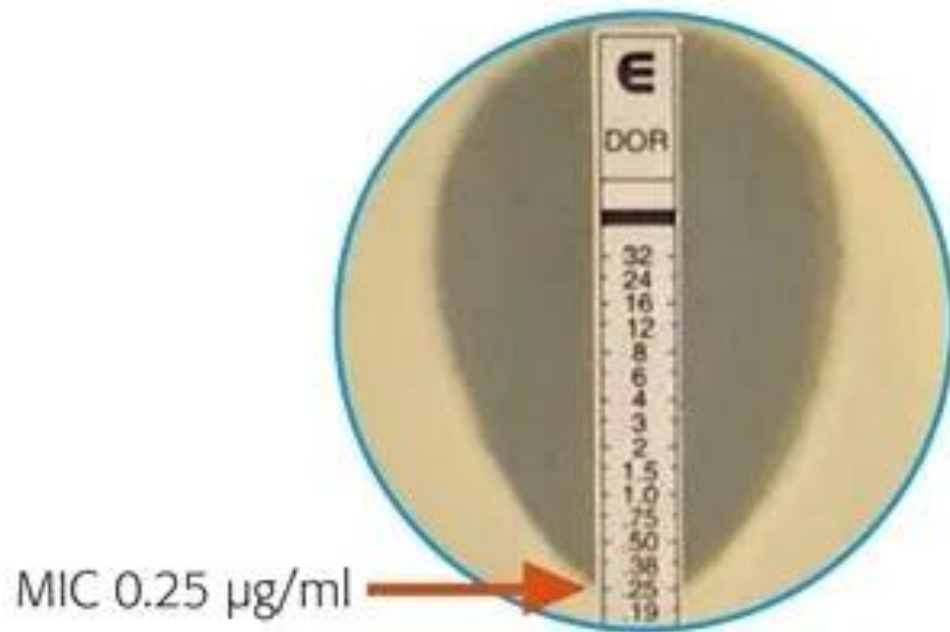
Определение МИК методом серийных разведений

ингредиенты	Номер пробирки (последняя концентрация антибиотика)					контроль		
	1 (64)	2 (32)	3 (16)	4 (8)	5 (4)	культура	бульон	Антибио- тик
Бульон (мл)	–	1	1	1	1	1	1	–
Взвесь антибиотика (64мкг/мл), мл	1	1	–	–	–	–	–	1
Исследуемая культура (стандартизированная суспензия)	2	2	2	2	2	2	–	–
Инкубация в оптимальных условиях 18-24 ч								
Учет результатов	–	–	–	+	+	+	–	–
Интерпретация результатов: МИК тетрациклина для тест-культуры - 16 мкг/мл								

Эпсилометрический метод(Е-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.

E-тест

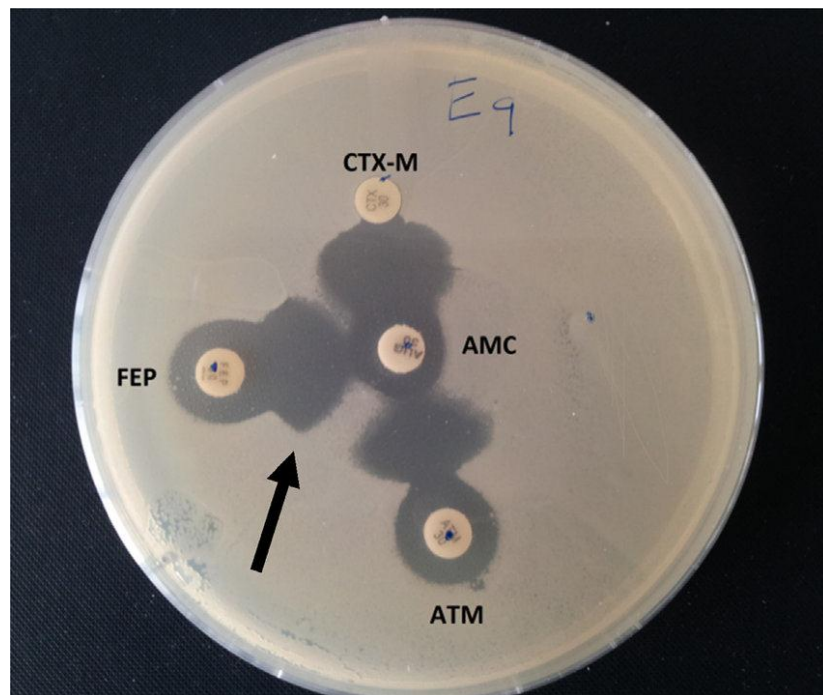


Механизмы антибиотикорезистентности

- Одним из механизмов формирования резистентности микроорганизмов к антимикробным 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

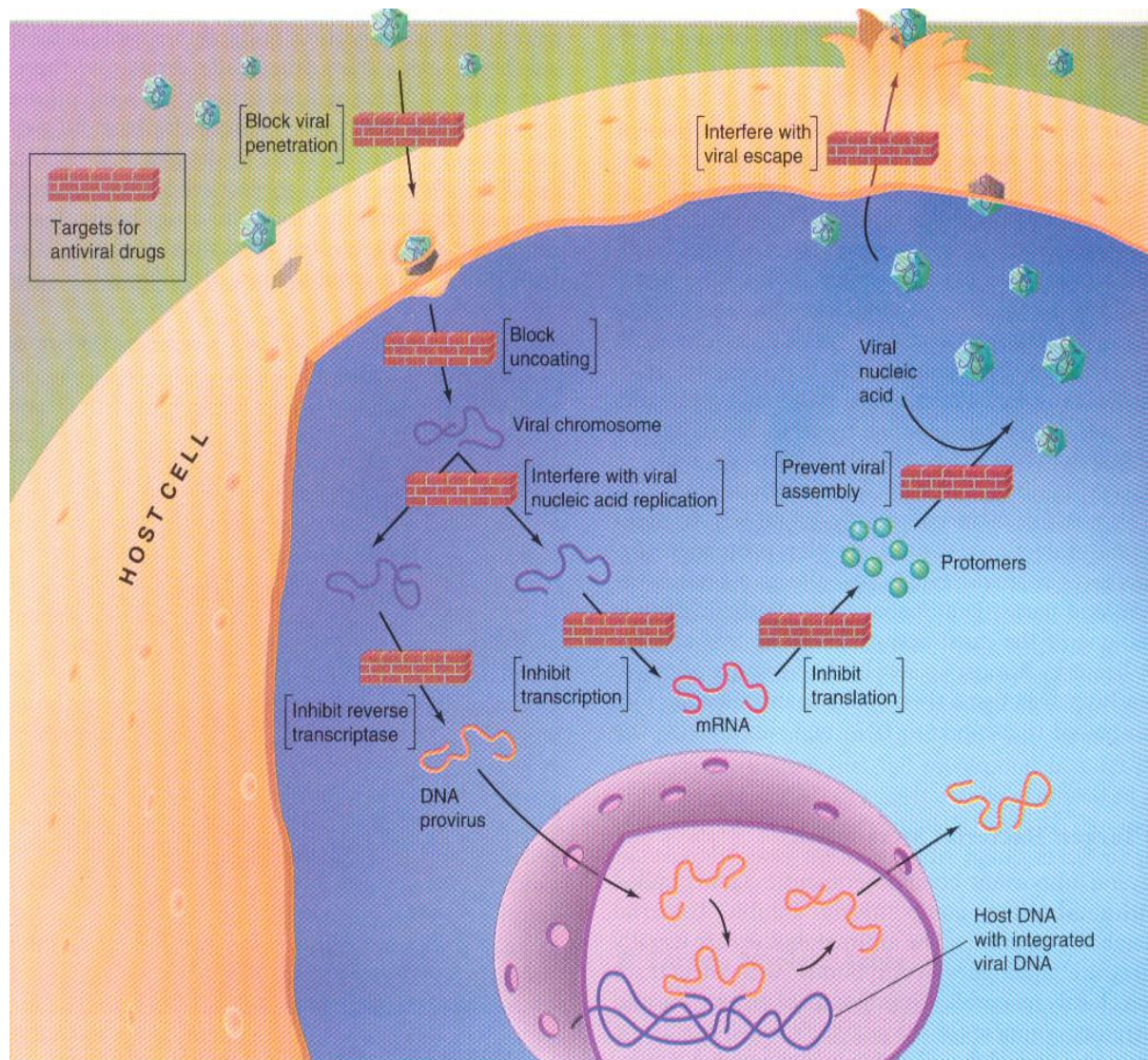
- Этиотропные препараты, используемые при лечении вирусных инфекций можно разделить на несколько групп:
- **Химиопрепараты**
- **Интерфероны и индукторы интерферонов**

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 депротенинизации 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)

Мишени действия противовирусных препаратов



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:

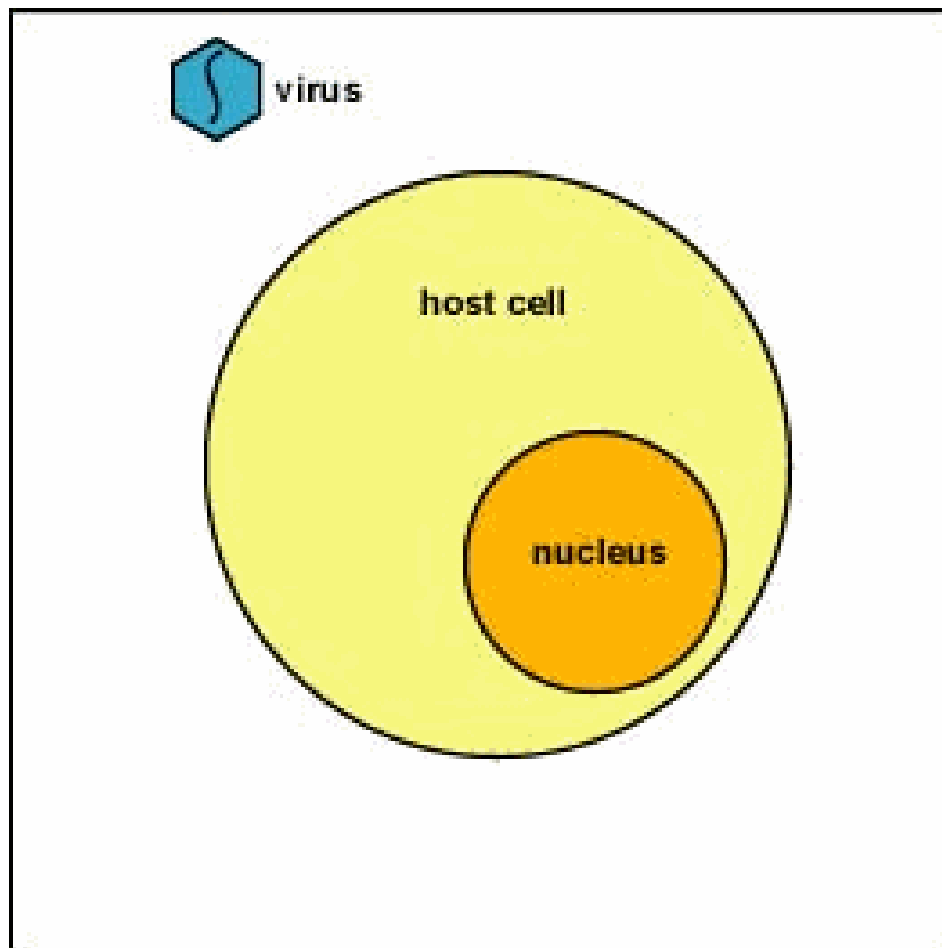
Интерфероны

- **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).

Механизм действия интерферона



Индукторы интерферона - интерфероногены

- Синтез интерферона индуцируется при заражении 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.)