



Химиотерапевтические препараты

— это лекарственные вещества, используемые для **подавления жизнедеятельности и уничтожения микроорганизмов** в тканях и средах больного, обладающие избирательным, этиотропным действием. (действующим на причину)



По направленности действия

делят на:



1 противопротозойные

(направлено на простейшие одноклеточные организмы: амёбы, лямблии и т.д.)

2 противогрибковые

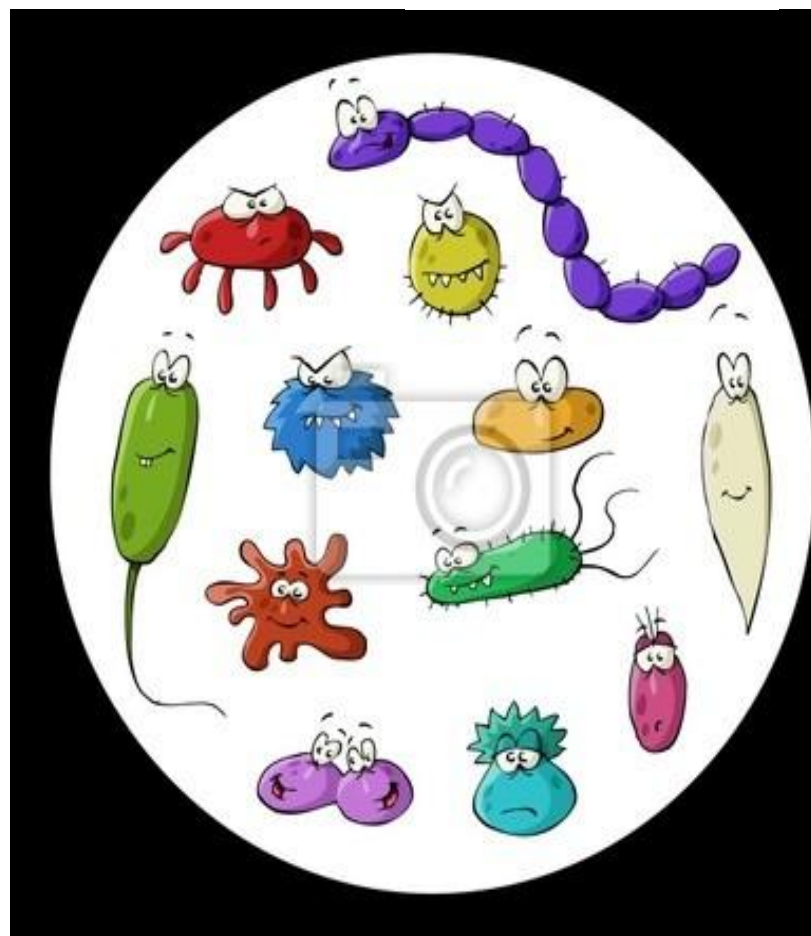
(направлено на микроскопические грибки: дерматомицеты, дрожжи и т.д.)

3 противовирусные

(направлено на вирусы)

4 антибактериальные

(направлено на бактериальную микрофлору)



Свойства химиотерапевтических препаратов

Избирательность - токсично для микробов и при этом существенно не затрагивает клетки организма-хозяина.

К хим. препаратам предъявляется целый ряд требований:

- 1) терапевтическая эффективность**
- 2) минимальная токсичность для человека**
- 3) отсутствие побочных эффектов**
- 4) широкий спектр антимикробной активности**
- 5) сохранять стабильность при широких диапазонах рН,** (что делает возможным их пероральное применение)
- 6) биодоступность** (способность проникновения в кровеносное русло и ткани)
- 7) иметь оптимальный период полувыведения**

Требование к качеству химиопрепаратов
(безвредность) оценивается
химиотерапевтическим индексом, который
представляет собой отношение минимальной
терапевтической дозы препарата к максимально
переносимой.

Должен быть меньше 1.

$$\text{ХТИ} = \frac{\text{Минимальная терапевтическая доза}}{\text{Максимально переносима}} < 1$$

АКТИВНОСТЬ

АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

**ВЫРАЖАЮТ В ЕДИНИЦАХ
ДЕЙСТВИЯ (ЕД) ИЛИ В
МИКРОГРАММАХ (МКГ).**

Активность антимикробных препаратов :

Антибактериальные
проявляют активность:

бактериостатическую

бактерицидную

Противогрибковые
проявляют активность:

фунгистатическую

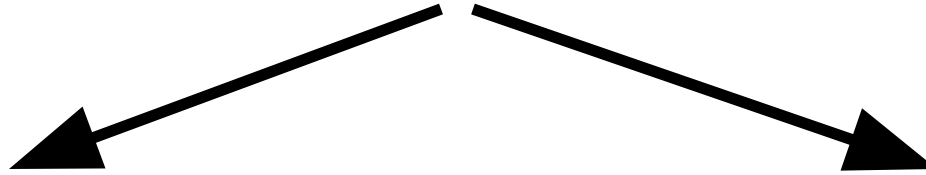
фунгицидную

Противовирусные
проявляют активность:

виростатическую

вирулицидную

Эффекты антимикробных средств



**торможение роста и
размножения
микроорганизмов**

- **бактериостатические**
- **фунгистатические**
- **виростатические
препараты**

**индукция гибели
микроорганизмов**

- **бактерицидные**
- **фунгицидные**
- **вирулицидные
препараты**

Механизм действия антимикробных средств

Антимикробные агенты действуют на вегетирующую клетку, но не на споры или цисты!!!

- Для реализации своей активности антимикробное средство должно:
 - проникнуть в микробную клетку
 - связаться с мишенью и модифицировать ее
 - сохранить свою структуру или образовать активный метаболит

По **химическому строению**

выделяют несколько групп

химиотерапевтических препаратов:

- **Сульфаниламиды**
- **Хинолоны**
- **Нитроимидазолы**
- **Нитрофураны**
- **Оксазолидиноны**
- **Имидазолы**
- **Противосифилитические**
- **Противотуберкулезные**
- **Антибиотики**

Сульфаниламидные препараты (сульфаниламиды)

– производные сульфаниловой кислоты.

Механизм действия - **торможение синтеза фолиевой кислоты** необходимой для жизни и роста бактерий.

Оказывают **бактериостатический эффект**.

К этой группе относят:

**стрептоцид,
бисептол,
сульфазин,
норсульфазол,
сульфаметизол, и др.**



Группа нитрофуранов

Класс **синтетических антибактериальных** препаратов, предложенным для широкого медицинского применения

Механизм действия

Нарушают процесс клеточного дыхания бактерий, **ингибируют биосинтез нуклеиновых кислот.**

В зависимости от концентрации оказывают бактериостатический или бактерицидный эффект.

Широкий спектр действия. Активны в отношении многих грамотрицательных (*E.coli*, *K.pneumoniae* и др.) и грамположительных бактерий.

Имеют значение главным образом при лечении острых неосложненных форм (инфекции МВП, кишечные инфекции и др.)



К этой группе относят
Фурацилин,
Фурагин,
Фуразолидон,
Нитрофуразон и др.



Группа хинолонов/фторхинолонов

Класс хинолонов включает две основные группы препаратов:

1. нефторированные хинолоны
2. фторхинолоны.

Механизм действия

Хинолоны оказывают **бактерицидный эффект**. Ингибируя два жизненно важных фермента микробной клетки - ДНК-гиразу и топоизомеразу IV, **нарушают синтез ДНК**.

Спектр активности

Нефторированные хинолоны действуют преимущественно на грамотрицательные бактерии

Фторхинолоны имеют значительно более широкий спектр. Они активны в отношении ряда грамположительных аэробных бактерий (*Staphylococcus* spp., пневмококков), большинства штаммов грамотрицательных, в том числе *E.coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., и др.



Оксолиновая кислота
Норфлоксацин
Офлоксацин
Ципрофлоксацин
Левифлоксацин
Спарфлоксацин
Моксифлоксацин



Имидазолы / азолы

Обладают противогрибковой активностью.

Механизм действия

Ингибируют биосинтез стероидов, что приводит к повреждению наружной клеточной мембраны грибов и повышению ее проницаемости.

В зависимости от дозы действуют фунгистатически или фунгицидно.

К ним относят

Клотримазол,

Кетоконазол,

Итраконазол

Флуконазол и др.;



Группа нитроимидазолов

Нитроимидазолы - синтетические АМП

Механизм действия

Оказывают бактерицидный эффект в отношении тех микроорганизмов, ферментные системы которых способны восстанавливать нитрогруппу. **Нарушают репликацию ДНК и синтез белка в микробной клетке, ингибируют тканевое дыхание.**

Спектр активности

В отношении большинства анаэробов - как грамотрицательных, так и грамположительных: бактероидов (включая *B. fragilis*), клостридий (включая *C. difficile*), *Fusobacterium* spp.,

В отношении простейших (*T. vaginalis*, *E. histolytica*, *G. lamblia*), а также *H. pylori*.



- метронидазол
- тинидазол,
- орнидазол,
- секнидазол
- тернидазол.



Группа оксазолидинонов

группа синтетических АМП

Механизм действия

Оказывает преимущественно бактериостатическое действие за счет **нарушения синтеза белка**.

В отношении пневмококка, *B. fragilis* и *C. perfringens* действует бактерицидно.

Спектр активности

Обладает активностью в отношении подавляющего большинства как аэробных, так и анаэробных грамположительных микроорганизмов.



В клинической практике применяется антибиотик

ЛИНЕЗОЛИД

Антибиотики

– это группа соединений природного происхождения или их синтетических аналогов.

Классификация антибиотиков.

По механизму действия:

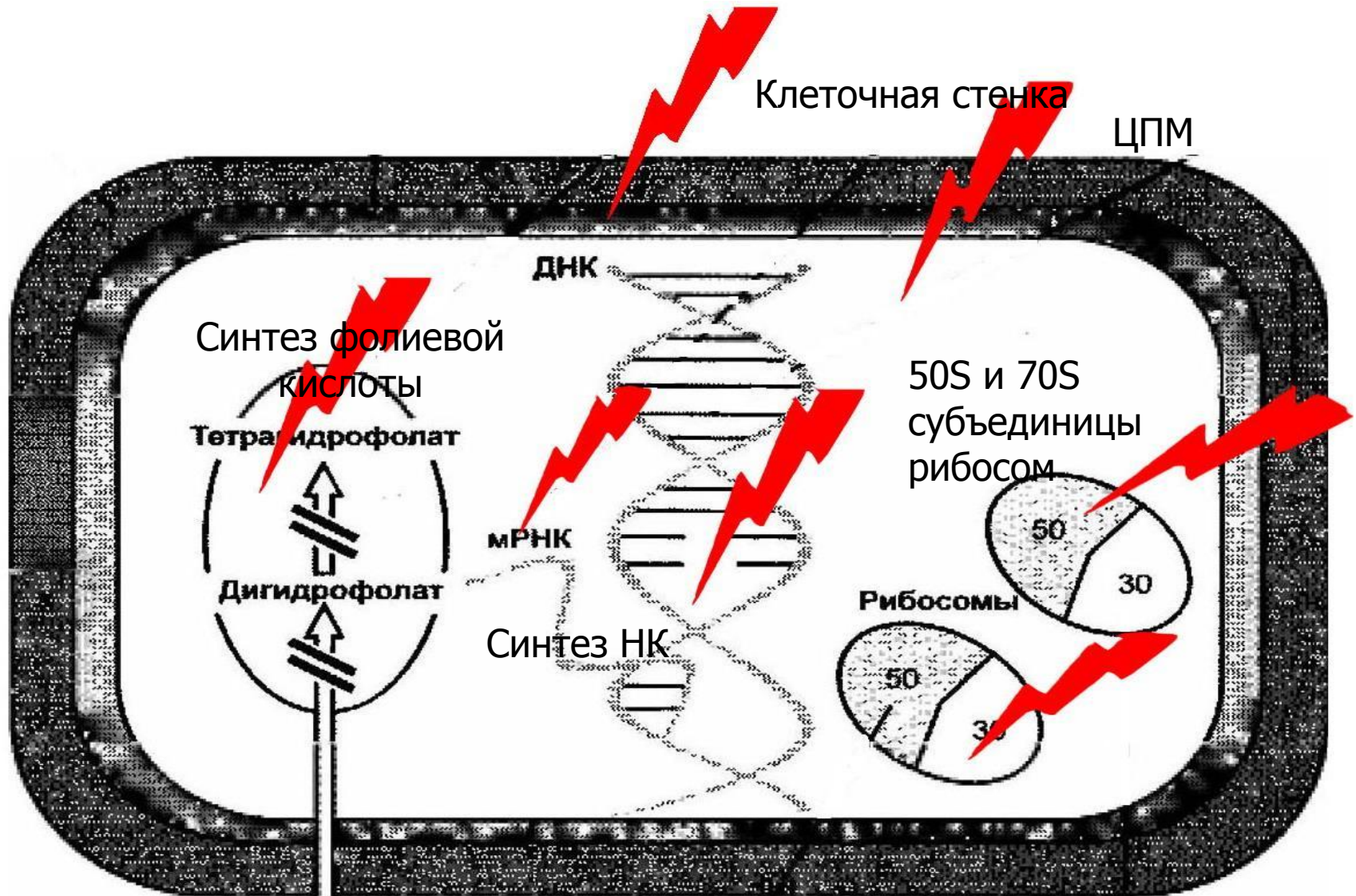
1) нарушающие синтез микробной клеточной стенки

β-лактамы (пенициллины; циклосерин; ванкомицин, тейкоплакин), цефалоспорины, карбопенемы

2) нарушающие функции цитоплазматической мембраны (разрушают эргостеролы ЦПМ) циклические полипептиды, полиеновые антибиотики;

3) нарушающие синтез белков и нуклеиновых кислот (группа левомицетина, тетрациклина, макролиды, линкозамиды, аминогликозиды, фузидин, анзамицины).

Мишени antimicrobных препаратов



Ингибиторы синтеза клеточной стенки

Пенициллины
Монобактамы
Цефалоспорины
Карбапенемы
Гликопептиды
Бацитрацин
Циклосерин

Ингибиторы синтеза белка

ингибиторы 30S-субъединиц рибосом
Тетрациклины
Аминогликозиды

ингибиторы 50S-субъединиц рибосом
Макролиды
Хлорамфеникол
Линкомицин

Ингибиторы функций цитоплазматической мембраны

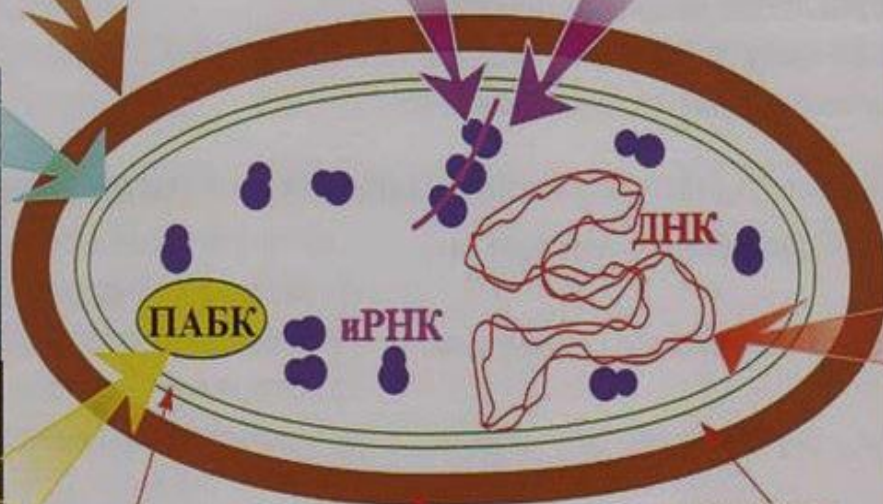
Полимиксины

Антиметаболиты (метаболизм фолиевой кислоты)

Сульфонамиды
Триметоприм

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот

Рифампицин
(ингибитор ДНК-зависимой РНК-полимеразы; нарушение транскрипции)
Хинолоны
(ингибитор ДНК-гиразы; нарушение репликации ДНК)



цитоплазматическая мембрана

клеточная стенка

периплазма (бета-лактамаза, аминогликозидмодифицирующие ферменты)

Классификация антибиотиков.

По направленности действия:

- Противобактериальные;
- противогрибковые;
- антипротозойные;
- противовирусные;
- **Не изучаются в курсе микробиологии:**
- противоопухолевые;
- антигельминтные.

Классификация антибиотиков.

По спектру действия:

Антибиотики широкого спектра действия		Антибиотики узкого спектра действия	
Антибиотик	Спектр действия	Антибиотик	Спектр действия
Аминогликозиды (стрептомицин, гентамицин)	Грамположительные и грамотрицаиельные кокки, палочки, спирохеты, простейшие	Пенициллины	Грамположительные кокки и грамотрицательные кокки
Тетрациклин	Многие грамположительные и грамотрицательные кокки и палочки, рикетсии, хламидии	Макролиды (эритромицин)	Грамположительные и грамотрицательные кокки
Хлорамфеникол (левомицетин)	Грамположительны е кокки и палочки, грамотрицательные палочки, рикетсии, хламидии	Полиены (нистатин, амфотерицин В)	Дрожжеподобные грибы

Классификация антибиотиков.

По способу получения.

1. **Биосинтетические (природные).** Получают биосинтетически, путем **культивирования микроорганизмов-продуцентов** на специальной питательной среде при сохранении стерильности, оптимальной температуре, аэрации. Пенициллин, стрептомицин.
2. **Полусинтетические продукты модификации молекул.** Их готовят комбинированным способом: методом биологического синтеза получают основное ядро молекулы нативного антибиотика, а методом химического синтеза, путем частичного изменения химической структуры — **полусинтетические препараты**. Оксациллин, цефалоспорины.
3. **Синтетические (получают путем химического синтеза)** К ним относятся сульфаниламиды, производные хинолона, производные нитрофурана

Классификация антибиотиков по происхождению

1. полученные **из грибов**, например рода *Penicillium* (пенициллин), рода *Cephalosporium* (цефалоспорины)
2. полученные **из актиномицетов**; Среди актиномицетов основное значение имеют представители рода *Streptomyces*, являющиеся продуцентами стрептомицина, эритромицина, левомицетина.
3. полученные **из бактерий**. Чаще всего с этой целью используют представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas* (полимиксины, бацитрацины, грамицидин)
4. **животного происхождения**; из рыбьего жира получают эктерицид, из молок рыб – экмолин, из эритроцитов – эритрин.
5. **растительного происхождения**. К ним можно отнести фитонциды, которые выделяют лук, чеснок, сосна, ель, сирень, другие растения. В чистом виде они не получены, так как являются чрезвычайно нестойкими соединениями. Антимикробным действием обладают многие растения, например, ромашка, шалфей, календула.

Классификация антибиотиков

по химическому строению:

- **Бетта-лактамы** – молекулярную основу которых составляет бета-лактамное кольцо, **пенициллины, цефалоспорины**
- **Макролиды** – содержат макроциклическое лактоновое кольцо, которое связано с углеводными остатками — одним или несколькими, **эритромицин, олеандомицин**
- **Аминогликозиды** – содержат аминосакхара, которые соединены гликозидной связью с остальной частью молекулы (агликоновым фрагментом). **стрептомицин, гентамицин**

- **Тетрациклины** – состоят из 4-х конденсированных бензольных колец с радикалами, **тетрациклин, доксициклин**
- **Полипептиды** – содержат в своей молекуле остатки полипептидных соединений, аминокислот.
Полимиксины, грамицидин
- **Полиены** – в своей молекуле содержат сопряженные двойные связи. **нистатин, амфотерицин В**
- **Ансамицины (рифамицины)** – содержат ароматические соединения, **рифампицин, рифамин**
- **Левомицитин** – нитробензоновое кольцо **левомицетин**

Противосифилитические средства

— это препараты, используемые для лечения и профилактики сифилиса.

Относятся препараты:

пенициллины — бензилпенициллина натриевая соль, бензилпенициллина калиевая соль, экмоновоциллин, бициллин-1, бициллин-3;

препараты висмута (бийохинол, бисмоверол, битиурол);

препараты мышьяка (новарсенол, миарсенол, осарсол).

препараты ртути, которые раньше широко применялись для лечения сифилиса, в настоящее время с указанной целью практически не используются из-за малой эффективности.

Противотуберкулезные препараты

Приказ МЗ РФ от 21 марта 2003 г. № 109 (Приложение № 1.6)

Основные противотуберкулезные препараты 1-го ряда :

- **изониазид (феназид, фтивазид, метаизид);** блокирует синтез миколовых кислот, компонентов клеточной стенки микобактерий
- **рифампицин;**
- **пиразинамид;**
- **этамбутол;** подавляет синтез РНК у микобактерий
- **стрептомицин.**

Резервные противотуберкулезные препараты 2-го ряда :

- **протионамид (этионамид);**
- **канамицин (амикацин);**
- **капреомицин;**
- **циклосерин;**
- **рифабутин;**
- **фторхинолоны.**

Противогрибковые препараты

Полиеновые антибиотики Препараты этой группы обладают самым широким спектром действия. Их назначают пациентам, у которых ослабленный иммунитет.

.Нистатин.

.Леворин.

.Пимафуцин.

.Амфотерицин В

Группа азолов Синтетические противогрибковые средства, оказывающие фунгицидное и фунгистатическое действия. Помогают при лечении микозов кожи, ногтей, слизистых оболочек, волосистой части головы

.Кетоконазол

2.Вориконазол.

3.Итраконазол

4.Флуконазол

Группа аллиламинов Синтетические противогрибковые средства, эффективные против дерматомикозов, поражающих ногти, волосы, кожу.

1.Тербинафин

2.Нафтифин (Экзодерил).

ПРОТИВОПРОТОЗОЙНЫЕ СРЕДСТВА

Для лечения заболеваний, вызываемых патогенными простейшими,

1. для профилактики и лечения **малярии**

Хингамин Примахин Хлоридин Хинин
Сульфаниламиды и сульфоны Мефлохин

2. для лечения **амебиаза**

Метронидазол Хингамин Эметина гидрохлорид
Тетрациклины Хиниофон

3. для лечения **лямблиоза**

Метронидазол Фуразолидон Акрихин

4. для лечения **трихомоноза**

Метронидазол Тинидазол Трихомонацид Фуразолидон

5. для лечения **токсоплазмоза**

Хлоридин Сульфадимезин

Ранее для **химиотерапии малярии** использовали хинин, выделенный из коры хинного дерева. Затем было создано значительное число синтетических препаратов.

Противомалярийные средства отличаются друг от друга тропностью в отношении определенных форм развития плазмодия в организме человека. В связи с этим различают:

1) гематошизотропные средства (влияют на эритроцитарные шизонты), **хингамин, галохин, хлоридин**

2) гистошизотропные средства (влияют на тканевые шизонты);

а) влияющие на преэритроцитарные (первичные тканевые) формы; **хлоридин**

б) влияющие на параэритроцитарные (вторичные тканевые) формы; **8-аминохинолина, примахин**

3) гамонтотропные средства (влияют на половые формы).

Примахин, хлоридин

Противовирусные препараты

Название	Механизм действия
Ремантадин, амантадин	Препараты взаимодействуют с вирусным белком М2. Белок образует каналы в инфицированных клетках – вирус не размножается
Тамифлю	Ингибитор нейроминидазы
Адапромин	Эффективен против вируса А и В
Арбидол, Амиксин, Циклоферон	Стимулирует гуморальные клеточные реакции иммунитета
Окселинтерон	Прямое противовирусное



Осложнения антибактериальной терапии

I. Побочные эффекты, связанные с **прямым воздействием** антибиотиков на организм – специфичны для каждой группы антибиотиков.

Токсические реакции возникают, как правило, в тех случаях, когда антибиотики применяются в больших дозах и в течение долгого времени.

Степень тяжести токсических реакций прямо зависит от продолжительности лечения и суммарной дозы препарата.

Пенициллин — наименее токсичный препарат, но увеличение его доз приводит к некоторым отрицательным явлениям: развитию инфильтратов, некрозов, появлению болей, чувства жжения

Стрептомицин и его аналоги влияют на слуховой и в меньшей степени, на зрительный нерв

Тератогенное действие антибиотиков связано с проникновением через плацентарный барьер. Описаны случаи поражения слуха у детей, рожденных от матерей, леченных во время беременности стрептоцимином, слуха и почек при применении антибиотиков группы аминогликозидов.

Левомецетин (хлорамфеникол) было отмечено развитие аплазии костного мозга

II. Аллергические реакции

(крапивница, контактные дерматиты, ангионевротический отёк, анафилактический шок) – это проявления повышенной чувствительности организма к антибиотикам (сенсibilизации). Сенсibilизация возникает к определённой группе антибиотиков, родственных в химическом отношении. Чаще возникает к препаратам группы пенициллина, тетрациклина. При возникновении аллергической реакции прекращают лечение этим препаратом, заменив его антибиотиком другой группы.

Анафилактический шок является одним из самых тяжелых по течению и прогнозу осложнений антибактериальной терапии. Почти в 94% случаев причиной шока является сенсibilизация к пенициллину, но известны случаи анафилактического шока при введении стрептомицина, левомицетина, тетрациклина и др.

По статистике ВОЗ, на 70 000 случаев применения пенициллина встречается 1 случай анафилактического шока.

III. Побочные эффекты, связанные с химиотерапевтическим действием

– развиваются **вследствие влияния** этих веществ на **микрофлору**. Это дисбактериоз (суперинфекция) – нарушение и гибель сапрофитной (естественной, нормальной) микрофлоры кишечника. При этом в толстом кишечнике преобладает гнилостная и болезнетворная микрофлора, а полезной – бифидобактерий и лактобацилл – недостаточно. Создаются условия для развития других видов, нечувствительных к данному антибиотику (дрожжеподобных грибов, стафилококков, протей, синегнойной палочки). Наиболее часто суперинфекция возникает на фоне действия антибиотиков широкого спектра, хотя вызывают её все до единого антибиотика.

Механизмы резистентности бактерий к антибактериальным препаратам

Антибиотикорезистентность — это устойчивость микробов к антимикробным химиопрепаратам.

Бактерии следует считать резистентными, если они не обезвреживаются такими концентрациями препарата, которые реально создаются в макроорганизме.

1. природная устойчивость

характеризуется **отсутствием** у микроорганизмов **мишени** действия антибиотика или **недоступности** мишени вследствие **первично низкой проницаемости** или **ферментативной инактивации**. Природная резистентность является **постоянным** видовым признаком микроорганизмов и легко прогнозируется.

Например, микоплазмы не имеют клеточной стенки, поэтому не чувствительны ко всем препаратам, действующим на этом уровне

2. Приобретенная резистентность

— это биологическая закономерность, связанная с адаптацией микроорганизмов к условиям внешней среды.

Генетические основы приобретенной резистентности. Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается генами резистентности (r-генами) и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях.

- **мутаций в хромосоме бактериальной клетки с последующей селекцией (т. е. отбором) мутантов.** 1) единичные и 2) множественные, (например появление пенициллин связывающих белков у пенициллин-резистентного пневмококка)
- **переноса трансмиссивных плазмид резистентности (R-плазмид).** (например, плазмиды могут передаваться между бактериями разных видов, поэтому один и тот же ген резистентности можно встретить у бактерий, таксономически далеких друг от друга.
- **переноса транспозонов, несущих r-гены** (или мигрирующих генетических последовательностей), мигрировать с хромосомы на плазмиду .

2. Приобретенная резистентность

— связана с адаптацией микроорганизмов к условиям внешней среды.

Генетические основы приобретенной резистентности. Устойчивость к антибиотикам определяется и поддерживается **генами резистентности** (r-генами) и условиями, способствующими их распространению в микробных популяциях.

- **мутаций в хромосоме бактериальной клетки с последующей селекцией (т. е. отбором) мутантов.** 1) единичные и 2) множественные, (например появление пенициллин связывающих белков у пенициллин-резистентного пневмококка)
- **переноса трансмиссивных плазмид резистентности (R-плазмид).** (например, плазмиды могут передаваться между бактериями разных видов, поэтому один и тот же ген резистентности можно встретить у бактерий, таксономически далеких друг от друга.
- **переноса транспозонов, несущих r-гены** (или мигрирующих генетических последовательностей), мигрировать с хромосомы на плазмиду .

Механизмы предупреждения и борьба с развитием химиорезистентности

- Поиск новых химиотерапевтических средств с иным механизмом действия
- Изменение структуры известных антибиотиков для предотвращения инактивации бактериальными ферментами
- Использование веществ, защищающих антибиотики от бактериальных ферментов (сульбактам, клавулановая кислота)
- Использование антибактериальных препаратов с учетом чувствительности микроорганизмов к ЛС в данном регионе и у конкретного больного

- Не использовать антибиотики для консервирования пищевых продуктов, консервирования продуктов и для профилактики заболеваний у животных
- Не применять для лечения животных антибиотики, используемые в медицинской практике
- Изучение распространенности устойчивых к антибиотикам штаммов в окружающей среде и передачу их с пищевыми продуктами, сточными водами, выявление носительства среди животных

Методические указания МУК 4.2.1890-04

«Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»

Выбор антибактериальных препаратов, подлежащих включению в исследование.

- На основе данных о природной устойчивости м/о и клинической эффективности антибиотиков.
- С учетом фармакокинетических, токсикологических параметров препарата.
- С учетом локализации и тяжести инфекции.

Определение антибиотикорезистентности

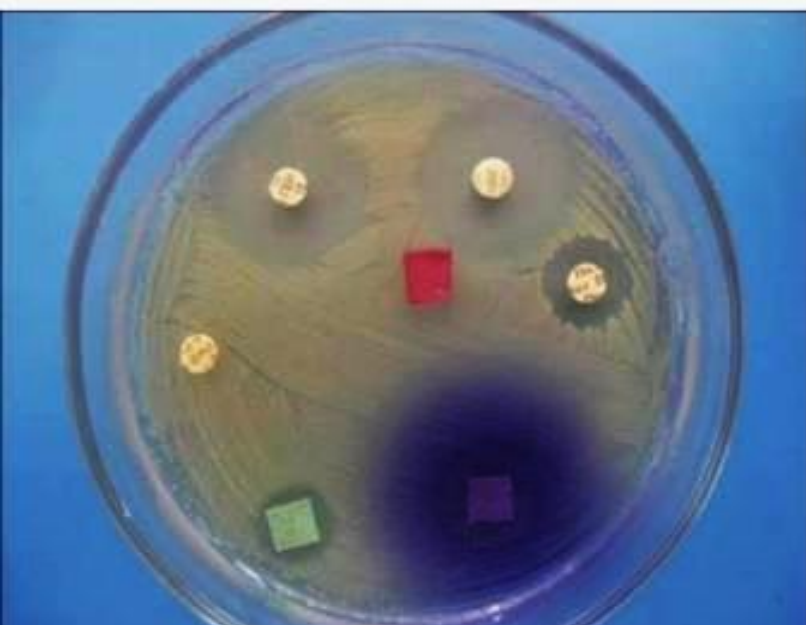
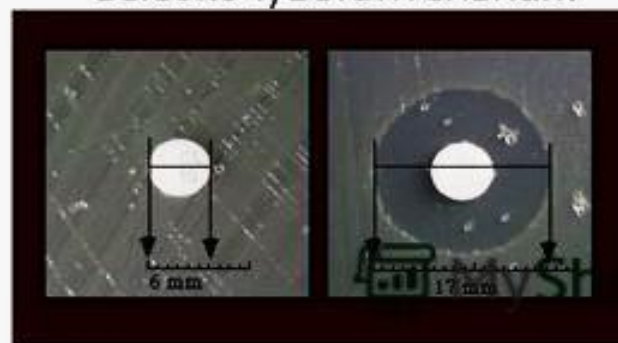
3 этап. **Выбор методов проведения исследования и контроля качества.**



Принцип диско-диффузионного метода определения чувствительности к антибиотикам

Бактериальную культуру засевают газоном на питательный агар, после чего на его поверхность пинцетом помещают на равномерном расстоянии друг от друга бумажные диски, содержащие определенные дозы разных антибиотиков. Посевы инкубируют при 37 °С в течение суток. По диаметру зон задержки роста культуры судят о ее чувствительности к соответствующим антибиотикам. При зоне задержки роста до 15 мм культура расценивается как нечувствительная или низко чувствительная, 15 – 24 мм – средняя чувствительность, 25 мм и более –

высокочувствительная.



Ход исследования:

- Приготовить взвесь ЧК м/о
- Сравнить с 0,5 по Мак –Фарленду (стандарт мутности взвеси бактерий)
- Чашку со средой *Мюллер-Хинтона* засеять ЧК
- Уложить диски *не более 6*
- Инкубировать в термостате 18 – 24 часа
- Прочесть и зафиксировать результат



Теперь диспенсер готов к работе

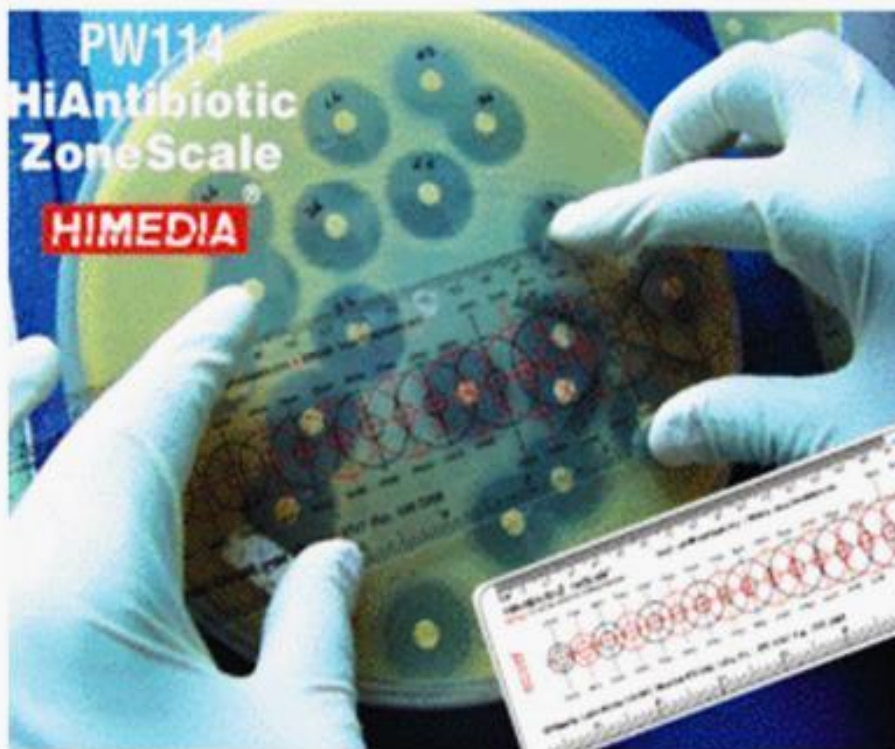


Слегка надавить на рычаг диспенсера над чашкой Петри в том месте, где Вы хотели-бы положить диск



Чашка Петри после инкубации

Чтение результатов



Линейка- лекало

применяется для быстрого и легкого определения диаметров зон задержки роста на чашках с относительно прозрачными питательными средами.

КРИТЕРИИ ИНТЕРПРЕТАЦИИ РЕЗУЛЬТАТОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ S. PNEUMONIAE:

Антибактериальные препараты	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зон подавления роста (мм)		
		Р	П	Ч
Эритромицин	15	≤ 15	16-20	≥ 21
Кларитромицин	15	≤ 16	17-20	≥ 21
Азитромицин	15	≤ 13	14-17	≥ 18
Линкомицин	15	< 17	17-20	≥ 21
Клиндамицин	2	≤ 15	16-18	≥ 19



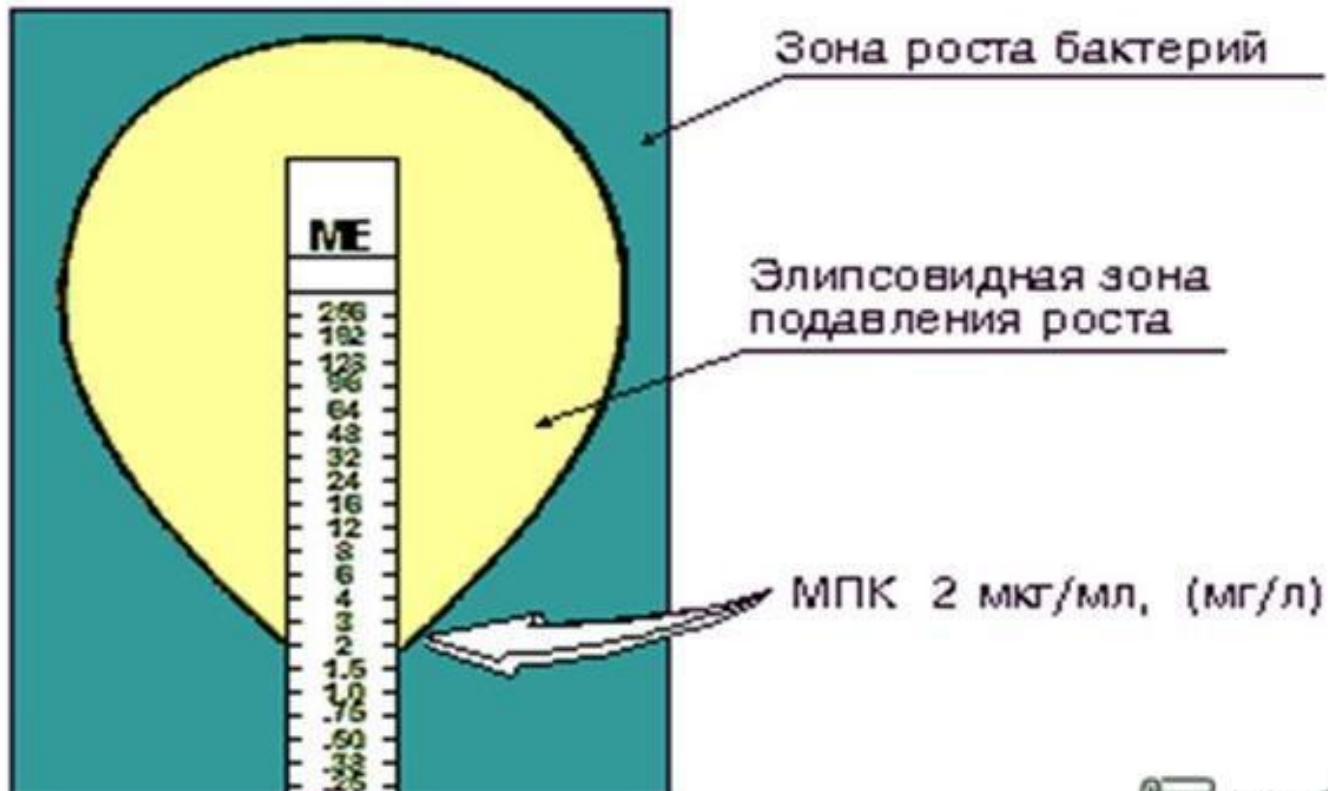
■ Измерение зон ингибирования антибиотиками ProtoCOL2 Zone

Функциональные возможности:

- Определение чувствительности бактерий к антибиотикам (измерение зон ингибиции роста штамма вокруг диска с антибиотиком)
- Автоматический учет результатов
- Архивирование данных
- Выдача результатов на бланке
- Автоматическое определение зон ингибиции роста тест - штамма при изучении активности антибиотиков в сырье, фарм. препаратах, а также биологически активных веществ на стадии доклинических испытаний
- Автоматический анализ результатов (замер диаметров зон преципитации) при исследовании иммуноглобулинов методом радиальной иммунодиффузии (по Манчини).
- Автоматический пересчет числа колоний бактерий с учетом разведения пробы

Определение антибиотикорезистентности.

E-тест



Определение антибиотикорезистентности. Метод серийных разведений.

Основан на прямом определении основного количественного показателя, характеризующего микробиологическую активность антибиотика- величины минимальной подавляющей концентрации (МПК).

МПК- минимальная концентрация, подавляющая видимый рост исследуемого микроорганизма.

Критерии активности антимикробного препарата

- МИК – **минимальная ингибирующая концентрация** - наименьшая концентрация препарата, тормозящая рост тест культуры
- МБК – **минимальная бактерицидная концентрация** – наименьшая концентрация препарата, вызывающая бактерицидный эффект

Определение антибиотикорезистентности. Метод серийных разведений.

В зависимости от характера питательной среды различают

- ❖ метод серийных разведений в агаре
- ❖ в бульоне

В зависимости от объема используемой питательной среды:

- ❖ Макрометод
- ❖ Микрометод

Определение антибиотикорезистентности. Метод серийных разведений.

Этапы:

1. Приготовление растворов антибиотиков (а/б)
2. Приготовление ПС с растворами а/б
3. Приготовление суспензии исследуемого микроорганизма, ее стандартизация и инокуляция
4. Инкубация
5. Учет результатов
6. Интерпретация

Определение антибиотикорезистентности. Метод серийных разведений.

Приготовление суспензии исследуемого микроорганизма, ее стандартизация и инокуляция:

- Используется суточная культура исследуемых м/о.

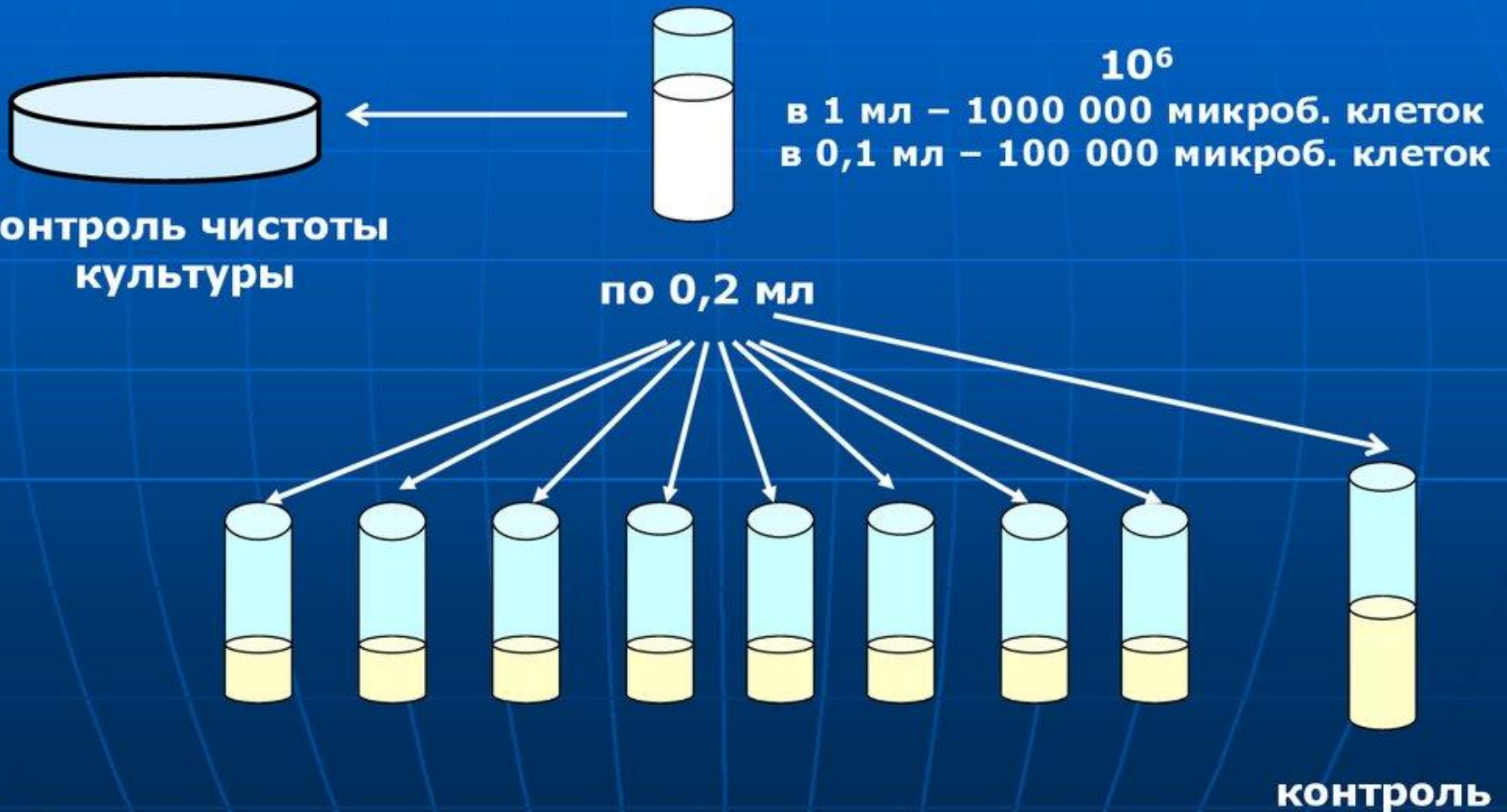
Концентрация

$1,5 * 10^6$ КОЕ/мл,

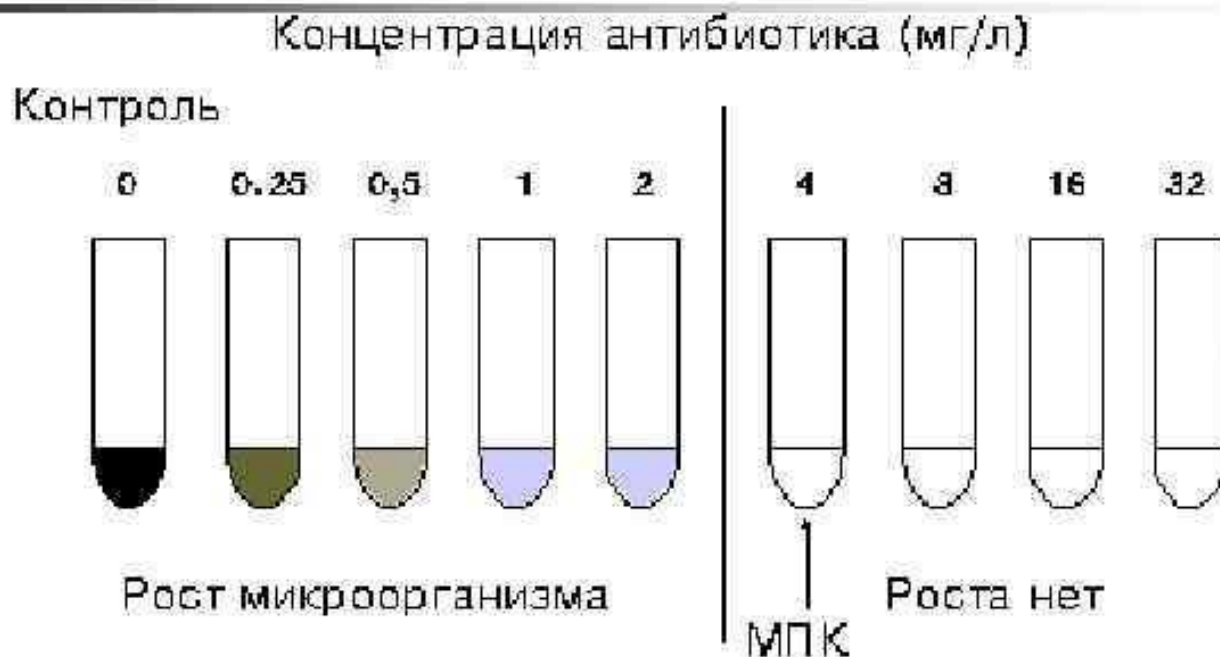
что соответствует степени мутности

0,5 стандарта Мак-Фарланда.

Внесение суспензии в пробирки с разведениями



Определение чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений.



Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется бактериальный рост принято считать **минимальной подавляющей концентрацией (МПК)** или **минимальной ингибирующей концентрацией (МИК)**

Бактериофаги (от лат.«phagos» - пожирающий) – вирусы бактерий, обладающие теми же характерными особенностями, что и другие вирусы.

Характерные свойства фагов, как представителей царства *Vira*:

- фаги – неклеточные формы жизни
- содержат одну нуклеиновую кислоту – ДНК или РНК
- у них отсутствуют белоксинтезирующие системы и самостоятельный метаболизм
- облигатные внутриклеточные паразиты на генетическом уровне

СТРОЕНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ.

Покоящаяся, внеклеточная, форма – вирион.

Внутриклеточная форма – вегетативная.

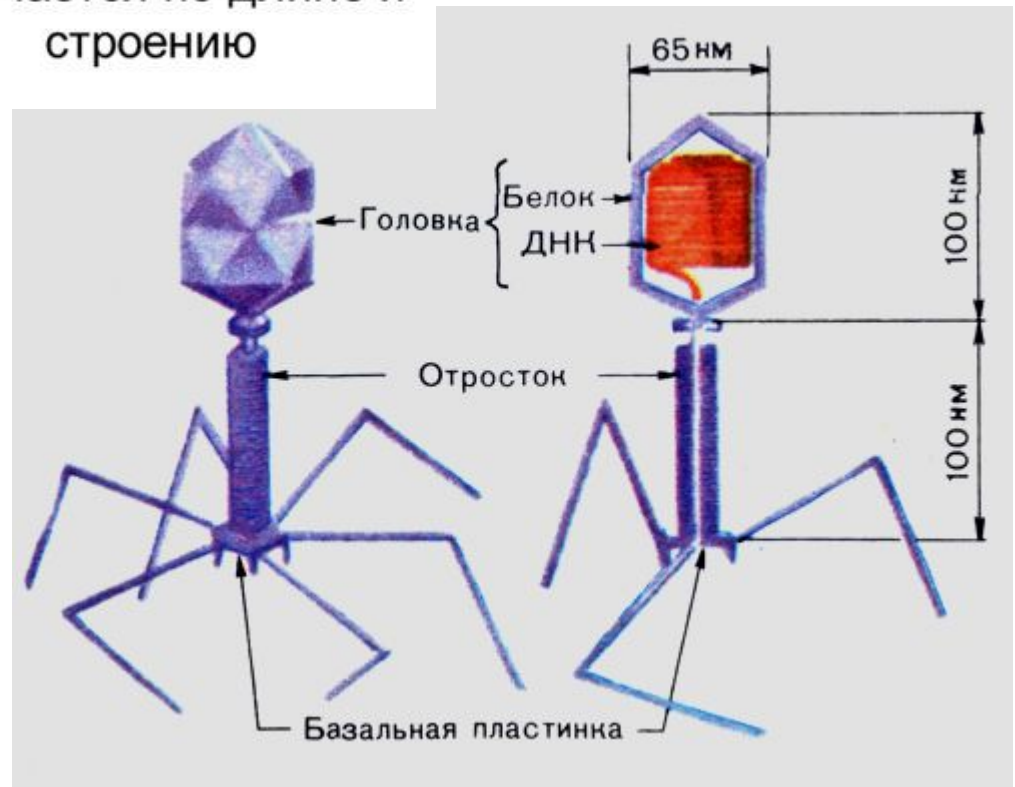
Вирион

Головка

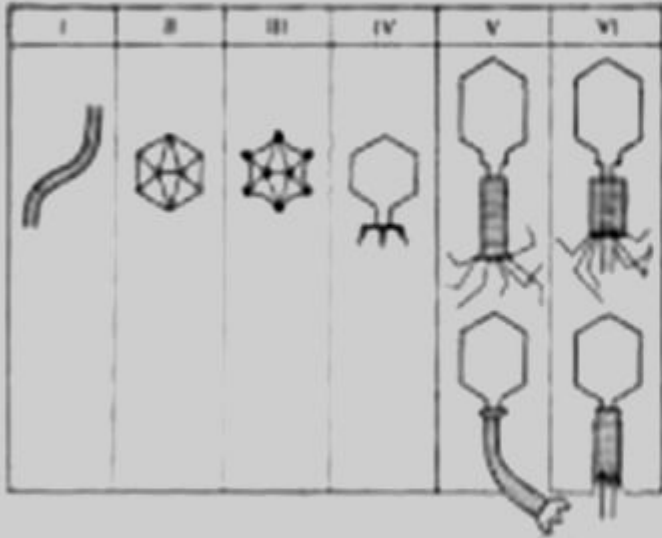
белковый футляр (капсид)
+ нуклеиновая кислота

Отросток

имеет белковую природу,
отличается по длине и
строению



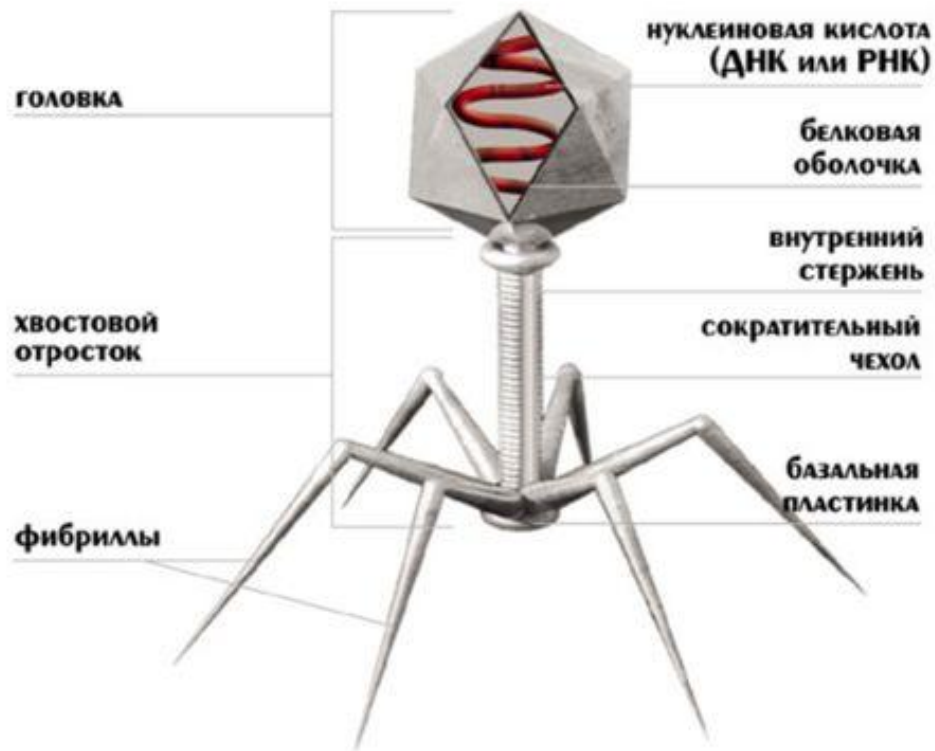
Морфологические типы фагов.



- I – нитевидные фаги
- II – фаги без отростка
- III- фаги с аналогом отростка
- IV – фаги с коротким отростком
- V – фаги с длинным несокращающимся отростком
- VI– фаги с длинным сокращающимся отростком

Наиболее сложно устроены фаги с сокращающимся чехлом отростка, например, Т- четные фаги (Т4) *E. coli*

АНАТОМИЯ БАКТЕРИОФАГА



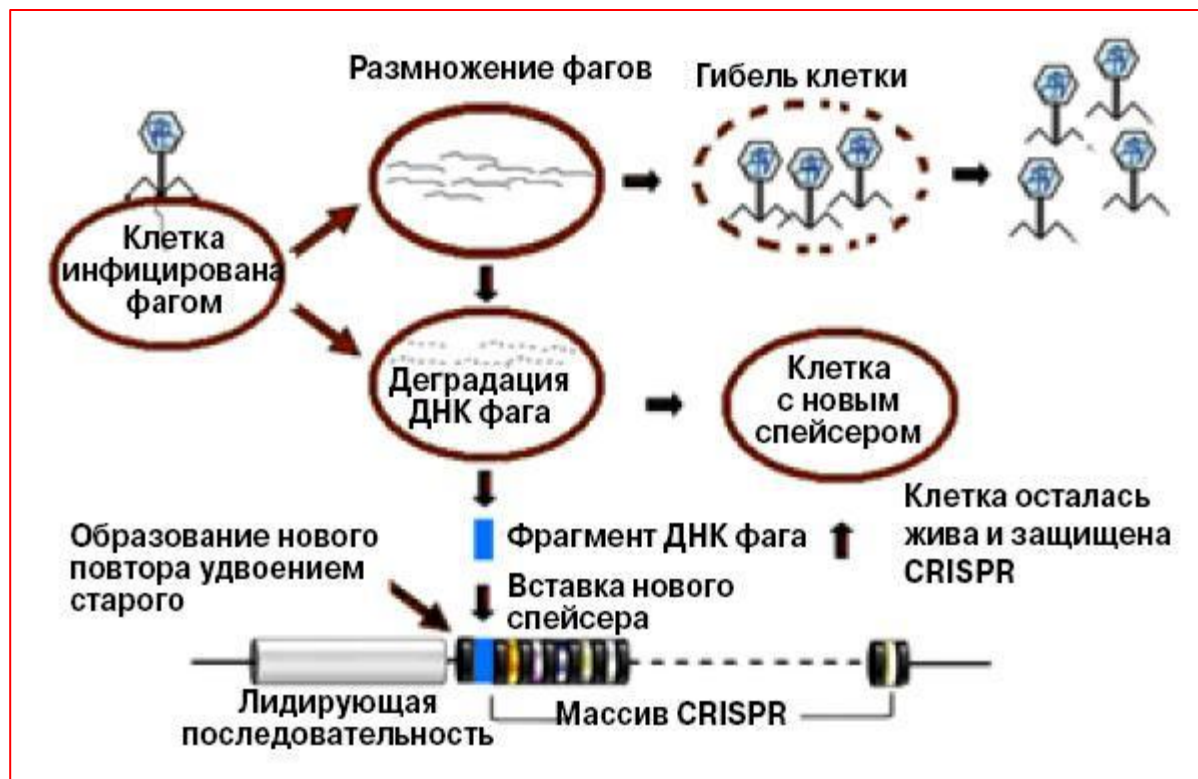
Взаимодействие фага с клеткой

вирулентные фаги

вызывают продуктивную инфекцию, при которой происходит репродукция фагов и лизис бактериальной клетки

умеренные фаги

характерна интегративная инфекция, но могут вызывать и продуктивную инфекцию



Этапы продуктивной инфекции:

- **1я стадия.** Адсорбция фага на чувствительной клетке. Происходит при наличии комплементарных рецепторов в клеточной стенке бактерий или на концах нитей фагового отростка.
- **2я стадия.** Проникновение ДНК фага в бактериальную клетку. С помощью лизоцима осуществляется гидролиз участка клеточной стенки, чехол отростка сокращается и внутренний стержень прокалывает оболочку клетки. ДНК по каналу стержня проникает внутрь.
- **3я стадия.** Внутриклеточное развитие фага. ДНК бактериофага направляет клеточные системы на биосинтез компонентов, необходимых для репродукции фагов. Сначала идет синтез «ранних белков» – ферментов, осуществляющих репликацию ДНК, а затем «поздних белков» – белков головки, отростка и т.д.

- **4я стадия.** Морфогенез фага. Созревание фага - разобщенный процесс. Отдельно формируются головки фага: вокруг ДНК строится капсид. Независимо образуется отросток: формируется базальная пластинка, к ней прикрепляется внутренний стержень и одевается чехлом. Отдельно синтезируются нити отростка. Затем составные части фага объединяются, образуя вирионы.
- **5я стадия.** Лизис бактериальной клетки и выход фага. Фаговый лизоцим гидролизует клеточную стенку и осуществляет лизис клетки. Бактериофаги выходят в окружающую среду.

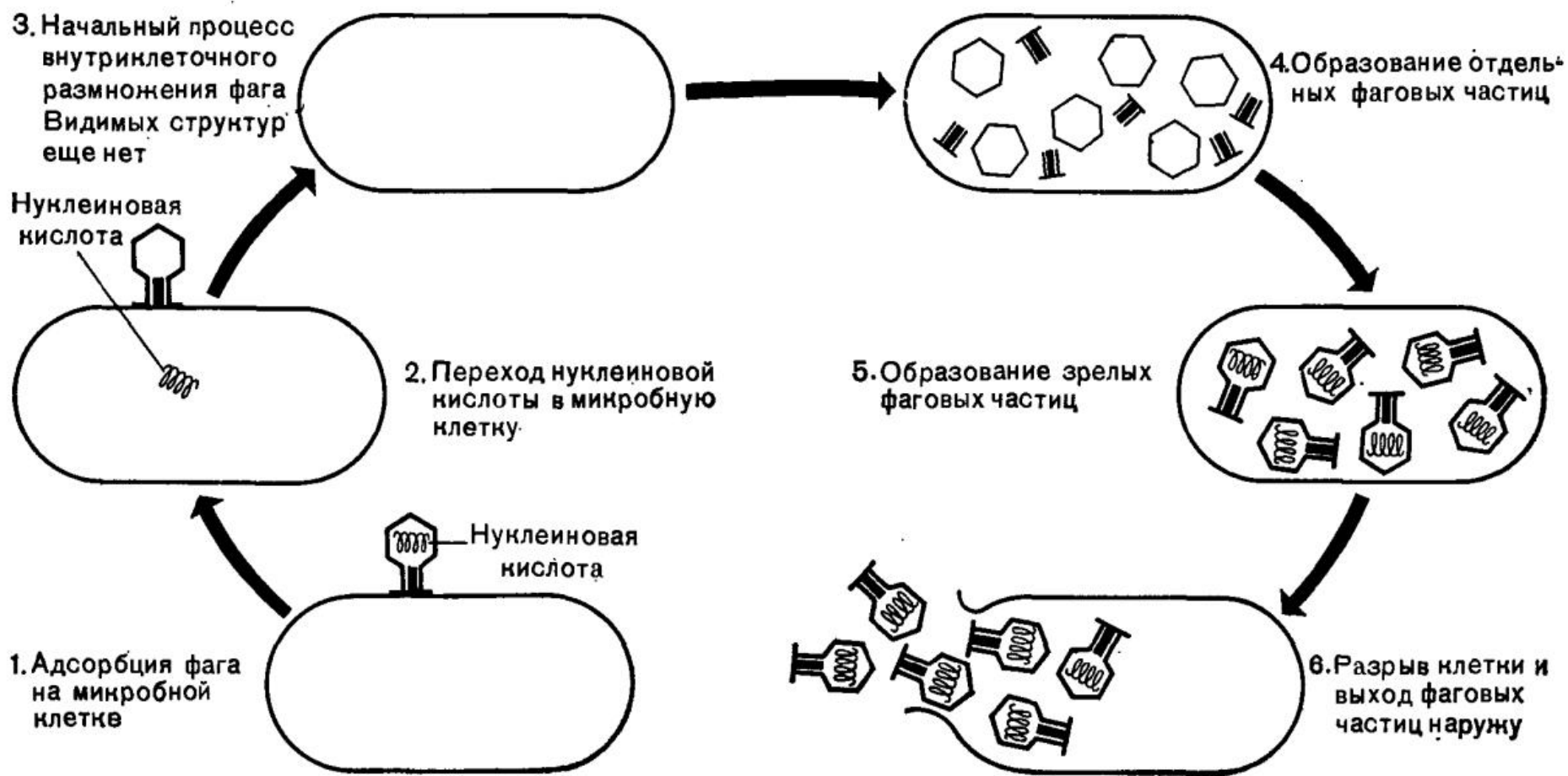
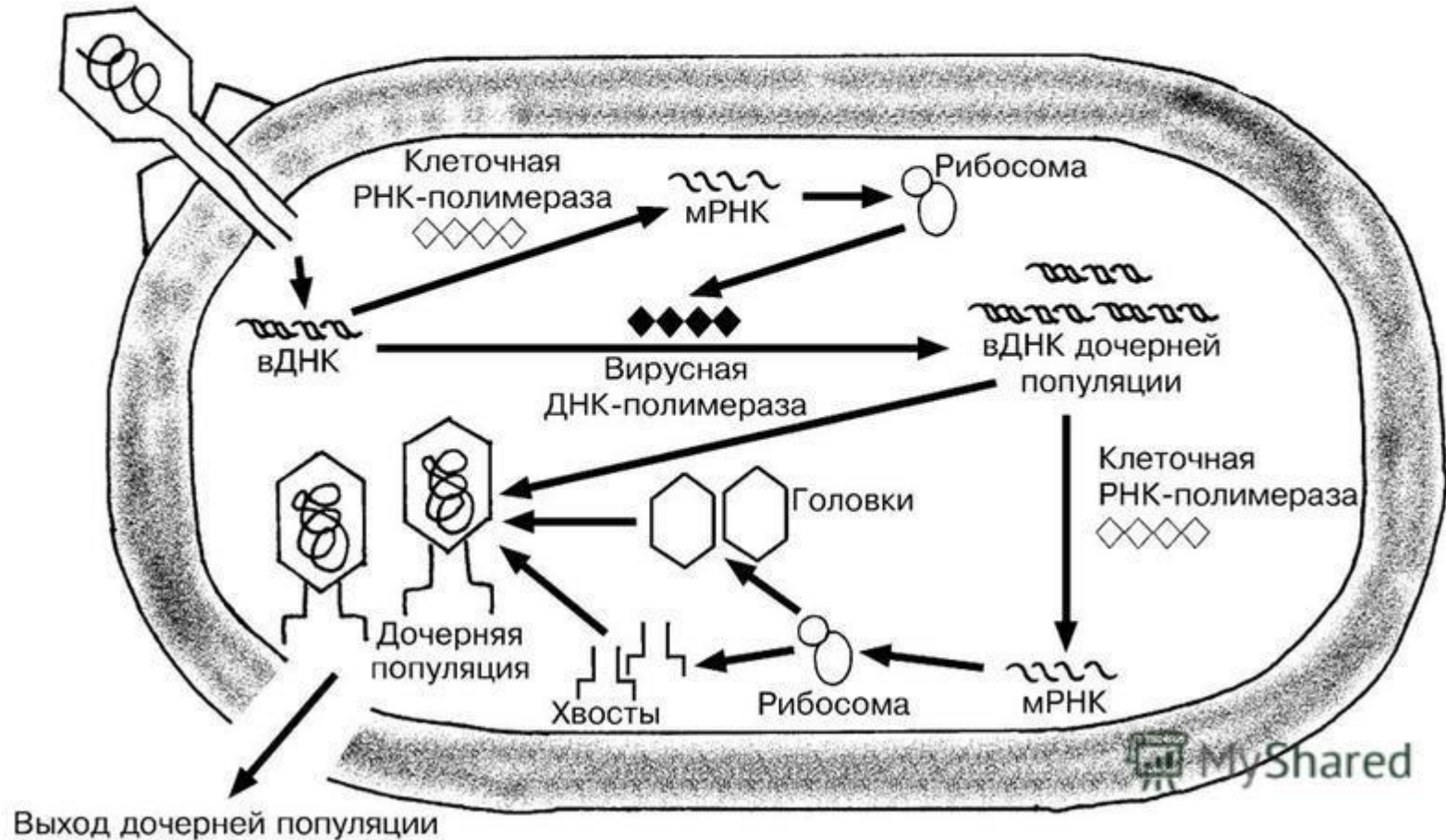


Рис. 212. Схема размножения фага.

Взаимодействие вирулентного фага с бактериальной клеткой



Интегративная инфекция (лизогения)

ДНК фага включается в кольцевую хромосому бактериальной клетки. Во время деления клетки профаг (интегрированная ДНК фага) реплицируется в составе клеточного генома и переходит в следующие поколения бактерий. Бактериальная культура, инфицированная умеренным фагом, сохраняет жизнеспособность и становится лизогенной.

Фаговая конверсия: процесс изменения свойств бактерии, под действием дополнительного набора генов, внесенных профагом в клетку, с приобретением ею токсигенных свойств (например, появление способности к образованию экзотоксина у возбудителей ботулизма, дифтерии, скарлатины).

Бактериофаги устойчивы к воздействию различных химических и физических факторов.

1. выдерживают колебания кислотности среды (рН) в пределах 5,0—8,0,
2. действие холодных водных растворов глицерина (до -200°C) и этанола, а также цианидов, фторидов, динитрофенола, хлороформа, тимола и фенола.

Разрушаются при кипячении, УФ-облучении, действии некоторых химических дезинфектантов.

Важное свойство бактериофагов

специфичность:

1. **Моновалентные фаги** - поражают только определённый вид бактерий
2. **Типовые фаги** - определенный штамм/вариант внутри вида (; например, фаги *V. Cholerae classica* и *El Tor*)
3. **Поливалентные фаги** - бактерии разных видов и даже родов

Применение бактериофагов.

1. Для диагностики инфекционных заболеваний.

- а) для определения видовой принадлежности выделенной культуры бактерий.
- б) для фаготипирования – внутривидовой дифференциации чистой культуры бактерий.
- в) с целью индикации возбудителя непосредственно в материале от больного с помощью РНФ (применяют редко).

Фаготипирование

Основа метода: с помощью типовых фагов дифференцируют культуры одного вида на основании их различной чувствительности к набору таких фагов, то есть выявляют фаготип, что позволяет выявить источник заболевания и пути его распространения.

Фаготипирование *S. typhi*.

Используют набор типовых Vi-фагов (А,В,С,Д,Е), каждый из которых лизирует культуры определенных фаговаров. Для типирования нужен фаг Vi-1, который лизирует все брюшнотифозные культуры, содержащие Vi- антиген, т.к. только такие культуры пригодны для постановки опыта.

2. Для профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

Для лечения инфекционных болезней широко применяют антибиотики, но их неправильное использование вызывает осложнения. В качестве альтернативной терапии используют бактериофаги.

Препараты бактериофага составлены из вирулентных бактериофагов широкого спектра действия, активных против антибиотикорезистентных бактерий. Их выпускают жидкими и лиофильно высушенными, в виде таблеток, кремов, мазей, свечей. Перед применением необходимо определить фагочувствительность возбудителя инфекции.

Использование бактериофагом в медицине началось в 20-х годах прошлого века. В период второй мировой войны советские ученые создали препарат на основе 19 видов бактериофагов.

в России зарегистрировано и производится 13 фаговых препаратов

Даже, если мир признает неэффективность антибиотических препаратов, природа нам подарила замечательных бактериофагов, которые спасут нас от антибиотикорезистентности бактерий. Бактериофаги также как и бактерии активно эволюционируют, что позволяет избежать возникновения стойких ко всему бактерий.

Наиболее употребляемые препараты бактериофагов.

- Коли- протейный (смесь фаголизатов *P.vulgaris* и *P.mirabilis*)
- Стафилококковый бактериофаг
- Бактериофаг псевдомонас аеругиноза
- Сальмонеллезный бактериофаг
- Бактериофаг поливалентный (смесь фаголизатов стафилококков, стрептококков, *E.coli*, *P.vulgaris* и *P.mirabilis*)



Достоинства фагов :

1. целенаправленно уничтожают микробы, малочувствительные к антибиотикам,
2. Быстро действуют и глубоко проникают в очаг инфекции;
3. не вызывают привыкания и побочных эффектов;
4. не подавляют и не нарушают действия человеческого организма,
не оказывают негативного воздействия на иммунитет;
6. не вызывают привыкания патогенных бактерий;
7. их можно сочетать со всеми лекарственными препаратами;
8. рекомендованы взрослым и детям;
9. изготавливаются с применением природного сырья.