

Нечаева О.В., Швиденко И.Г., Шуб Г.М.

Антибиотики

В методическом пособии рассмотрена история создания антибиотиков, представлена современная классификация, механизмы действия наиболее популярных групп препаратов, подробно описаны механизмы устойчивости микроорганизмов к различным антибиотикам и методы определения чувствительности бактерий к антимикробным препаратам. В заключительном разделе содержатся тесты для самоконтроля.

Список используемых сокращений

АБП – антибактериальные препараты

АМФ – аминогликозидмодифицирующие ферменты

БЛРС – β -лактамазы расширенного спектра

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ЛПС – липополисахарид

МЛС группа – макролиды, линкозамиды и стрептограминовые антибиотики

МПК – минимальная подавляющая концентрация

ПСБ – пенициллинсвязывающие белки

MRSA – метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus*

VRE – ванкомицинрезистентные энтерококки

VRSA – ванкомицинрезистентные *Staphylococcus aureus*

История создания химиотерапевтических препаратов и антибиотиков

Крупнейшим достижением медицины XX века является открытие антимикробных лекарственных препаратов, используемых для лечения инфекционных заболеваний.

Первые антибиотики были выделены еще до того, как стала известной их способность угнетать рост микроорганизмов. Так, в 1860 был получен в кристаллической форме синий **пигмент пиоцианин**, вырабатываемый бактериями рода *Pseudomonas*, но его антибиотические свойства были обнаружены лишь через много лет. В 1896 из культуры плесени удалось кристаллизовать еще одно химическое вещество такого рода, получившее название **микофеноловая кислота**.

Родоначальником научно обоснованной химиотерапии явился немецкий исследователь, лауреат Нобелевской премии Пауль Эрлих (1854-1915). Он установил, что химические вещества, содержащие мышьяк, губительно действуют на спирохеты и трипаносомы. После долгих испытаний в 1907 г. им был получен первый химиотерапевтический препарат, который получил **название «сальварсан»** и успешно использовался для лечения сифилиса.

В 1935 г. другой немецкий химик Г. Домагк (1885-1964) обнаружил среди анилиновых красителей вещество **пронтозил**, или красный стрептоцид, дававший хороший клинический эффект при лечении стрептококковой, гонококковой и менингококковой инфекции. За это открытие Г. Домагк был удостоен Нобелевской премии. Позднее было выяснено, что в организме происходит распад пронтозила с образованием сульфаниламида, обладающего антибактериальной активностью как *in vitro*, так и *in vivo*.

Среди первых исследователей, занявшихся целенаправленным поиском антибиотиков, был Р. Дюбо. Проведенные им и его сотрудниками эксперименты привели к открытию антибиотиков, вырабатываемых некоторыми почвенными бактериями, их выделению в чистом виде и использованию в клинической практике. В 1939 Дюбо получил **тиротрицин** – комплекс антибиотиков,

состоящий из грамицидина и тироцидина; это явилось стимулом для других ученых, которые обнаружили еще более важные для клиники антибиотики.

Первый антибиотик – пенициллин – был открыт английским микробиологом Александром Флемингом (1881-1955) в 1928 г. Он обнаружил, что при росте стафилококков на плотной питательной среде вокруг колоний плесневого гриба образуются зоны задержки роста. Приготовленный им фильтрат из плесневого гриба *Penicillium notanum* задерживал рост различных бактерий и не вызывал гибель лабораторных животных. Однако А. Флеминг не смог очистить активное вещество от примесей.

Дальнейшая разработка пенициллина была связана с работой, так называемой Оксфордской группы, во главе которой стояли Говард Флори (1898-1968) и Эрнст Чейн (1906-1979), которые получили пенициллин в кристаллическом виде. Чейн занимался выделением пенициллина, а Флори - испытанием его на животных. В результате был получен малотоксичный и эффективный пенициллин. 12 февраля 1941 года пенициллин был впервые применен для лечения человека. Промышленный выпуск препарата был налажен только в 1943 году в США, куда Флори передал технологию получения нового лекарства.

В 1945 году за создание пенициллина три ученых **Флеминг, Флори и Чейн были удостоены Нобелевской премии.**

Первый отечественный пенициллин (**крустозин**) был получен З.В. Ермольевой и Т.И. Балезиной с сотрудниками в 1942 г. из гриба *P. crustosum*. Этот штамм оказался продуктивнее английских и американских. К 1944 г в СССР было налажено промышленное производство пенициллина.

После 1940 г было получено множество клинически важных антибиотиков, в их числе бацитрацин, хлорамфеникол (левомицетин), хлортетрациклин, окситетрациклин, амфотерицин В, циклосерин, эритромицин, гризеофульвин, канамицин, неомицин, нистатин, полимиксин, ванкомицин, виомицин, цефалоспорины, ампициллин, карбенициллин, аминогликозиды, стрептомицин, гентамицин. В настоящее время открывают все новые и новые антибиотики.

Однако поиск новых антибиотиков - процесс длительный, кропотливый и дорогостоящий.

Термин «антибиотик» (от греч. «анти» - против, «биос» - жизнь) впервые был предложен американским микробиологом **С.А. Ваксманом в 1942 г, получивший в 1952 году Нобелевскую премию за открытие стрептомицина.** Этим термином он обозначил «химические вещества, образуемые микроорганизмами, которые обладают способностью подавлять рост или даже разрушать бактерии и другие микроорганизмы».

Однако З.В. Ермольева дала более широкое толкование этому понятию: «антибиотики – это вещества природного происхождения, обладающие выраженной биологической активностью. Они могут быть получены из микробов, растений, животных тканей и синтетическим путем».

Таким образом, в науке возникло и стало развиваться новое направление – учение об антибиотиках.

Требования, предъявляемые к антибиотикам

Все используемые на сегодняшний день или находящиеся в стадии апробации химиотерапевтические средства должны отвечать следующим требованиям:

1. высокая избирательность антимикробного эффекта в дозах, нетоксичных для организма;
2. отсутствие кумулятивного эффекта при сохранении стабильности внутри макроорганизма;
3. сохранение антимикробного эффекта в жидкостях организма и тканях, отсутствие или низкий уровень инактивации белками сыворотки крови, тканевыми энзимами;
4. хорошее всасывание, распределение и выведение препарата, обеспечивающие терапевтические концентрации в крови, тканях и жидкостях организма, которые должны быстро достигаться и поддерживаться в течении длительного периода; при этом особое значение

имеет создание высоких концентраций в моче, желчи, кале, очагах поражения;

5. удобная лекарственная форма для различных возрастных групп и локализации процесса, обеспечивающая максимальный эффект и стабильность в обычных условиях хранения.

Классификация антибиотиков

По происхождению антибиотики можно разделить на пять групп:

1. Антибиотики, образуемые грибами и лишайниками. Грибы и лишайники являются продуцентами активных антибиотиков. Например, в культуральной жидкости грибов *Penicillium notatum* содержится пенициллин, *Cephalosporium acremonium* – цефалоспорин.
2. Антибиотики, образуемые актиномицетами. Эти препараты получили наиболее широкое применение в медицинской практике. Из культуральных жидкостей некоторых актиномицетов были выделены следующие антибиотики: стрептомицин, неомицин, канамицин, хлортетрациклин, хлорамфеникол, эритромицин, леворин, новобиоцин, рифамицин, нистатин, гентамицин.
3. Антибиотики, выделенные из бактерий. Эта группа антибиотиков немногочисленна и имеет меньшее практическое значение, так как их эффективность значительно ниже, чем антибиотиков грибкового и актиномицетного происхождения. К ним относятся грамицидин, колицин, пиоцианин, субтилин, полимиксины и др. Продуценты таких антибиотиков – бактерии-сапрофиты с ярко выраженной биохимической активностью. Однако большинство этих препаратов токсичны при парентеральном введении, поэтому в основном их применяют местно.
4. Антибиотики животного происхождения. К этой группе препаратов относятся биологически активные вещества, выделяемые животными тканями. Эти вещества обладают не только антибиотическим действием, но и активизируют защитные силы макроорганизма, что позволяет

применять их как для лечения, так и для профилактики ряда заболеваний. К ним относятся эритроин, содержащийся в эритроцитах различных животных, экмолин, полученный из тканей рыб, лизоцим – полисахарид, выделенный из яичного белка, слюны.

5. Антибиотики растительного происхождения. Многие растения выделяют ряд биологически активных веществ – фитонцидов, которые способствуют защите растений от возбудителей различных заболеваний. Фитонциды открыты Б.П. Токиным в 1928 г. Наибольшими антибиотическими свойствами обладают фитонциды лука, чеснока, хрена, горчицы, алоэ, плодов можжевельника, почек березы, листьев черемухи, листьев эвкалипта и некоторых других растений. Они подавляют жизнедеятельность сарцин, стафилококков, стрептококков, кишечной палочки, протей и ряда других микроорганизмов. Некоторые фитонциды выделены в чистом виде. Например, аллицин, полученный из чеснока, подавляет рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, а рафанин выделенный из семян редиски, действует на грамположительные и грамотрицательные бактерии в разведении 1:100. Из зверобоя пронзеннолистного получен иманин, который применяется для лечения инфицированных ран и тяжелых ожогов.

По антимикробному спектру все антибиотики разделяют на две группы: **узкого и широкого спектра действия.** К антибиотикам узкого спектра относятся препараты, действующие только на определенную группу микроорганизмов. Например, **бензипенициллин оказывает губительное действие только на гноеродные кокки, некоторые грамположительные бактерии и спирохеты.** Сюда же относятся полиеновые антибиотики (нистатин, леворин, амфотерицин В), обладающие антимикробным действием только в отношении некоторых грибов и простейших.

Антибиотики с **широким спектром действия** обладают антибактериальной активностью в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий. К ним относятся цефалоспорины третьего

поколения, тетрациклины, левомицитин, аминогликозиды, макролиды, рифампицин.

По характеру действия на микроорганизмы антибиотики делятся на **бактерицидные, приводящие к гибели микробной клетки (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, полипептиды), и бактериостатические, которые задерживают рост и размножение возбудителей (тетрациклины, макролиды, левомицитин и др.).**

Общим для всех антибиотиков является то, что они влияют на **микроорганизмы в фазе активного роста и размножения.** Это связано с тем, что антибиотики вмешиваются в метаболизм клеток и никогда не повреждают готовые структуры покоящихся форм. Этим можно объяснить их опережающее воздействие на патогенные бактерии при относительно слабом влиянии на нормальную микрофлору. Патогенетически значимая колонизация требует от возбудителей быстрого размножения и усиленной метаболической активности. Это повышает уязвимость микроорганизмов для антимикробных агентов. Лишь длительное применение антибиотиков, поддерживающих их действующую концентрацию в организме, создает угрозу умеренно и малоактивным бактериям. Поэтому антибиотики менее эффективны при хронических, чем при острых инфекциях.

По механизму действия на микроорганизмы их можно разделить на несколько основных групп (рис. 1):

1. Антибиотики, ингибирующие синтез клеточной стенки (муреина) – β -лактамы (пенициллины, цефалоспорины, монобактамы и карбапенемы), гликопептиды.

2. Антибиотики, нарушающие функционирование цитоплазматической мембраны (полипептиды, полиены).

3. Антибиотики, подавляющие белковый синтез (тетрациклины, хлорамфеникол (левомицитин), аминогликозиды, макролиды, линкозамиды и стрептограминовые антибиотики (МЛС группа))

4. Антибиотики, избирательно подавляющие синтез нуклеиновых кислот (рифампицин).

Получение антибиотиков

Существует три основных способа получения антибиотиков:

1. **Биологический синтез.** Таким образом получают природные антибиотики – натуральные продукты ферментации, когда в оптимальных условиях культивируются микробы-продуценты, которые выделяют антибиотики в процессе своей жизнедеятельности.
2. **Биосинтез с последующей химической модификацией.** Так создаются полусинтетические антибиотики. Сначала путем биосинтеза получают природные антибиотики, а затем его первоначальная молекула видоизменяется путем химической модификации, например, присоединяются определенные радикалы, в результате чего улучшаются противомикробные и фармакологические характеристики препарата.
3. **Химический синтез.** Таким образом получают синтетические аналоги природных антибиотиков, например, хлорамфеникол/левомицетин. Это вещества, которые имеют такую же структуру, как и природные антибиотики, но их молекулы синтезированы химически.

В настоящее время широкое применения нашли антибиотики, полученные биосинтетическим путем. Путем направленного синтеза создаются полусинтетические аналоги естественных антибиотиков, в которых сохраняются их основные свойства в сочетании с дополнительными: устойчивость к действию микробных ферментов, продуцируемых резистентными штаммами, расширение спектра действия микроорганизмов. , а естественных антибиотиков с новыми.

Особенности строения клеточной стенки грамотрицательных бактерий

У **грамотрицательных бактерий** клеточная стенка ограничена двумя мембранами: наружной и внутренней (цитоплазматической). Наружная мембрана защищает клетку от литических ферментов, ингибиторов, многих антибиотиков, солей желчных кислот и др., и в то же время обеспечивает обмен

с окружающей средой питательными веществами и продуктами метаболизма. В связи с этим она устроена так, что является эффективным барьером для липофильных и достаточно высокомолекулярных соединений (обычно превышающих 600 Da) и проницаема для низкомолекулярных гидрофильных веществ. Особенности строения клеточной стенки грамотрицательных бактерий представлены на рис. 3.

В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит липополисахарид (ЛПС), который составляет внешний слой наружной мембраны. Молекула ЛПС состоит из трех частей: липида А, олигосахаридного остова и О-специфического полисахарида. Синтез этих частей происходит отдельно на плазматической мембране, затем происходит их соединение, перенос к наружной мембране и включение в нее.

Наружная мембрана грамотрицательных бактерий содержит ряд белков. Одни из них представляют собой **порины**, такие как **OmpC, OmpF** и **PhoE** в случае *E.coli*, которые олигомеризуются, образуя в мембране каналы (поры) для транспорта ионов и мелких молекул. Аналогичные пориновые белки описаны у *Salmonella, Neisseria, Haemophilus, Pseudomonas, и Rhodobacter capsulatis*.

Количество и тип порина может изменяться с изменением условий окружающей среды, таким образом бактериальная клетка регулирует проницаемость наружной мембраны в ответ на внешний стимул.

Порины - необычные мембранные белки: они имеют аминокислотный состав более полярный, чем водорастворимые белки; не содержат протяженных гидрофобных участков в полипептидной цепи, которые обычно присутствуют в интегральных белках плазматических мембран; и имеют бета-складчатую структуру в противоположность альфа-спиральной структуре большинства других мембранных белков. Несмотря на низкую степень гомологии первичной последовательности поринов из разных бактерий, их пространственные структуры подобны.

Молекула **порина состоит из трех идентичных мономеров**, т.е. является **тримером**. Каждый мономер представляет собой цилиндр, образованный 16-18 антипараллельными бета-тяжами, который окружает водонаполненный канал. Петли, соединяющие бета-тяжи, которые расположены со стороны периплазмы, очень короткие и содержат полярные остатки, в то время, как более длинные внешние петли богаты заряженными аминокислотами и свернуты в более сложные структуры. Доступ в канал с внешней стороны ограничен одной из наружных петель, которая погружена в пору, ограничивая ее размер и образуя сужение, “глазок”. Таким образом, канал имеет широкие вход и выход и узкую центральную часть. Заряженные остатки, локализованные в области “глазка”, сильно влияют на ион-селективность и проницаемость канала.

Каналы, образованные поринами, могут переключаться между открытым и закрытым состояниями. Три канала в тримере открываются высоко кооперативным образом. Они достаточно пластичны: могут существовать в двух и более конфигурациях. В настоящее время не известно, какие участки молекулы порина ответственны за динамические свойства каналов.

Порины иммуногенны, **они являются протективными антигенами**. В этом качестве порины обладают рядом преимуществ перед традиционно применяемыми липополисахаридами: они являются **видоспецифическими** антигенами, иммунный ответ к ним носит Т-зависимый характер, они не токсичны. Эти обстоятельства в последние годы привели к созданию на основе поринов эффективных препаратов для защиты от ряда инфекций.

Порины синтезируются на полисомах на внутренней стороне плазматической мембраны в виде белков-предшественников, которые затем переносятся через плазматическую мембрану секреторной системой (Sec) с участием белка SecY в качестве шеперона (белка-помощника), после чего с участием сигнальной пептидазы I превращаются в зрелые порины. Правильную ориентацию поринов в наружной мембране обеспечивают внутренние сигналы прекращения переноса. В результате этот белок пронизывает наружную мембрану в виде многочисленных петель, и

антипараллельные β -цепи в составе его молекулы образуют в мембране структуры наподобие бочонка.

Поры в наружной мембране служат для специфичного транспорта в клетку растворенных веществ, таких как фосфат (белок PhoE у *E.coli*, белок PhoP у *Pseudomonas*), глюкоза (белок PhoD у *Pseudomonas*) или мальтоза (белок LamB у *E.coli*), либо для менее специфичного транспорта мелких молекул (белки OmpC и OmpF у *E.coli*). Первые белки названы специфическими поринами, вторые – общими поринами.

Синтез поринов коррелирует с синтезом ЛПС. Включение поринов в наружную мембрану происходит в тесной ассоциации с ЛПС и сопровождается образованием поры. По-видимому, ЛПС важен для синтеза и функции поринов.

Структура и биосинтез пептидогликана

Пептидогликан (муреин) представляет собой сетчатую структуру – ригидный слой бактериальных клеточных стенок, который придает клеткам прочность. У грамположительных бактерий пептидогликан многослойный, у грамотрицательных он располагается в один слой. Пептидогликан включает в себя остов и два набора пептидных цепочек – боковых и поперечных. Остов пептидогликана одинаков у всех бактерий и состоит из чередующихся молекул аминсахаров – N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмураминовой кислоты, связанных между собой β -гликозидными связями. Боковые цепочки в каждой молекуле пептидогликана представлены набором идентичных тетрапептидов. Поперечные цепочки образованы пентапептидами, содержащими глицин (пентаглицин). У разных видов бактерий боковые и поперечные цепочки различны. В составе боковых цепочек пептидогликана обнаружены D-аминокислоты (D-аланин, D-глутамин). Боковые тетрапептиды связаны с N-ацетилмураминовой кислотой остова. Связывание боковых тетрапептидов между собой происходит путем образования поперечных пентаглициновых мостиков между D-аланином одной цепи и аминокислотой другого бокового пептида. Наличие двух типов связей придает пептидогликану структуру

молекулярной сети.

Биосинтез пептидогликана можно представить в виде четырех стадий:

1. Синтез УДФ-N-ацетилмурамовой кислоты

Уридинтрифосфат (УТФ) + N-Ацетилглюкозамин-1-Ф



УДФ-N-Ацетилглюкозамин + Фосфоенолпируват



Енолпирувил-УДФ-N-Ацетилглюкозамин + НАДФ·Н₂



УДФ-N-ацетилмурамовая кислота

2. Построение пентапептидной боковой цепи

Происходит последовательное присоединение пяти аминокислотных остатков к карбоксильной группе УДФ-N-ацетилмурамовой кислоты. Каждый этап этого процесса требует АТФ и специфического фермента. Первым присоединяется L-аланин, затем D-глутаминовая кислота и L-лизин. Биосинтез пентапептида завершается присоединением независимо синтезированного дипептида D-аланил-D-аланина. Итогом этого этапа является образование промежуточного продукта, который представляет собой УДФ-N-ацетилмурамовую кислоту с присоединенной к ней пептидной группой – «нуклеопентапептид»

УДФ-N-ацетилмурамовая кислота + L-аланин, D-глутаминовая кислота, L-лизин + D-аланил-D-аланин



«нуклеопентапептид»

1 и 2 этапы протекают в цитоплазме, откуда структурные единицы транспортируются на цитоплазматическую мембрану.

3. Ассоциированные с мембраной реакции, приводящие к образованию линейного пептидогликанового полимера

Образование линейного пептидогликана происходит внутри клетки в тесном контакте с цитоплазматической мембраной. Образовавшийся полимер содержит много полярных групп, что делает его растворимым в воде, он лишен жесткости и прочности.

4. Образование поперечных сшивок

Это конечная стадия образования пептидогликана, в результате которой теряет растворимость и приобретает жесткую структуру. Сшивки образуются между концевыми аминокетонами боковых пептидных цепей. Этот процесс протекает на наружной стороне цитоплазматической мембраны

Антибиотики, ингибирующие синтез клеточной стенки

Эта группа антибиотиков является наименее токсичной для макроорганизма, так как в клетках животных отсутствует пептидогликан, а, следовательно, и мишень для этих препаратов.

β -лактамы антибиотики

К β -лактамам относится большая группа антимикробных препаратов (пенициллинов, «комбинированных» препаратов, цефалоспоринов, монобактамов и карбапенемов), которые имеют гетероциклическую структуру и характеризуются наличием **β -лактамного кольца и бактерицидным действием на микробные клетки. Сходство химической структуры предопределяет одинаковый** механизм действия всех β -лактамов, а также перекрестную аллергию к ним у некоторых пациентов.

Мишенью действия β -лактамовых антибиотиков в микробной клетке являются **ферменты транс- и карбоксипептидазы**, участвующие в синтезе основного компонента как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов - **пептидогликана**. Благодаря способности связываться с пенициллином и другими β -лактамами эти ферменты получили второе название -

пенициллинсвязывающие белки (ПСБ). Молекулы ПСБ жестко связаны с цитоплазматической мембраной микробной клетки, они осуществляют образование поперечных сшивок. Поскольку пептидогликан является обязательным компонентом микробной клетки, все микроорганизмы, за исключением микоплазм и уреоплазм, в той или иной **степени чувствительны к β -лактамным антибиотикам.** Подавляющее большинство β -лактамных антибиотиков обладает высокой активностью в отношении грамположительных микроорганизмов, единственным исключением является группа монобактамов.

Связывание β -лактамных антибиотиков с ПСБ ведет к инаktivации последних, прекращению роста и последующей гибели микробной клетки. Таким образом, уровень активности определенных групп β -лактамов в отношении отдельных микроорганизмов в первую очередь определяется их аффинностью (сродством) к ПСБ. Для практики важно то, что чем ниже аффинность взаимодействующих молекул, тем более высокие концентрации антибиотика требуются для подавления функции фермента. Однако для взаимодействия с ПСБ антибиотику необходимо проникнуть из внешней среды через наружные структуры микроорганизма. У грамположительных микроорганизмов капсула и клеточная стенка не являются существенной преградой для проникновения β -лактамных антибиотиков. Однако эти препараты неспособны диффундировать через липополисахаридный слой грамотрицательных бактерий. Их единственным местом проникновения служат пориновые каналы внешней мембраны, которые являются основным путем транспорта питательных веществ внутрь бактериальной клетки.

Недостатками β -лактамных антибиотиков является устойчивость к ним факультативных или облигатных внутриклеточных микроорганизмов (риккетсии, хламидии, бруцеллы и др.) из-за неспособности препаратов проникать внутрь пораженных клеток. Истинной природной устойчивостью к β -лактамам обладают микоплазмы и уреоплазмы, поскольку у них отсутствует мишень для этих антибиотиков.

Учитывая высокую клиническую эффективность и низкую токсичность, β -лактамы антибиотики занимают ведущее место при лечении большинства инфекций.

Пенициллины

В настоящее время группа пенициллинов включает большое количество природных антибиотиков и их полусинтетических аналогов (табл. 1).

Таблица 1

Классификация пенициллинов

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Природные пенициллины	бензилпенициллин, феноксиметилпенициллин пролонгированные препараты – бензатинпенициллин или бициллин	стрептококковые, менингококковые, гонококковые инфекции; инфекции вызванные облигатными анаэробами и пенициллиназоотрицательными стафилококками, сифилис, профилактика ревматизма
Полусинтетические пенициллины	изоксазолилпенициллины (оксациллин, клоксациллин, диклоксациллин)	заболевания, вызванные стафилококками, продуцирующими β -лактамазу
	аминопенициллины (ампициллин, амоксициллин, бакампинициллин пивампициллин)	Заболевания, вызванные <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Salmolla spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> .
	карбокспенциллины (карбенициллин, тикарциллин)	Заболевания, вызванные представителями семейств <i>Enterobacteriaceae</i> (за исключением <i>Klebsiella sp.</i> , <i>Proteus sp.</i>) и <i>Pseudomonadaceae</i> («антисинегнойные» пенициллины).

	уреидопенициллины (азлоциллин, мезлоциллин, пиперациллин)	Заболелания, вызванные грамположительными (<i>Streptococcus</i> <i>spp.</i> , <i>Enterococcus</i> <i>spp.</i>) и грамотрицательными (<i>Escherichia</i> <i>coli</i> , <i>Proteus</i> <i>spp.</i> , <i>Shigella</i> <i>spp.</i> , <i>Yersinia</i> <i>spp.</i>) бактериями, <i>Clostridium</i> <i>spp.</i> и неспорообразующими анаэробы, «антисинегнойные пенициллины»
	Пенициллины, устойчивые к β -лактамазам (метициллин, оксациллин, клоксациллин, диклоксациллин, флуклосациллин)	Помимо микроорганизмов, чувствительных к природным пенициллинам, стафилококки, продуцирующие β -лактамазы

Карбоксипенициллины и уреидопенициллины чувствительны к большинству β -лактамаз грамположительных и грамотрицательных бактерий, поэтому госпитальные штаммы возбудителей часто резистентны к этим препаратам. Для профилактики быстрого развития устойчивости в процессе лечения антисинегнойные пенициллины рекомендуется назначать в комбинации с аминогликозидами или фторхинолонами. К недостаткам уреидопенициллинов относится их слабое антимикробное действие на стафилококки.

Цефалоспорины

Цефалоспорины характеризуются широким спектром антибактериального действия, более высокой устойчивостью к действию стафилококковых β -лактамаз, способностью проникать во многие ткани организма в терапевтических концентрациях и более низкой степенью связывания с белками сыворотки крови. В отличие от пенициллинов они реже вызывают аллергические реакции. В настоящее время антибиотики группы цефалоспоринов чаще всего назначают в лечебных учреждениях для профилактики и лечения инфекционных заболеваний. В зависимости от антимикробной активности, устойчивости к гидролитическому

действию β -лактамаз и клинической эффективности цефалоспорины делят на четыре поколения (таб. 2).

Таблица 2

Классификация цефалоспоринов

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Цефалоспорины I поколения	цефалотин, цефазолин, цефалоридин, цефапирин, цефрадин, цефалексин, цефаклор, цефадроксил	Заболелания, вызванные стрептококками, коринебактериями, пенициллиназопродуцирующими стафилококками, кишечной палочкой, трепонемами и клостридиями
Цефалоспорины II поколения	цефамандол, цефуросим, подгруппа цефамицинов (цефокситин, цефотетан, цефметазол), пероральные препараты – цефуросим аксетил, цефаклор	Заболелания, вызванные грамотрицательными бактериями (<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i> , <i>Neisseria spp.</i>), стафилококками, неспорообразующими анаэробами (особенно <i>Bacteroides fragilis</i>)
Цефалоспорины III поколения	цефотаксим (клафоран), цефтриаксон (роцефин), цефтазидим (фортум), моксалактам, цефсулодин, цефоперазон, цефодизим, цефтизоксим, цефменоксим, цефиксим, латамоксеф, лоракарбеф, цефтибутен, цефетамет пивоксил, цефподоксим проксетил	Заболелания, вызванные представителями семейства <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Neisseria spp.</i> , <i>Haemophyllus spp.</i> , MRSA, <i>Streptococcus spp.</i>
Цефалоспорины IV поколения	цефпиром, цефепим	Заболелания, вызванные стрептококками, стафилококками (за исключением MRSA),

		представителями семейства <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> и другими неферментирующими микроорганизмами
--	--	---

К недостаткам цефалоспоринов I поколения относятся отсутствие антимикробной активности против целого ряда грамотрицательных бактерий (представители родов *Serratia*, *Providentia*, *Morganella*, *Citrobacter*, *Bacteroides*), плохое проникновение через гематоэнцефалический и гематофтальмический барьеры, а также в ткани предстательной железы.

Цефалоспорины III поколения хорошо проникают через гематоэнцефалический барьер и устойчивы ко многим β -лактамазам (плазмидным β -лактамазам стафилококков, β -лактамазам широкого спектра грамотрицательных бактерий, хромосомным β -лактамазам класса A). Поэтому основным показанием к их назначению являются тяжелые гнойно-септические осложнения, вызванные полирезистентными грамотрицательными бактериями.

Однако их действие не распространяется на микроорганизмы, продуцирующие плазмидные β -лактамазы расширенного спектра, а при длительном применении эти антибиотики угнетают нормальную микрофлору организма и с целью своевременной профилактики вторичной инфекции требуют контроля колонизационной резистентности. По сравнению с цефалоспоридами I–II поколений они оказывают более слабое действие на стафилококки. Эмпирическое назначение цефалоспоринов III поколения без тщательного бактериологического контроля, особенно при монотерапии, может привести к селекции мультирезистентных штаммов бактерий.

Цефалоспорины третьего поколения обладают различной активностью в отношении псевдомонад. При инфекциях, вызванных синегнойной палочкой, препаратом выбора является цефтазидим (фортум). Несколько меньшей активностью обладает цефоперазон.

Цефтриаксон, цефтазидим, цефоперазон, цефсулодин слабо действуют на неспорообразующие анаэробы. Поэтому при неклостридиальной инфекции

необходимо сочетание этих антибиотиков с метронидазолом. Наибольшей активностью в отношении анаэробов среди цефалоспоринов III поколения обладает моксалактам.

Пенициллинрезистентные стрептококки (пневмококки, зеленящие стрептококки и др.) сохраняют чувствительность к цефалоспорином III поколения.

Характерными особенностями цефалоспоринов IV поколения являются относительная устойчивость к гидролизу хромосомными β -лактамазами класса C и плазмидными β -лактамазами расширенного спектра, а также более выраженная способность проникать через клеточную стенку грамотрицательных бактерий.

Монобактамы

Из монобактамных антибиотиков, или моноциклических β -лактамов, в клинической практике применяется только один антибиотик - **азтреонам (азактам)**. Азтреонам внедрен в клиническую практику в 1987 году. Он относится к синтетическим антибиотикам, обладающим бактерицидной активностью в отношении широкого спектра грамотрицательных аэробных и факультативно-анаэробных возбудителей (*семейство Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp., Neisseria spp.*). Этот препарат обладает резистентностью к большинству микробных β -лактамаз. При парентеральном введении азтреонам хорошо проникает в большинство жидкостей и тканей организма (в том числе в спинномозговую жидкость), обеспечивая создание в них лечебных концентраций.

К недостаткам монобактамов следует отнести перекрестную резистентность с аминогликозидами, дефекты в спектре действия против грамположительных кокков, слабую активность в отношении многих анаэробов.

Карбапенемы

Карбапенемы по сравнению с другими β -лактамными антибиотиками более устойчивы к гидролизующему действию бактериальных β -лактамаз и обладают более широким спектром активности (таб. 3). Эти препараты применяются при тяжелых инфекциях различной локализации, включая нозокомиальные, чаще как

препараты резерва, но при угрожающих жизни инфекциях могут быть рассмотрены в качестве первоочередной эмпирической терапии.

Таблица 3

Классификация карбапенемов

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Карбапенемы I поколения	имипинем	Включает практически всех основных возбудителей гнойно-септических инфекций, в том числе и пенициллинрезистентные стафилококки и стрептококки, эффективен в отношении возбудителей анаэробной инфекции
Карбапенемы II поколения	меропенем	Высоко активен в отношении грамотрицательных бактерий

Меропенем по сравнению с имипинемом характеризуется меньшей активностью в отношении стафилококков и стрептококков.

В последние годы в клинической практике появился новый препарат из группы карбапенемов – 1-бета-метил-карбапенем – эртапенем (МК-0826) фирмы Merk & Co., Inc., зарегистрированный в России под торговым названием “Инванц”. Эртапенем обладает широким антимикробным спектром, охватывающим грамположительные и грамотрицательные аэробные и анаэробные микроорганизмы. Эртапенем проявляет высокую активность (в ряде случаев превышающую имипинем) в отношении представителей семейства Enterobacteriaceae (особенно *Citrobacter diversus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus* spp., *Providencia* spp.). Эртапенем показал хорошую активность в отношении *Listeria monocytogenes*, оксациллинчувствительных стафилококков, *Streptococcus pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria*

gonorrhoeae. Эртапенем обладает низкой активностью или ее не проявляет в отношении неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*), энтерококков и оксациллинрезистентных стафилококков.

Экспериментальные и клинические исследования эртапенема указывают на его высокую эффективность в лечении широкого спектра внебольничных инфекций. Переносимость и безопасность препарата оказались сравнимы со стандартными препаратами.

17 июня 2008 г. в России был зарегистрирован новый антимикробный препарат из группы карбапенемов — дорипенем («Дорипрекс», компания Janssen-Cilag).

Дорипенем обладает широким спектром антимикробной активности в отношении грамположительных, грамотрицательных аэробных и анаэробных бактерий, в том числе в отношении грамотрицательных полирезистентных микроорганизмов. В сравнении с другими карбапенемами дорипенем обладает несколько более высокой *in vitro* активностью в отношении ряда грамотрицательных бактерий (включая *P. aeruginosa*). В клинических исследованиях была продемонстрирована хорошая переносимость и высокая эффективность дорипенема при осложненных интраабдоминальных инфекциях, осложненных инфекциях кожи и мягких тканей, мочевых путей, нозокомиальной (в том числе вентилятор-ассоциированной) пневмонии.

В настоящее время Управлением по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США рассматриваются результаты клинических исследований по использованию дорипенема при нозокомиальной и вентилятор-ассоциированной пневмониях. В Европе и Канаде дорипенем находится на стадии одобрения регуляторными органами. Кроме того, эффективность и безопасность дорипенема также дополнительно изучаются при инфекциях различной локализации, вызванных *P. aeruginosa*.

К недостаткам карбапенемов следует отнести устойчивость к ним MRSA.

Ингибиторозащищенные β -лактамы

Ингибиторозащищенные β -лактамы разработаны в связи с увеличением числа бактерий, продуцирующих β -лактамазы. Эти антибиотики представляют собой фиксированные комбинации пенициллинов или цефалоспоринов с ингибиторами β -лактамаз (сульбактамом, клавулановой кислотой, тазобактамом), которые не обладают существенной антибактериальной активностью, но содержат в своей структуре дополнительное β -лактамное кольцо (таб. 4). С его помощью ингибиторы способны необратимо связывать различные β -лактамазы, что способствует защите молекулы антибиотика от инактивации этими ферментами. В результате резистентные к пенициллинам штаммы микроорганизмов становятся чувствительными к комбинации этих препаратов с ингибиторами.

Таблица 4

Ингибиторозащищенные β -лактамы

Группа препаратов	Представители
«защищенные» аминопенициллины	Амоксиклав (аугментин) (амоксициллин/клавулановая кислота), уназин (ампициллин/сульбактам)
«защищенные» карбоксипенициллины	тикарциллин/клавуланат
«защищенные» уреидопенициллины	пиперациллин/тазобактам
«защищенные» цефалоспорины	цефоперазон/сульбактам

Благодаря устойчивости к действию стафилококковых β -лактамаз, плазмидных β -лактамаз широкого и расширенного спектров, хромосомных β -лактамаз класса А «защищенные» β -лактамы обладают выраженной активностью в отношении таких возбудителей, как *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter diversus*, *Proteus spp.*, *Bacteroides fragilis*, *Neisseria spp.* и др.

Широкое распространение среди госпитальных штаммов возбудителей-продуцентов хромосомных β -лактамаз класса С ограничивает использование ингибиторзащищенных β -лактамов. Наличие в составе препаратов различных ингибиторов β -лактамаз не дает преимуществ в отношении микроорганизмов,

устойчивость которых не связана с продукцией разрушающих антибиотики ферментов (пневмококки, энтерококки, псевдомонады и др.).

Ингибиторозащищенные β -лактамы широко применяются в клинической практике, причем ампициллин/сульбактам и амоксициллин/клавуланат преимущественно при внебольничных инфекциях, а тикарциллин/клавуланат и пиперациллин/тазобактам – при госпитальных. Показаниями для применения ингибиторозащищенных β -лактамов являются вызванные чувствительными к этим антибиотикам микроорганизмами инфекции дыхательных, мочевыводящих путей, смешанные аэробно-анаэробные гнойно-воспалительные поражения кожи и мягких тканей, а также использование в целях профилактики гнойно-септических осложнений при хирургических вмешательствах.

Гликопептиды

К гликопептидам относятся антибиотики узкого спектра действия (таб. 5).

Таблица 5

Гликопептиды

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Гликопептиды	Ристомидин, ванкомицин, зарубежом тейкопланин	MRSA, <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> (в т.ч. <i>Clostridium difficile</i>), <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i>

Гликопептиды обладают уникальным механизмом действия, который существенно осложняет возможность развития резистентности. В отличие от большинства АБП мишенью действия гликопептидных антибиотиков являются не ферменты, а **структурный элемент клеточной стенки микроорганизмов**. Гликопептиды связываются с терминальным дипептидом (D-аланил–D-аланин) боковой цепи предшественника пептидогликана, блокируя, таким образом, синтез этого биологического полимера.

По спектру антимикробной активности ванкомицин и тейкопланин значительно не отличаются. Ванкомицин более активен в отношении коагулазоотрицательных стафилококков, а тейкопланин — по отношению к золотистым стафилококкам, стрептококкам и энтерококкам.

К недостаткам этих препаратов относится отсутствие антимикробной активности в отношении грамотрицательных бактерий и внутриклеточных возбудителей. Гликопептиды практически не всасываются при приеме внутрь.

Отмечен синергизм гликопептидов в отношении чувствительных микроорганизмов при сочетании гликопептидов с β -лактамами, аминогликозидами, фторхинолонами и рифамицинами.

Антибиотики, нарушающие функционирование цитоплазматической мембраны

Полипептидные антибиотики

Представителями полипептидных антибиотиков являются полимиксины, бацитрацин и грамицидин С (таб. 6).

Таблица 6

Полипептидные антибиотики

Представители	Спектр антимикробного действия
Полимиксин В, Полимиксин Е (колистин) Полимиксин М	грамотрицательные микроорганизмы (сем. <i>Enterobacteriaceae</i> , неферментирующие бактерии), «антисинегнойные препараты»
Бацитрацин	грамположительные микроорганизмы
Грамицидин С	грамположительные и некоторых грамотрицательные (<i>Neisseria spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Vibrio spp.</i>) микроорганизмы

Механизм действия бацитрацина и грамицидина связан с образованием комплекса с ацил-D-аланином мукопептида клеточной стенки бактерии, нарушением формирования оболочки микроорганизмов и проницаемости их цитоплазматической мембраны, а также с угнетением синтеза предшественников

пептидогликана за счет нарушения синтеза РНК. Полимиксины нарушают функцию клеточной мембраны. Они взаимодействуют с фосфолипидами цитоплазматической мембраны бактериальной клетки по типу поверхностно-активных веществ и нарушают их проницаемость и транспортные механизмы, что приводит к их гибели в результате изменения осмотического баланса.

Недостатком полимиксинов является природная устойчивость к ним грамположительных микроорганизмов и грамотрицательных аэробных кокков, однако приобретенная резистентность развивается редко, и ее механизмы изучены недостаточно. Полипептидные антибиотики обладают нефро- и нейротоксическим действием, поэтому используются преимущественно местно в виде мазей, глазных капель и т.д.

Полиены

Полиены – это природные противогрибковые препараты (антимикотики), которые продуцируют виды *Streptomyces*. Эти препараты используются для лечения поверхностных и тяжелых глубоких микозов (табл.7).

Таблица 7

Полиеновые антибиотики

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Полиены	нистатин, леворин, амфотерицин В, амфоглюкамин, микогептин	<i>Candida spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> и пр.

Полиены обладают широким спектром противогрибковой активности. Нистатин активен в отношении грибов рода *Candida*. Плохо всасывается в желудочно-кишечном тракте и выводится в неизменном виде с фекалиями. Применяют внутрь для лечения и профилактики заболеваний, вызываемых *Candida*. Леворин проявляет активность в отношении дрожжеподобных грибов (в частности, рода *Candida*) и некоторых простейших (*Trichomonas vaginalis*). Антибиотик практически не всасывается при приеме внутрь и выводится в

неизмененном виде с фекалиями. Применяют для лечения трихомониаза половых органов и заболеваний, вызываемых *Candida*. Амфотерицин В обладает широким спектром противогрибкового действия, включающим р. *Cryptococcus*, р. *Blastomyces*, р. *Histoplasma*, устойчивые к действию других противогрибковых антибиотиков. К амфотерицину В слабочувствительны возбудители зигомикоза (*Mucor spp.*, *Rhizopus spp.* и др.) и устойчивы дерматомицеты (*Trichophyton*, *Microsporum* и *Epidermophyton spp.*) и др. Амфотерицин В обладает фунгистатическим действием. Применяется для лечения генерализованных микозов и некоторых других грибковых заболеваний (гистоплазмоз, бластомикоз, криптококков, кандидосепсис и др.). Амфоглюкамин является водорастворимым препаратом амфотерицина Б и применяется внутрь. Микогептин близок по химическому строению амфотерицину В; активен в отношении возбудителей глубоких микозов и дрожжеподобных грибов. Полиены также активны в отношении некоторых простейших – трихомонад, лейшманий и амёб.

Полиены в зависимости от их концентрации могут оказывать фунгиостатическое и фунгиоцидное действие. Эти препараты связываются с эргостеролом грибковой мембраны, что ведет к нарушению ее целостности, потере содержимого цитоплазмы и гибели клетки.

Антибиотики, подавляющие белковый синтез

Аминогликозиды

Аминогликозиды – одна из старейших групп антибиотиков природного и полусинтетического происхождения. Их молекулы содержат аминсахара, которые соединены гликозидной связью с агликоновым фрагментом. Аминогликозидные антибиотики на протяжении многих лет широко используются в клинической практике (табл. 8). Они обладают бактерицидным типом действия и по частоте применения в лечебных учреждениях занимают второе место после β -лактамов. В отличие от последних аминогликозиды очень редко вызывают аллергические реакции. Механизм действия препаратов этой группы связан с подавлением

синтеза белка за счет повышения сродства аминоацил-тРНК к А-сайту. Это приводит к связыванию ошибочных, не соответствующих кодону матрицы аминоацил-тРНК и обуславливает ошибки при считывании генетической информации. В результате в пептидную цепь включаются необычные аминокислоты и синтезируются неактивные молекулы белка.

Таблица 8

Классификация аминогликозидов

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Аминогликозиды I поколения	стрептомицин	возбудители особо опасных инфекций (чума, туляремия, бруцеллез) и <i>Mycobacterium spp.</i>
	канамицин	кишечная форма стафилококковой инфекции, шигеллезы и колиэнтериты,
	неомицин	токсичен, применяется только местно
Аминогликозиды II поколения	гентамицин	инфекции, вызванные условно-патогенными энтеробактериями, синегнойной палочкой и другими неферментирующими микроорганизмами
Аминогликозиды III поколения	сизомицин, тобрамицин, амикацин	Заболевания, вызванные грамотрицательными бактериями (<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Pseudomonas spp.</i>) и стафилококками

Аминогликозидные антибиотики применяют преимущественно при инфекционно-воспалительных процессах, вызванных грамотрицательными

бактериями. Бактерицидный эффект усиливается при сочетании этих препаратов с аминопенициллинами (против листерий, стрептококков и энтерококков), прочими β -лактамами и фторхинолонами (против грамотрицательных бактерий), гликопептидами (против стрептококков и энтерококков), линкозамидами и цефамицинами (против облигатных анаэробов) и котримоксазолом (против нокардий). При энтеральном применении аминогликозиды практически не всасываются и оказывают только местное действие. В связи с этим, а также с учетом антимикробного спектра, препараты канамицин и неомицин используют в предоперационном периоде для селективной деконтаминации кишечника (при подготовке больных к операциям на желудочно-кишечном тракте).

Общими недостатками аминогликозидов являются отсутствие антимикробной активности в отношении внутриклеточно расположенных возбудителей, плохое проникновение через гематоэнцефалический барьер (увеличение проницаемости при воспалении мозговых оболочек), а также наличие потенциальных ото- и нефротоксического эффектов.

Амикацин реже, чем другие аминогликозиды, дает побочные эффекты, обладает выраженной устойчивостью к аминогликозидмодифицирующим ферментам и хорошими фармакокинетическими свойствами (легко проникает в ткани организма, в центральную нервную систему, слабо связывается с белками сыворотки крови и др.). Устойчивые к амикацину грамотрицательные бактерии, как правило, устойчивы и к другим аминогликозидам.

Сизомицин превосходит другие аминогликозиды по степени антибактериальной активности в отношении ряда грамотрицательных возбудителей.

Основными показаниями для назначения аминогликозидов II—III поколений являются антимикробная профилактика и терапия инфекций, вызванных грамотрицательными возбудителями.

Тетрациклины

Это группа антибиотиков, которые продуцируют виды *Streptomyces*. Тетрациклины относятся к антибиотикам широкого спектра действия, однако, в последние годы в связи с широким распространением тетрациклиноустойчивых штаммов применение этих препаратов существенно снизилось (табл. 9).

Таблица 9

Тетрациклины

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Полусинтетические тетрациклины	доксициклин (вибрамицин), метациклин (рондомицин), миноциклин, ролитетрациклин, окситетрациклин, хлортетрациклин, морфоциклин	грамположительные (<i>Bacillus anthracis</i> , <i>Clostridium spp.</i>) и грамотрицательные (<i>Brucella spp.</i> , <i>Campylobacter spp.</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Shigella, spp.</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Yersinia spp.</i> , <i>Helicobacter pylori</i>) микроорганизмы, а также внутриклеточно расположенные возбудители (хламидии, микоплазмы и риккетсии)

Механизм действия этой группы антибиотиков заключается в связывании с 30S-субъединицей бактериальной рибосомы, а местом непосредственного приложения их антибактериального эффекта является подавление энзимов, катализирующих связывание тРНК с рибосомальными акцепторами, что нарушает включение новых аминокислот в полипептидную цепь. Синергетическое действие на микробную клетку наблюдают при сочетании тетрациклинов с макролидами, линкозамидами и рифампицином.

К недостаткам тетрациклинов следует отнести отсутствие антимикробной активности в отношении многих важных возбудителей. Основной причиной

возрастания антибиотикорезистентности бактерий к тетрациклинам является селекция естественно существующих устойчивых вариантов. Чаще всего резистентные к тетрациклинам штаммы обнаруживают среди стафилококков, пневмококков, энтерококков, стрептококков и грамотрицательных бактерий. Устойчивостью к тетрациклинам обладают многие представители семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacteroides spp.*

При возникновении аллергических реакций к антибиотикам пенициллиновой группы тетрациклины используют как альтернативные препараты. Наибольшее клиническое применение среди тетрациклинов получил доксициклин. Он обладает активностью в отношении большого числа грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, характеризуется пролонгированным действием и хорошим проникновением в ткани и жидкости организма, однако оказывает только бактериостатический эффект. Самым активным представителем этой группы антибиотиков является миноциклин, но в России он применяется пока редко.

Макролиды, линкозамиды и стрептограминовым антибиотикам (МЛС группа)

Объединение перечисленных антибиотиков в одну группу связано с общностью их механизмов действия и резистентности к ним микроорганизмов (табл. 10).

Таблица 10

Классификация МЛС-антибиотиков

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Макролиды	Макролиды I поколения (эритромицин, олеандомицин, спирамицин) Макролиды II поколения (кларитромицин, диритромицин, флуритромицин, азитромицин,	грамположительные и некоторые грамотрицательные аэробные бактерии, облигатных анаэробов (<i>Clostridium spp.</i>) и неспорообразующих анаэробов, за исключением

	мидекамицин, джозамицин, рокитамицин)	<i>Bacteroides fragilis</i> .
Линкозамиды	Линкомицин, клиндамицин	грамположительные бактерии, большинство штаммов р. <i>Clostridium</i> , неспорообразующие анаэробы
Стрептограминовые антибиотики	Пристинамицин, синерцид	

Спектр действия МЛС, за некоторыми исключениями, ограничен грамположительными микроорганизмами (эти соединения являются относительно высокомолекулярными, их диффузия через пориновые каналы липополисахаридного слоя грамотрицательных микроорганизмов затруднена).

Несмотря на различия в структуре, все эти антибиотики имеют общий участок связывания с рибосомой. Механизм действия МЛС препаратов заключается в подавлении биосинтеза белка в микробной клетке в результате связывания антибиотиков с 50S субъединицей рибосомы.

В группу **макролидов** входят природные и полусинтетические антибиотики, основу химической структуры которых составляет лактонное кольцо. В настоящее время группа макролидов насчитывает более десяти различных антибиотиков. В зависимости от числа атомов углерода в лактонном кольце их делят на 14-членные (эритро-, олеандо-, рокситро-, кларитро-, диритро- и флуритромицин), 15-членные (азитромицин) и 16-членные *макролиды*.

Антимикробное действие макролидов обусловлено нарушением синтеза белка на этапе трансляции в клетках чувствительных микроорганизмов. Молекула антибиотика способна обратимо связываться с каталитическим пептидил-трансферазным центром (P-site) рибосомальной 50S-субъединицы и вызывать отщепление комплекса пептидил-тРНК (представляющего собой растущую пептидную цепь) от рибосомы. При этом нарушается цикличность последовательного присоединения пептидной цепи к пептидил-трансферазному центру (P-сайт) и акцепторному аминоксил-тРНК-центру (A-сайт) 50S-субъединицы, то есть ингибируются реакции транслокации и транспептидации.

В результате приостанавливается процесс формирования и наращивания пептидной цепи. Связывание макролидов с 50S-субъединицей возможно на любой стадии рибосомального цикла.

Преимущества макролидов II поколения заключаются в большей продолжительности антимикробного действия и лучшей переносимости больными. Макролиды II поколения характеризуются более высокой устойчивостью к низким значениям pH.

Макролиды являются одной из самых безопасных групп антибиотиков, поскольку, обладая выраженной противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью, характеризуются низкой токсичностью, слабыми аллергизирующими свойствами и практически не накапливаются в тканях человеческого организма. По способности проходить через гистогематические барьеры (за исключением гематоэнцефалического) макролиды превосходят β -лактамы и аминогликозидные антибиотики.

Наиболее ценным качеством макролидов является высокая активность в отношении внутриклеточных микроорганизмов, что связано с хорошим проникновением этих антибиотиков в фагоциты. Макролиды обладают способностью накапливаться в микро- и макрофагах и таким образом попадать в очаг воспаления, где под действием бактериальных и клеточных энзимов происходит выделение антибиотиков в инфицированные ткани.

Синергитический антимикробный эффект наблюдается при комбинации макролидных антибиотиков с тетрациклинами, фторхинолонами и фузидином, антагонистический — при сочетании с линкозамидами и хлорамфениколом.

К недостаткам макролидов относится отсутствие активности в отношении большинства грамотрицательных бактерий, MRSA, энтерококков и нокардий.

Отмечается перекрестная резистентность макролидов с линкозамидами.

Олеандомицин в настоящее время применяют очень редко из-за слабой активности и довольно высокой токсичности. Наибольшей активностью против грамотрицательных бактерий обладает азитромицин, который обеспечивает хороший клинический эффект при гонококковой инфекции. Кларитромицин

превосходит другие макролиды по действию на стафилококки, стрептококки, хламидии и микобактерии. Их назначают также в случае повышенной чувствительности больных к пенициллинам и цефалоспорином.

Линкозамиды отличаются от макролидов по химическому составу, но имеют с ними ряд общих свойств. Они быстро проникают в костную ткань, обладают низкой токсичностью. Отмечается синергизм при взаимодействии линкозамидов с тетрациклинами и метронидазолом и антагонистические отношения при сочетании с макролидами и хлорамфениколом.

По сравнению с линкомицином клиндамицин обладает более выраженным антимикробным эффектом, лучшими фармакокинетическими свойствами и меньшим количеством побочных реакций. Эти препараты характеризуются практически полной перекрестной резистентностью, обусловленной метилированием участка связывания рибосом.

К недостаткам линкозамидов следует отнести перекрестную резистентность с макролидами, отсутствие активности в отношении грамотрицательных аэробных бактерий и внутриклеточных паразитов.

Стрептограминовые антибиотики в РФ не распространены, в других странах применяют пристинамицин, внедряется в медицинскую практику препарат синерцид (комбинация двух стрептограминов – хинупристина и дальфопристина).

Амфениколы

К этой группе препаратов относятся антибиотики, в молекулу которых входит структура фенила (табл. 11).

Таблица 11

Амфениколы

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Амфениколы	Левомецетин (хлорамфеникол),	широкий спектр антимикробной активности

	тиамфеникол	(активны в отношении <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , некоторых представителей сем. <i>Enterobacteriaceae.</i> ; <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Brucella spp.</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Peptococcus spp.</i> , <i>Peptostreptococcus spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i>)
--	-------------	---

Механизм действия амфениколов заключается в подавлении биосинтеза белка в результате связывания с ферментом пептидилтрансферазой — одним из компонентов бактериальной рибосомы.

Устойчивость к амфениколам проявляют представители родов *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Serratia*, *Providentia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Shigella*.

Из недостатков амфениколов следует отметить высокую токсичность, в результате которой при длительном применении или высоких дозировках происходит угнетение кроветворения. У устойчивых к хлорамфениколу штаммов часто отмечается перекрестная резистентность к другим антибиотикам (пенициллинам, аминогликозидами, тетрациклинам и др.).

Синтомицин (действующим началом которого является хлорамфеникол) и тиамфеникол применяются преимущественно местно.

Антибиотики, избирательно подавляющие синтез нуклеиновых кислот

Ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот обладают не только антимикробной, но и цитостатической активностью и поэтому используются как противоопухолевые средства. Примером таких антибиотиков является группа рифампицина (табл. 12). Механизм действия этих препаратов заключается в

ингибировании ДНК-зависимой РНК-полимеразы, что приводит к блокированию синтеза белка на уровне транскрипции.

Рифамицины хорошо проникают в костную ткань, плевральный и перитонеальный экссудаты, гематоэнцефалический барьер, желчь и мочу.

Таблица 12

Рифамицины

Группа антибиотиков	Представители	Спектр антимикробного действия
Рифампицины	рифампицин, рифамицин, рифабутин и др.	грамположительные, некоторые грамотрицательные и внутриклеточные возбудители, активны в отношении микобактерий

Синергизм в отношении чувствительных микроорганизмов отмечен при комбинации рифамицинов со многими антибактериальными препаратами. Перекрестная устойчивость с антибиотиками других классов не выявлена.

К недостаткам рифампицинов относится отсутствие антимикробной активности в отношении большинства энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных бактерий.

Перспективы лечения заболеваний, вызванных полирезистентными грамположительными микроорганизмами

Грамположительные инфекции представляют серьезную проблему современной медицины в связи с глобальным ростом устойчивости этих микроорганизмов к традиционным антибактериальным средствам. Особую проблему в стационарах представляют инфекции, вызванные MRSA. Значительно реже в нашей стране встречаются инфекции, вызванные резистентными энтерококками. Однако высокая частота этих инфекций в США, появление их в Европе позволяют прогнозировать распространение этих

штаммов и в нашу страну. Инфекции, вызванные ванкомицинорезистентными *E. faecium* (VRE), до появления в клинической практике линезолида практически были некурабельны.

Линезолид является первым представителем нового класса антимикробных средств – оксазолидинонов, которые характеризуются уникальным механизмом действия на микробную клетку и отсутствием перекрестной резистентности с другими антибиотиками. Механизм действия линезолида связан с ингибированием синтеза белка в рибосомах бактериальной клетки. В отличие от других антибиотиков, ингибирующих синтез белка, линезолид воздействует на ранних этапах трансляции (необратимое связывание с 30S- и 50S-субъединицей рибосом), в результате чего нарушаются процесс образования 70S-комплекса и формирование пептидной цепи. Благодаря этому не отмечается перекрестной устойчивости микроорганизмов к линезолиду и другим антибиотикам, действующим на рибосомы (макролиды, линкозамиды, стрептограммины, аминогликозиды, тетрациклины и хлорамфеникол).

Линезолид проявляет высокую активность в отношении грамположительных микроорганизмов – стафилококков, энтерококков, пневмококков, различных стрептококков (группы А, В, С, группы Viridans), анаэробных кокков и клостридий, а также некоторых других микроорганизмов. Грамотрицательные аэробные микроорганизмы природно устойчивы к линезолиду, за исключением *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Legionella spp.*, которые проявляют умеренную чувствительность.

В контролируемых клинических исследованиях доказана высокая эффективность линезолида при различных инфекциях, вызванных резистентными грамположительными микроорганизмами (MRSA, VRE). Также показано преимущество линезолида над ванкомицином при лечении пациентов с нозокомиальной пневмонией, что, скорее всего, связано с лучшим проникновением препарата в ткань легких.

Таким образом, в клинической практике появился очень важный и перспективный новый антибактериальный препарат, позволяющий разрешить проблему лечения инфекций, вызванных резистентными грамположительными бактериями.

Механизмы резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ

Основой терапевтического действия антимикробных препаратов является подавление жизнедеятельности возбудителя за счет угнетения различных метаболических процессов, которое происходит в результате связывания антибиотика с мишенью, в качестве которой может выступать либо фермент, либо структурная молекула микроорганизма.

Различают два основных типа лекарственной резистентности микроорганизмов: **природную** и **приобретенную**.

Природная устойчивость обусловлена **отсутствием или недоступностью** у микроорганизмов мишени действия антибиотика. Примером может служить резистентность микоплазм и псевдомонад к бензилпенициллину или бактерий к противогрибковым препаратам. При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики клинически неэффективны. **Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов** и легко прогнозируется.

Актуальной проблемой является **приобретенная устойчивость**, которая связана со способностью отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при концентрациях антибиотиков, которые подавляют рост основной части микробной популяции. **Приобретенная устойчивость (первичная и вторичная) обусловлена изменением генома микробной клетки в результате мутаций или внехромосомного (плазмидного) переноса генетической информации от одной микробной клетки к другой с последующей селекцией устойчивых штаммов микроорганизмов.** Первичная

устойчивость возбудителей имеет место еще до начала лечения антимикробными препаратами, а **вторичная** устойчивость развивается и возрастает в процессе антимикробной терапии.

Формирование резистентности во всех случаях обусловлено генетически: приобретением новой генетической информации или изменением уровня экспрессии собственных генов. Основным механизмом **приобретенной** резистентности **реализуется за счет R-плазмид** (от англ. *resistance* - устойчивость), **которые содержат гены, определяющие устойчивость к одному или нескольким антимикробным препаратам.** Плазмиды легко передаются микроорганизмам разных видов, родов и даже семейств посредством трансформации, трансдукции и конъюгации. Легкость передачи плазмид лежит в основе **эпидемического распространения антибиотикорезистентности** в условиях лечебного учреждения. **Гены множественной лекарственной устойчивости** также могут локализоваться в транспозонах, интегрированных в плазмиды.

В последние годы были открыты новые генетические элементы микроорганизмов - **интегроны**, которые определяют возникновение и распространение множественной лекарственной устойчивости. **Интегроны** — мобильные генетические элементы, способные **осуществлять встраивание и экспрессию внутри себя различных генов (обычно генов антибиотикорезистентности) в составе генетических кассет.** Встраивание осуществляется **ферментом-интегразой**, ген которой находится в составе **интегрона.** Интегроны располагаются на плаزمиде или бактериальных хромосомах. Бактерии способны захватывать **интегроны** из окружающей среды с последующим их встраиванием в геном. Интегроны - природные системы **горизонтального переноса генов, обладающие способностью к захвату фрагментов чужеродной ДНК.** Интегроны состоят из двух частей: **интегронной платформы и так называемых кассет или кассетных генов.** Более 70 различных кассет содержат гены, определяющие устойчивость к

большинству классов антибиотиков, используемых в медицине: бета-лактамам, аминогликозидам, хлорамфениколу, эритромицину и рифампицину

Хромосомный тип приобретенной резистентности обусловлен спонтанными мутациями в участках, контролирующих чувствительность к определенному антибиотику. Спонтанные мутации в микробных популяциях встречаются довольно редко, поэтому хромосомный тип устойчивости имеет гораздо меньшее значение, чем плазмидный. Мутации не являются направленными и не связаны с воздействием химиопрепаратов на микробную клетку. Антимикробные препараты играют роль селективных агентов, под действием которых происходит устранение чувствительных микробных клеток и накопление резистентных.

Все многообразие биохимических механизмов устойчивости к антибактериальным препаратам (АБП) можно объединить в несколько групп:

1. Модификация чувствительной мишени. В результате естественного мутационного процесса в микробных клетках может снижаться или утрачиваться способность к связыванию с АБП при сохранении функциональной активности возбудителя.

2. Инактивация АБП. Поскольку природные антибиотики синтезируются микроорганизмами для конкурентной борьбы за питательный субстрат, то в процессе эволюции появились механизм защиты продуцента от собственных антибиотиков, а в дальнейшем и от биосинтетических. **В отличие от антибиотиков (веществ природного происхождения) химиотерапевтические препараты микробной клеткой, как правило, не инактивируются.**

3. Активное выведение АБП из микробной клетки (эффлюкс). Этот механизм ранее был известен в отношении тетрациклиновых антибиотиков. Однако в последнее время повышается роль этого механизма в устойчивости микроорганизмов к АБП других групп. У микроорганизмов обнаружены сложные транспортные системы белковой природы, осуществляющие выведение из внутренней среды микробной клетки целых классов химических веществ.

4. Нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки.

Этот механизм распространен, в основном, среди грамотрицательных бактерий, обладающих внешней мембраной, является наименее специфичным и затрагивает АБП различных классов. Основные мишени действия антибиотиков в микробной клетке локализованы либо в цитоплазматической мембране, либо в более глубоких цитоплазматических структурах. Для достижения чувствительной мишени АБП должен преодолеть внешние структуры микробной клетки. Основным препятствием для АБП является липополисахаридный слой грамотрицательных микроорганизмов, через который основная масса АБП пассивно диффундировать не способна. Транспорт АБП внутрь микробной клетки осуществляется через **пориновые каналы** - это воронкообразные структуры белковой природы, которые являются естественным путем для поступления питательных веществ внутрь микроорганизма и выведения продуктов метаболизма (рис. 4). Структура пориновых каналов подвержена естественной изменчивости, и в некоторых ситуациях они становятся менее проницаемыми для крупных молекул.

5. Защита мишени. Этот механизм относится к наименее изученным механизмам устойчивости к антибиотикам. Установлено, что бактерии способны синтезировать белки, предотвращающие связывание АБП с мишенью, причем известно, что указанные белки связываются не с АБП, а с мишенью действия и каким то образом модифицируют ее.

Поскольку каждому из известных механизмов резистентности соответствует один или несколько генов, то для практики крайне важно знать их локализацию (на бактериальной хромосоме или на подвижных генетических элементах – плазмидах).

В том случае, когда генетические детерминанты резистентности локализованы на плазмидах, возможно их быстрое внутривидовое и межвидовое распространение. Поскольку во многих случаях обмен генетической информацией между микроорганизмами происходит весьма интенсивно, бороться с таким распространением устойчивости практически невозможно.

Если же детерминанты резистентности локализованы на хромосоме, то распространение резистентности происходит преимущественно внутри клона. При клональном типе распространения устойчивости значительно легче выявить источник резистентных штаммов, конкретные механизмы их передачи и, соответственно, спланировать и осуществить противоэпидемические мероприятия.

Механизмы устойчивости бактерий к β -лактамным антибиотикам

Одним из механизмов устойчивости к β -лактамным антибиотикам является **модификация чувствительной мишени.**

Мишенью действия β -лактамных антибиотиков являются транспептидазы и карбоксипептидазы - ферменты, участвующие в завершающем этапе биосинтезе основного компонента клеточной стенки микроорганизмов - пептидогликана. Они обладают способностью связываться с пенициллином и другими β -лактамными антибиотиками. Впервые эти ферменты были выявлены с помощью меченого бензилпенициллина и поэтому получили название **пенициллинсвязывающих белков (ПСБ).** Молекулы ПСБ жестко связаны с цитоплазматической мембраной микробной клетки, они осуществляют образование поперечных сшивок. Связывание β -лактамных антибиотиков с ПСБ ведет к инаktivации последних, прекращению роста и последующей гибели микробной клетки. Таким образом, уровень активности конкретных β -лактамных антибиотиков в отношении отдельных микроорганизмов в первую очередь определяется их аффинностью (сродством) к ПСБ. Однако в результате модификации у некоторых ПСБ уменьшается сродство к β -лактамам. Важное клиническое значение такой механизм устойчивости имеет среди стафилококков и пневмококков. Гены модифицированных ПСБ локализованы на хромосомах.

У *Staphylococcus aureus* имеются 4 ПСБ, отличающиеся как по молекулярной массе, так и по функциональной активности. Устойчивость метициллинрезистентных штаммов золотистого стафилококка (MRSA) к β -лактамным антибиотикам обусловлена продукцией дополнительного

пенициллинсвязывающего протеина - ПСБ-2, отсутствующего у чувствительных микроорганизмов. При подавлении β -лактамым антибиотиком активности основных пенициллинсвязывающих белков ПСБ-2, в силу своего более низкого сродства к препаратам данной группы, продолжает функционировать и сохраняет микробной клетке жизнеспособность. Синтез ПСБ-2 кодируется геном *mecA*, расположенным на хромосоме *S.aureus*, в специфической области, обнаруживаемой только у метициллинрезистентных штаммов стафилококка - *mec* ДНК. *Mec* ДНК представляет новый класс мобильных генетических элементов, который получил название стафилококковая хромосомная кассета *mec* (Staphylococcal chromosomal cassette *mec* = SCC*mec*). Выявлено существование 4 типов SCC*mec*, различающихся как размерами (от 21 до 66 т.п.н.), так и набором генов, составляющих данные кассеты. Разделение на типы основано на различиях в генах, образующих собственно комплекс *mec*, и в наборе генов, кодирующих рекомбиназы *ccrA* и *ccrB*, входящих в различных сочетаниях в стафилококковую хромосомную кассету. Комплекс *mec* может включать: *mecA* - структурный ген, детерминирующий синтез ПСБ-2, *mecI* - регуляторный ген, влияющий на транскрипцию *mecA*, *mecR1* - ген, передающий внутрь клетки сигнал о наличии в среде β -лактамного антибиотика, а также инсерционные последовательности IS431 и IS1272.

Таким образом, дополнительный ПСБ (ПСБ-2) у *S. aureus* является маркером устойчивости к метициллину или оксациллину. **Поэтому при лечении заболеваний, вызванных, все β -лактамы следует считать клинически неэффективными.** Частота распространения MRSA в некоторых отделениях реанимации, онкологии и гематологии в России превышает 50-60%, что создает крайне серьезные проблемы для терапии. Устойчивость пневмококков обусловлена появлением в генах, кодирующих ПСБ, чужеродной ДНК, происхождение которой связывают с зелеными стрептококками. **При этом перекрестная устойчивость между отдельными β -лактамами неполная.** Значительная часть штаммов, устойчивых к пенициллину, сохраняет

чувствительность к цефалоспорином III поколения и карбапенемам. Среди грамотрицательных бактерий устойчивость, связанная с модификацией ПСБ, встречается редко. Определенное значение этот механизм устойчивости имеет у *H.influenzae* и *N.gonorrhoeae*. Некоторые штаммы этих микроорганизмов проявляют устойчивость не только к природным и полусинтетическим пенициллинам, но и к ингибиторозащищенным препаратам.

Инактивация АБП является наиболее распространенным механизмом устойчивости микроорганизмов к β -лактамам антибиотикам, в результате которого происходит гидролиз одной из связей β -лактамного кольца ферментами β -лактамазами. К настоящему времени описано более 400 различных β -лактамаз. Все известные в настоящее время β -лактамазы делят на 4 молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и определенной аминокислотной гомологией. β -лактамазы классов А, С и D относятся к ферментам «серинового» типа (по аминокислоте, находящейся в активном центре фермента). Ферменты класса В относятся к металлоэнзимам, поскольку в качестве ко-фермента в них присутствует атом цинка. В соответствии с современными представлениями считается, что бета-лактамазы и пенициллинсвязывающие белки (ПСБ) имеют общего предшественника. В процессе эволюции ферменты, осуществляющие синтез пептидогликана и разрушающие беталактамные антибиотики, выделились в самостоятельные группы. β -лактамазы встречаются у подавляющего большинства клинически значимых микроорганизмов. У грамотрицательных микроорганизмов β -лактамазы локализируются в периплазматическом пространстве, у грамположительных они свободно диффундируют в окружающую среду.

К практически важным свойствам β -лактамаз относятся:

- **Субстратный профиль**, то есть способность к преимущественному гидролизу определенных β -лактамных антибиотиков, например пенициллинов или цефалоспоринов или тех и других в равной степени.
- **Локализация кодирующих генов** (плазмидная или хромосомная). Эта характеристика определяет эпидемиологию резистентности.

- Чувствительность к действию ингибиторов.
- **Тип экспрессии** (конститутивный или индуцибельный). При конститутивном типе микроорганизмы синтезируют β -лактамазы с постоянной скоростью, при индуцибельном количество синтезируемого фермента резко возрастает после контакта с антибиотиком (индукции).

К самым распространенным ферментам относятся стафилококковые β -лактамазы (встречаются у 60-80% штаммов) и β -лактамазы широкого спектра грамотрицательных бактерий (среди штаммов *E.coli* встречаются в 30-40% случаев). Несмотря на широкое распространение перечисленных ферментов, они не представляют серьезной проблемы для терапии, поскольку многие современные β -лактамы (цефалоспорины II-IV поколений, ингибиторозащищенные пенициллины, карбапенемы) не чувствительны к гидролизу.

Таблица 13

Наиболее распространенные β -лактамазы и их свойства

Основные классы β-лактамаз	Гидролизуемые антибиотики	Чувствительность к ингибиторам β-лактамаз	Наиболее частые продуценты
Плазмидные β-лактамазы класса А стафилококков	природные и полусинтетические пенициллины, кроме изоксазолилпенициллинов (метициллин, оксациллина и др.)	+	<i>Staphylococcus spp.</i>
Плазмидные β-лактамазы широкого спектра класса А грамотрицательных бактерий	природные и полусинтетические пенициллины, цефалоспорины I поколения	+	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Neisseria spp.</i> <i>Vibrio spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Salmonella spp.</i>
Плазмидные β-лактамазы расширенного спектра класса А грамотрицательных бактерий	природные и полусинтетические пенициллины, цефалоспорины I-IV поколения.	+	Представители сем. <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>
Хромосомные β-лактамазы класса А грамотрицательных бактерий	природные и полусинтетические пенициллины, цефалоспорины I-II поколения.	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i>
Хромосомные β-лактамазы класса В грамотрицательных бактерий	практически все β-лактамы, включая карбапенемы	—	<i>Serratia marcescens</i>
Хромосомные β-лактамазы класса С грамотрицательных бактерий	природные и полусинтетические пенициллины, цефалоспорины I-III поколения	—	<i>Enterobacter spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i>
Плазмидные β-лактамазы класса D грамотрицательных бактерий	природные и полусинтетические пенициллины, цефалоспорины I-II поколения.. Многие способны также гидролизовать, цефалоспорины III поколения	—	<i>Pseudomonas spp.</i>

Хромосомные β -лактамазы класса А грамотрицательных бактерий относятся к категории конститутивных ферментов и гидролизуют природные и полусинтетические пенициллины, а также цефалоспорины I-II поколений. Продуцентами этих β -лактамаз чаще всего являются *Klebsiella spp.*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter diversus* и другие представители грамотрицательных микроорганизмов. Высокой активностью в отношении вырабатываемых эти ферменты бактерий обладают «защищенные» β -лактамы, цефалоспорины III-IV поколений, монобактамы и карбапенемы.

Хромосомные β -лактамазы класса В грамотрицательных бактерий (металло- β -лактамазы) гидролизуют β -лактамное кольцо с участием ионов цинка, находящихся в активном центре ферментов.

Характерными особенностями металлоэнзимов являются расположение кодирующих их генов на бактериальной хромосоме, устойчивость к действию ингибиторов (клавулановой кислоте, сульбактамам, тазобактамам) и активность в отношении всех β -лактамных антибиотиков, включая карбапенемы.

Хромосомные β -лактамазы класса С (цефалоспориназы) распространены у многих видов семейства *Enterobacteriaceae* (*Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.* и др.) и неферментирующих грамотрицательных бактерий (*Pseudomonas spp.* и др.).

Производство этих ферментов часто носит индуцибельный характер, т. е. синтез цефалоспориноз резко увеличивается в присутствии некоторых антибиотиков (индукторов хромосомных β -лактамаз).

Этот механизм резистентности достаточно часто реализуется у больных с тяжелыми гнойно-септическими инфекциями на фоне лечения цефалоспорином III поколения.

К сильным индукторам цефалоспориноз относятся аминопенициллины и цефалоспорины I поколения, которые быстро разрушаются под действием этих ферментов. Клавулановая кислота, сульбактам и тазобактам не обладают ингибирующей активностью в отношении β -лактамаз данного типа, поэтому

ингибиторозащищенные β -лактамы клинически неэффективны. Карбоксипенициллины, уреидопенициллины, монобактамы и цефалоспорины II-III поколений в меньшей степени индуцируют продукцию цефалоспориноаз. Для лечения инфекций, вызванных штаммами-гиперпродуцентами хромосомных β -лактамаз класса C, рекомендуется применять цефалоспорины IV поколения и карбапенемы.

Pseudomonas aeruginosa и некоторые другие грамотрицательные бактерии способны вырабатывать плазмидные β -лактамазы класса D, гидролизующие природные, полусинтетические и «защищенные» β -лактамы, а также цефалоспорины I-III поколений. Для лечения заболеваний, вызванных этими микроорганизмами, используют цефалоспорины IV поколения и карбапенемы.

В настоящее время наибольшее значение для клинической практики имеют плазмидные β -лактамазы расширенного спектра грамотрицательных бактерий, поскольку они способны разрушать цефалоспорины III и, в меньшей степени, IV поколения. Чаще всего β -лактамазы расширенного спектра встречаются у микроорганизмов рода *Klebsiella*, достаточно часто у *E.coli* и *Proteus* spp., реже у других грамотрицательных бактерий. В России в отдельных учреждениях частота распространенности этих ферментов среди клебсиелл достигает 90%.

При тяжелых нозокомиальных инфекциях, вызванных *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. и некоторыми другими микроорганизмами, в процессе лечения цефалоспоридами III поколения примерно в 20% случаев формируется резистентность к этим антибиотикам, обусловленная гиперпродукцией хромосомных β -лактамаз класса C. В таких ситуациях эффективность сохраняют цефалоспорины IV поколения и карбапенемы.

Хромосомные β -лактамазы класса B, разрушающие карбапенемы, распространены среди редких видов микроорганизмов, например, *S.maltophilia*.

Еще одним из механизмов устойчивости к β -лактамам является **активное выведение АБП из бактериальной клетки**. Ранее считалось, что эти антибиотики активно не выводятся из микробной клетки, однако в последние годы появились сообщения о наличии у *P.aeruginosa* транспортных систем,

осуществляющих активное выведение ряда из них и, прежде всего, карбапенемов.

Возникновение устойчивости к β -лактамам за счет **нарушения проницаемости внешних структур микробной клетки** встречается практически среди всех грамотрицательных бактерий, обычно в сочетании с другими механизмами. Это объясняется тем, что внешняя мембрана грамотрицательных микроорганизмов является препятствием для проникновения β -лактамов внутрь клетки. В результате мутаций возможна полная или частичная утрата поринов, приводящая к выраженному в различной степени снижению чувствительности к β -лактамам.

Механизмы устойчивости бактерий к аминогликозидам

Одним из возможных механизмов устойчивости к аминогликозидам является **модификация мишени**. Основной мишенью действия аминогликозидов является 30S субъединица бактериальной рибосомы, в некоторых случаях устойчивость может быть связана с ее модификацией. Распространение и клиническое значение устойчивости аминогликозидов, связанной с модификацией мишени, незначительно.

Однако основным механизмом устойчивости является **инактивация АБП**. Этот процесс связан с появлением аминогликозидмодифицирующих ферментов (АМФ). Модифицированные молекулы аминогликозидов теряют способность связываться с рибосомами и подавлять биосинтез белка. Гены ферментов локализуются, как правило, на плазмидах, что приводит к быстрому внутри- и межвидовому распространению устойчивости. Существуют три группы АМФ, осуществляющих инактивацию аминогликозидных антибиотиков путем их связывания с различными молекулами: ацетилтрансферазы (AAC – присоединяющие молекулу уксусной кислоты), фосфортрансферазы (APH – присоединяющие молекулу фосфорной кислоты), нуклеотидил- или аденилилтрансферазы (ANT – присоединяющие молекулу нуклеотида аденина). Эти ферменты находятся преимущественно в периплазматическом пространстве и не

действуют на антибиотики, находящиеся вне микробной клетки. Модифицированные ферментами аминогликозиды не проникают через цитоплазматическую мембрану, не связываются с бактериальными рибосомами и таким образом теряют свою активность. **Механизм ферментативной инактивации аминогликозидных антибиотиков наиболее характерен для грамотрицательных бактерий и имеет гораздо меньшее значение для грамположительных возбудителей.**

Поскольку АМФ способны инактивировать сразу несколько препаратов, то для аминогликозидов характерно наличие перекрестной резистентности между отдельными препаратами этого класса. Среди грамотрицательных бактерий могут встречаться практически все комбинации устойчивости к отдельным аминогликозидам. Это связано с разнообразием субстратных профилей отдельных ферментов и возможностью наличия у бактерии одновременно нескольких генов АМФ. Для России характерна высокая частота распространения устойчивости среди грамотрицательных бактерий к гентамицину и тобрамицину, что вероятнее всего связано с необоснованно широким применением этих препаратов. Частота устойчивости к нетилмицину несколько ниже, а устойчивость к амикацину встречается достаточно редко. У грамположительных бактерий АМФ встречающихся достаточно редко и маркером их наличия является устойчивость к гентамицину.

Появляются данные о том, что аминогликозиды могут подвергаться **активному выведению** из микробной клетки.

Еще одним механизмом возникновения устойчивости к аминогликозидам является **нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки.** Проникновение аминогликозидов через внешнюю и цитоплазматическую мембраны бактерий является сложным процессом. Низкая природная чувствительность к аминогликозидам некоторых микроорганизмов (например, *V.serasia*) связана именно с недостаточной проницаемостью для АМП внешней мембраны этих микроорганизмов. Их мутации, приводящие к изменению

структуры липополисахарида у *E.coli* и *P.aeruginosa*, могут обусловить значительное повышение устойчивости к аминогликозидам.

Природная устойчивость к аминогликозидам анаэробов объясняется тем, что транспорт этих антибиотиков через цитоплазматическую мембрану связан с системами переноса электронов, которые у анаэробов отсутствуют. По этой же причине факультативные анаэробы в условиях анаэробноза, становятся значительно более устойчивыми к аминогликозидам, чем в аэробных условиях.

Практически важным фактом является природная устойчивость к аминогликозидам стрептококков и энтерококков, связанная с преимущественно анаэробным метаболизмом этих бактерий и, соответственно, невозможностью транспорта антибиотиков к чувствительным мишеням. При совместном воздействии на микробную клетку аминогликозидов и β -лактамов последние нарушают структуру цитоплазматической мембраны бактерий и облегчают транспорт аминогликозидов. В результате этого между β -лактамами и аминогликозидами проявляется выраженный синергизм.

Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам МЛС группы

Наиболее распространенным механизмом устойчивости микроорганизмов к антибиотикам МЛС группы является **модификации мишени**. Модификация реализуется путем метилирования 23S рибосомальной РНК (присоединения CH_3 -группы) с помощью ферментов метилаз и последующего конформационного изменения рибосомы, что приводит к снижению аффинности к МЛС антибиотикам. У большинства бактерий устойчивость возникает в результате метилирования 23S-субъединицы рРНК. Известно около 20 генов (*erm* - erythromycin ribosome methylation) – *ermA*, *ermAM*, *ermC*, *ermF* и др., кодирующих фермент метилазу, они ассоциированы с транспозонами и могут локализоваться как на плазмидах, так и на хромосомах. Метилазы широко распространены среди многих аэробных и анаэробных грамположительных и некоторых грамотрицательных бактерий.

Метилирование мишени действия макролидов обуславливает высокий уровень устойчивости к этим антибиотикам (МПК > 32-64 мг/л).

В бактериальных клетках возможно два варианта синтеза метилаз: конститутивный и индуцибельный. При конститутивной резистентности синтез метилаз происходит постоянно, независимо от наличия в окружающей среде антибиотиков МЛС группы. При индуцибельном – фермент синтезируется только в ответ на появление в окружающей среде антибиотиков. У стафилококков индуцибельный синтез метилаз наблюдают в присутствии 14- и 15-членных макролидов, 16-членные макролиды, линкозамиды и стрептограминны индуцирующей активностью не обладают. Таким образом, для стафилококков на практике возможны следующие ситуации:

- чувствительность ко всем препаратам МЛС группы;
- устойчивость к 14- и 15-членным макролидам, при чувствительности к 16-членным, линкозамидам и стрептограминам (индуцибельный тип резистентности);
- устойчивость ко всей МЛС группе (конститутивный тип резистентности).

Стрептококковые (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*) метилазы практически в равной степени индуцируются всеми МЛС антибиотиками. Частота устойчивости *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* к макролидам в некоторых регионах мира к настоящему времени достигла такого уровня, когда возможно реальное снижение клинической эффективности этих антибиотиков.

У ряда микроорганизмов (*S. pneumoniae*, *Mycobacterium spp.*, *Brachyspira hyodysenteriae*, *Propionibacterium spp.*, *B. pertussis*, *H. influenzae*, *H. pylori*) известен и другой механизм модификации мишени для МЛС группы - в результате мутаций в V домене 23S рРНК снижается сродство к антибиотикам и формируется клинически значимая устойчивость. При этом механизме наблюдают перекрестную резистентность ко всем макролидам и линкозамидам. Снижение чувствительности к макролидам и линкозамидам штаммов *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* и *S. oralis* вызывают также мутации в генах рибосомальных белков L4 и L22.

Для *Helicobacter pylori* механизм резистентности к МЛС группе реализуется за счет модификации 23S рибосомальной РНК путем точечных мутаций, что приводит к утрате чувствительности к макролидам, применяемым для лечения этой патологии, прежде всего к кларитромицину.

Возможно развитие устойчивости к антибиотикам МЛС группы за счет **инактивации АБП**. Ферменты, инактивирующие препараты МЛС группы, имеются как у грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Некоторые из них способны инактивировать целые группы препаратов (например, макролидфосфотрансферазы *E.coli* и *Staphylococcus spp.*), другие только отдельные антибиотики (эритромицинаэстеразы, распространенные среди семейства *Enterobacteriaceae*, линкомицинацетилтрансферазы стафилококков и энтерококков). Клиническое значение ферментов, инактивирующих МЛС группу, невелико.

Активное выведение препаратов МЛС группы осуществляют несколько транспортных систем. Основное клиническое значение имеет система выведения, кодируемая *mef*-геном, распространенная среди *S.pneumoniae*, *S.pyogenes* и многих других грамположительных бактерий. Гены *mef* локализованы на хромосомах в составе конъюгативных элементов, что обеспечивает достаточно эффективное внутри- и межвидовое распространение. У стафилококков и энтерококков имеются транспортные системы, которые способствуют избирательному активному выведению макролидов, при этом линкозамиды не удаляются из клетки. Эти транспортные системы кодируются генами *msr*. У коагулазонегативных стафилококков такие белки кодируются генами (*msrA*) плазмидной локализации. Штаммы, обладающие такими детерминантами, проявляют устойчивость к 14- и 15-членным макролидам при чувствительности другим препаратам МЛС группы. Существуют также транспортные системы, осуществляющие избирательное выведение некоторых препаратов, например, линкомицина или олеандомицина.

Механизмы устойчивости бактерий к гликопептидам

Возникновение устойчивости путем **модификации мишени** – это клинически наиболее значимый и хорошо изученный механизм устойчивости к этой группе лекарственных средств. Он наиболее детально изучен у энтерококков и связан с синтезом бактериями модифицированной боковой полипептидной цепи, в которой происходит замена концевой аминокислоты D-аланина на D-лактат (или D-серин). Детерминанты устойчивости могут локализоваться как на хромосомах, так и на плазмидах. Для экспрессии устойчивости к гликопептидам энтерококкам необходимы не только ферменты синтеза модифицированного предшественника пептидогликана, но и ферменты для элиминации нормального предшественника, синтез которого происходит параллельно. Известны три основных фенотипических варианта устойчивости *Enterococcus spp.* к гликопептидам VanA, VanB и VanC, различающимся по уровню устойчивости к двум основным препаратам: ванкомицину и тейкопланину. Для фенотипа VanA характерен высокий уровень устойчивости к ванкомицину и тейкопланину, для VanB - переменная резистентность к ванкомицину и чувствительность к тейкопланину. Фенотип VanC характерен для *E.gallinarum*, *E.casseliflavus* и *E.flavescens*, проявляющих природно низкий уровень устойчивости к ванкомицину. Происхождение генов, обеспечивающих устойчивость к гликопептидам, не ясно, скорее они приобретены энтерококками в результате обмена генетическим материалом с природно устойчивыми видами. К таковым относятся *Pediococcus*, *Lactibacillus* и *Leuconostoc*, устойчивость этих микроорганизмов к гликопептидам связана с особенностями структуры предшественника пептидогликана, обладающего низкой аффинностью к антибиотикам.

Устойчивость энтерококков к гликопептидам является серьезной проблемой в отделениях реанимации и интенсивной терапии в США и Западной Европе. Чаще всего устойчивость отмечают у штаммов *E.faecium*, ее частота может достигать 15-20%. Достоверных данных о выделении ванкомицинрезистентных энтерококков в России нет.

Проблемой устойчивости к гликопептидам является резистентность стафилококков. Крайняя потенциальная опасность появления и распространения резистентности у этих микроорганизмов связана с тем, что гликопептиды являются основными средствами терапии тяжелых инфекций, вызванных метициллинрезистентными штаммами. Устойчивость к гликопептидам на сегодняшний день документирована у *Staphylococcus haemolyticus* и *Staphylococcus epidermidis*, в большей степени она проявлялась в отношении тейкопланина, чем ванкомицина. Имеется также сообщение о выделении клинического штамма *S.aureus* со сниженной чувствительностью к тейкоплатину. Механизм устойчивости стафилококков к гликопептидным антибиотикам пока не ясен, однако он явно отличается от такового у энтерококков.

В качестве эффективных средств терапии инфекций, вызванных метициллинрезистентными стафилококками, устойчивыми к гликопептидам, можно рассматривать комбинированный стрептограминовый антибиотик синерцид и некоторые другие соединения, находящиеся на разных стадиях изучения.

Механизмы устойчивости бактерий к амфениколам

Основным механизмом устойчивости к хлорамфениколу является **инактивация АБП**, которая реализуется за счет ацетилирования с помощью ферментов хлорамфениколацетилтрансфераз. Гены, кодирующие эти ферменты локализуются на плазмидах и входят в состав транспозонов в ассоциации с генами устойчивости к другим АМП.

Механизмы устойчивости бактерий к тетрациклинам

Наиболее распространенным механизмом устойчивости к тетрациклинам среди грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов является **Активное выведение АБП из микробной клетки (эффлюкс)**. Детерминанты резистентности обычно локализованы на плазмидах, что обеспечивает их быстрое внутри- и межвидовое распространение. Часть генов и соответствующие

белки (TetA - TetE) распространены среди грамотрицательных бактерий, другие (TetK, TetL) среди грамположительных.

Для тетрациклинов характерен такой механизм устойчивости, как **защита мишени**. Известно семейство защитных белков, которые позволяют бактерии синтезировать белок, несмотря на связывание с рибосомой молекулы тетрациклина. Механизм подобной защиты неизвестен. Описано, по меньшей мере, 5 генов, кодирующих защитные белки, они распространены среди грамотрицательных и грамположительных бактерий и детерминируют устойчивость ко всем тетрациклинам. Частота устойчивости к тетрациклинам среди клинически наиболее значимых микроорганизмов достаточно высока, что не позволяет рассматривать их как средства выбора для лечения большинства инфекций.

Механизмы резистентности к противогрибковым препаратам

Повышение роли грибов в этиологии госпитальных и некоторых внебольничных инфекций привело к внедрению в клиническую практику значительного числа новых препаратов и их широкому применению, это, в свою очередь, неизбежно привело к формированию устойчивости к используемым препаратам. Поскольку грибы, в отличие от бактерий, являются эукариотическими организмами, то для лечения вызываемых ими инфекций необходимо использовать препараты с принципиально другими мишенями и механизмами действия. Фактором, существенно затрудняющим изучение устойчивости грибов, является недостаточная стандартизация методов оценки их чувствительности к противогрибковым препаратам и трудности в обосновании критериев чувствительности.

Полиены

Поскольку мишенью действия полиенов являются структурные элементы клетки грибов, а не ферменты, то формирование устойчивости может быть результатом сложных генетических процессов, приводящих к изменению

биосинтеза компонентов мембраны. Вероятность таких событий относительно невелика, с чем и связана низкая частота устойчивости к полиенам. Биохимия и генетика устойчивости к полиенам изучена недостаточно, но имеющиеся данные в целом поддерживают гипотезу о снижении содержания эргостерола в цитоплазматической мембране и о повышении содержания его аналогов в устойчивых штаммах.

Основные причины увеличения антибиотикорезистентности и методы ее преодоления

Наиболее важными причинами, влияющими на рост устойчивости микроорганизмов к антимикробным лекарственным средствам, являются:

1. назначение химиотерапевтических препаратов при отсутствии показаний, например, лечение вирусных инфекций антибиотиками;
2. неоправданное применение современных дорогостоящих препаратов широкого спектра действия вместо более дешевых лекарственных средств направленного действия;
3. неправильное установление дозировки и длительности лечения;
4. самолечение;
5. применение в лечебных учреждениях антисептиков и дезинфектантов, которые оказывают выраженное селективное действие на микробную популяцию и способствуют отбору резистентных штаммов возбудителей;
6. использование антибиотиков в сельском хозяйстве для лечения и в качестве стимуляторов роста птицы и крупного рогатого скота; применение такой продукции способствует повышению уровня резистентности представителей нормальной микрофлоры человека.

В последнее время принят ряд документов, регламентирующих проведение в лечебных учреждениях различных стран мира разумной антибактериальной политики, направленной на снижение роста резистентности возбудителей к антимикробным препаратам. Наиболее важными документами являются

«Копенгагенские рекомендации», принятые странами Европейского союза в 1998 г., международная «Декларация по борьбе с антимикробной резистентностью» (Торонто, 2000 г.) и разработанная ВОЗ «Глобальная стратегия по сдерживанию роста устойчивости микроорганизмов к антиимкробным препаратам» (Женева, 2001). Основные положения этих документов сводятся к следующему:

1. Рациональное назначение антимикробных препаратов, т.е. строго по показаниям и в соответствии с чувствительностью возбудителей к лекарственным средствам.
2. Разработка и внедрение в практику образовательных программ по антибиотикам для медиков и фармацевтов, а также руководств по рациональной химиотерапии для врачей различных специальностей.
3. Создание во всех лечебных учреждениях комитетов по контролю за назначением антимикробных препаратов.
4. Проведение постоянного микробиологического мониторинга за уровнем резистентности микроорганизмов в каждом лечебном учреждении и доведение результатов исследования до лечащих врачей.
5. Проведение просветительской работы среди населения о вреде самолечения, запрещение рекламы антибиотиков в средствах массовой информации и продажи их в аптеках без рецепта врача.
6. Прекращение применения антибиотиков в качестве стимуляторов роста в сельском хозяйстве.
7. Разработка и внедрение в лечебную практику новых антимикробных препаратов.

Методы определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам

Определение чувствительности микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний к антибактериальным препаратам приобретает все более важное значение в связи с появлением и широким распространением

антибиотикорезистентности у бактерий. Исследование чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам осуществляется для решения следующих задач:

1. обоснование целенаправленной индивидуальной антибактериальной терапии для лечения конкретной инфекционной болезни;
2. обоснование эмпирической терапии отдельных нозологических форм инфекционных болезней в пределах лечебных учреждений или географических регионов;
3. осуществление наблюдения за распространением антибиотикорезистентности в отдельных учреждениях или географических регионах;
4. исследование новых химических соединений на наличие антибактериальной активности.

В ходе повседневной деятельности в бактериологических лабораториях из различных биологических материалов и объектов внешней среды выделяют множество бактерий, относящихся к различным таксономическим группам. Обязательному исследованию на чувствительность к антибактериальным препаратам подлежат все микроорганизмы, выделенные из первично стерильных жидкостей, органов и тканей человека и животных до начала лечения. Практически важной задачей является выявление приобретенной резистентности к антибактериальным препаратам природно-чувствительных к ним микроорганизмов. Исследованию по оценке антибиотикочувствительности подлежат чистые культуры микроорганизмов или материал изолированных колоний с плотных питательных сред после первичного посева образца клинического материала, в последнем случае параллельно необходимо провести идентификацию культуры.

Современные стандартизованные методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам подразделяют на две группы:

1. Диффузные методы:

- диско-диффузный метод;
- Е-тест.

2. Методы серийных разведений антибиотика в питательной среде:

- разведение препарата в жидкой питательной среде;
- разведение препарата в плотной питательной среде.

По величине МПК все микроорганизмы можно разделить на три категории: чувствительные, умеренно устойчивые и устойчивые.

Диффузные методы

Несомненным достоинством диффузионных методов является простота тестирования и доступность выполнения в любой бактериологической лаборатории. Однако с учетом высокой стоимости Е-тестов для рутинной работы обычно используют диско-диффузионный метод.

Диско-диффузный метод

Диффузные методы определения чувствительности основаны на диффузии антибактериальных препаратов из носителя в плотную питательную среду. Стандартизованную суспензию исследуемого микроорганизма, соответствующую стандарту мутности 0,5 по McFarland, засевают «газоном» на питательную среду. На поверхность посева укладывают стандартные бумажные диски, пропитанные антибиотиками, концентрации которых соответствуют требованиям ВОЗ. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков. После инкубирования посева в термостате оценивают чувствительность микроорганизма (рис. 5). Если исследуемый микроорганизм чувствителен к одному из препаратов, вокруг соответствующего диска образуется зона задержки роста, где концентрация антибиотика превосходит минимальную подавляющую концентрацию (МПК). Устойчивые к препарату культуры не образуют стерильных зон. Однако диффузный метод позволяет лишь косвенно судить о величине МПК, а результатом исследования является отнесение микроорганизма к одной из

категорий чувствительности (устойчивый, малоустойчивый, чувствительный, высокочувствительный штамм).

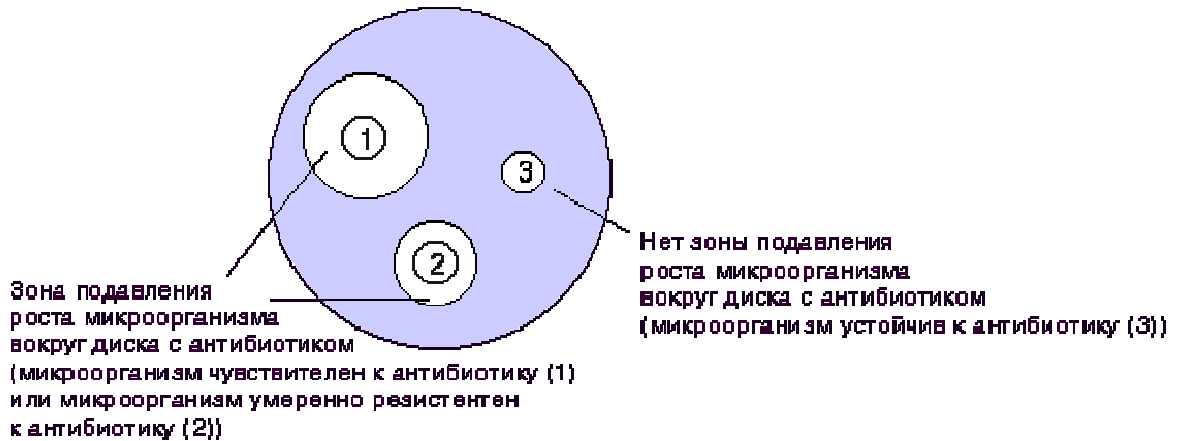


Рис. 4. Определение чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом.

Е-тест

Е-тест (от англ. *ellips* – эллипс, так как при наличии чувствительности образуется зона задержки роста эллиптической формы). Это модификация диско-диффузного метода, однако, пользуясь этим методом, можно определить МПК. Для реализации этого метода используют полоску Е-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной (рис. 5). Полоски помещают на поверхность засеянной питательной среды. Если бактерии чувствительны к действию препарата, вокруг участков полоски, содержащих его ингибирующие концентрации, образуется эллипсоидная зона задержки роста, в месте пересечения которой с полоской Е-теста получают значение МПК.

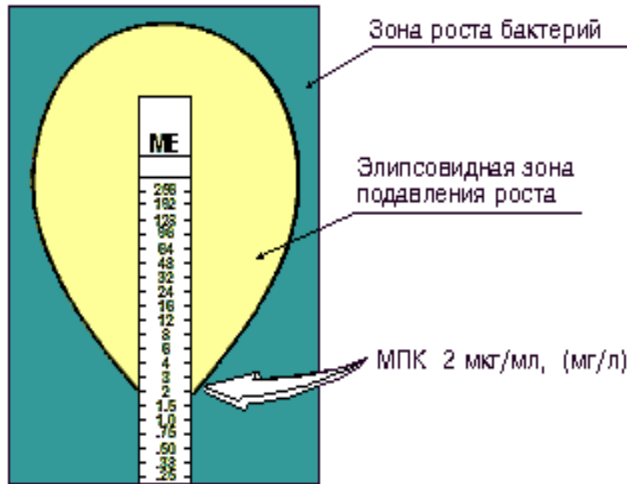


Рис. 5. Определение чувствительности микроорганизмов с помощью E-теста

Метод серийных разведений в жидкой питательной среде

Методы серийных разведений основаны на прямом определении основного количественного показателя, характеризующего микробиологическую активность антибактериальных препаратов – величины его МПК. МПК – минимальная концентрация, подавляющая видимый рост исследуемого микроорганизма в бульонной культуре или на плотной питательной среде. Принцип определения МПК основан на использовании двойных последовательных разведений концентраций антибиотика от максимальной к минимальной (например от 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, и т.д. до 0,5 мкг/мл, 0,25 мкг/мл и 0,125 мкг/мл). При этом антибиотик в различных концентрациях вносят в жидкую питательную среду (бульон). Затем бактериальную суспензию определенной плотности, соответствующую стандарту мутности 0,5 по McFarland, помещают в бульон с антибиотиком. После инкубации при температуре 37 °С проводят учет полученных результатов. Наличие роста микроорганизма в бульоне (помутнение бульона) свидетельствует о том, что данная концентрация антибиотика недостаточна, чтобы подавить его жизнеспособность. По мере увеличения концентрации антибиотика рост микроорганизма ухудшается. Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется

бактериальный рост принято считать МПК. Измеряется МПК в мг/л или мкг/мл (рис. 6).

МПК - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост бактерий.

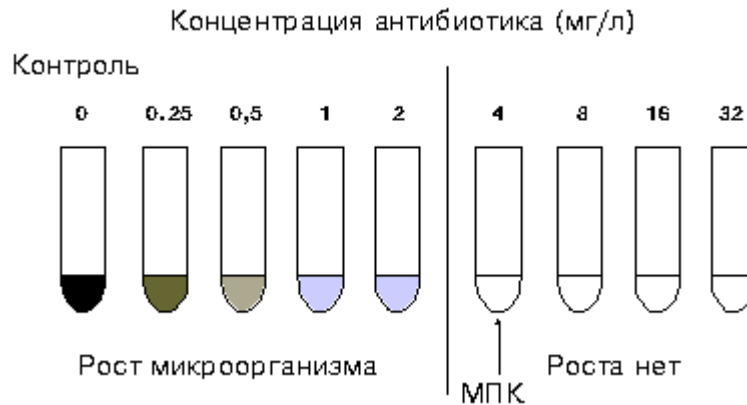


Рис. 6. Определение значения МПК методом разведения в жидкой питательной среде.

Несмотря на то, что метод серийных разведений является наиболее точным и информативным, его постановка в практических лабораториях сопряжена со значительными методическими трудностями. Прежде всего, речь идет о необходимости использования антибиотиков с известным уровнем активности, строгого соблюдения режимов хранения, тщательного выполнения контроля качества питательных сред, трудоемкости приготовления рабочих растворов антибиотиков.

Метод серийных разведений в плотной питательной среде

Этот метод аналогичен методу серийных разведений в жидкой питательной среде, однако определение МПК требует более сложных манипуляций. Готовят двойные серийные разведения препарата от 1:10000 до 1:320000, затем вносят по 1 мл каждого разведения в пробирки, содержащие расплавленный и остуженный до 45 °С агар. Затем содержимое пробирок быстро выливают в стерильные чашки Петри и после застывания питательной среды засевают

исследуемый микроорганизм. После инкубации определяют МПК по отсутствию роста на чашках, содержащих наименьшие концентрации препарата.

Существуют два подхода к интерпретации результатов определения чувствительности: микробиологический и клинический. Микробиологическая интерпретация основана на анализе распределения значений концентраций антибиотика, подавляющих жизнеспособность бактерий. Клиническая интерпретация основана на оценке эффективности антибактериальной терапии.

Оценка чувствительности к противогрибковым препаратам

В связи с появлением случаев неэффективности противогрибковой терапии возникла реальная практическая потребность в определении чувствительности грибов к соответствующим препаратам. К сожалению, возможности для решения этой задачи весьма ограничены. В качестве стандартного рассматривают метод серийных разведений на среде RPMI 1640, воспроизводимые результаты обеспечивают ряд других методов и некоторые коммерческие тест-системы.

Следует отметить, что использование нестандартизованных ("домашних" или коммерческих) методов оценки чувствительности грибов может привести к получению заведомо ложных результатов и серьезным ошибкам при выборе препаратов для лечения.