



*Зав. кафедрой микробиологии и вирусологии  
д.б.н., профессор Кузнецов О. Ю. 2020 ©*

# **Антагонизм микробов. Антибиотики**

- Антибиотики относятся к наиболее часто назначаемым группам лекарственных средств:
  - 100% хирургических больных;
  - 70-100% соматических.
- В России используется около 30 групп антибиотиков (более 200 препаратов).



# Взаимоотношения микроорганизмов

**Симбиоз** – сожительство различных видов микроорганизмов, приносящее им взаимную пользу:

**Мутуализм** – форма симбиоза , при котором партнеры извлекают взаимную пользу.

**Метабиоз** – тип взаимоотношений, при которых один вид микроорганизмов создает условия для жизни других

**Синергизм** – усиление физиологических функций видов, существующих вместе в ассоциации.

**Нейтрализм** – отношения, при которых обитающие вместе микроорганизмы не оказывают друг на друга никакого влияния.

**Сателлизм** ( сателлит – спутник ). Одни виды микроорганизмов живут вместе с другими, не причиняя им вреда и как бы сопровождая .

**Комменсализм** – форма существования, при которой один из партнеров извлекает пользу для себя, не вредя другим членам популяции.

# Антагонизм (конкуренция) микробов



- Неблагоприятное воздействие одного вида микроорганизмов на другой (бактериостатическое или бактерицидное).
- Впервые наблюдал **Л. Пастер** в 1887 г. (бактерии сибирской язвы погибали рядом с гнилостными бактериями).
- Микробы антагонисты встречаются повсюду : в почве, воде, воздухе, организме человека и животных.

Микробный антагонизм





# Проявления антагонизма:

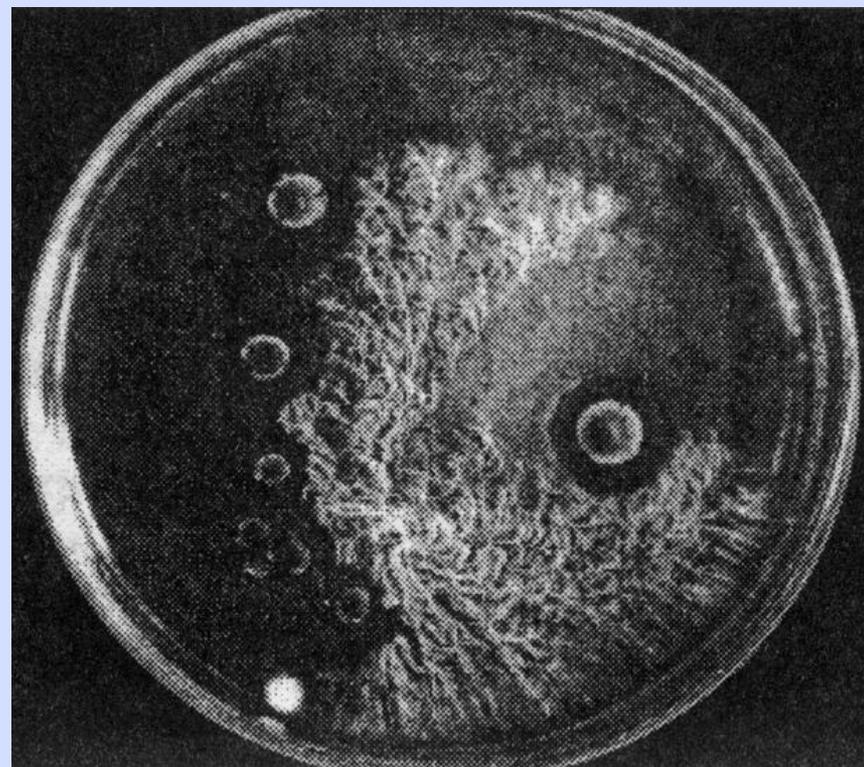
- прямое воздействие друг на друга – насильственный (голодный) антагонизм;
- выделение неспецифических продуктов обмена (кислоты, щелочи, спирты, перекиси, аммиак и др.), действующих подобно антисептикам;
- продукция бактериоцинов – белково-подобных веществ, подавляющих особей гомологичных или близких видов;
- **взаимоотношение бактериофага и бактерии;**
- **взаимоотношение между вирусами** – явление интерференции;
- выделение при росте летучих метаболитов – сильный запах угнетает рост других микроорганизмов;
- **образование антибиотиков** – специфических продуктов обмена, подавляющих других микробов (межвидовые средства).



# Механизмы антагонизма

- Изменение физико-химических свойств среды.
- Борьба за питательный субстрат.
- Выработка специфических средств борьбы направленного действия - каннибализм.
- Выработка бактериоцинов.

Антагонизм микробов. Вокруг округлых колоний *Serratia marcescens* зоны угнетения роста *Bac. mycooides*.



# "Жизнь - против жизни"



(1822–1895)

- Термин «антибиос» (греч. *anti*-против + *bios* жизнь), предложил **Луи Пастер**, вложив в него смысл «жизнь – против жизни», а не дословно «против жизни».
- Эре антибиотикотерапии предшествовал период разработки антимикробных химиопрепаратов.

# Герхард Домагк - немецкий бактериолог

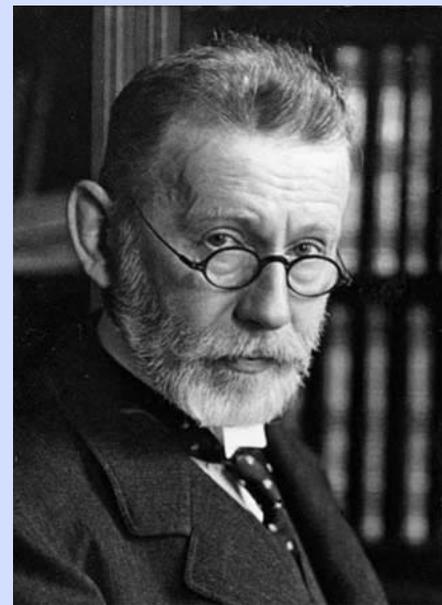


(1895–1964)

- Открыл первый антибактериальный препарат **пронтозил** (сульфаниламид),
- в **1939** году **получил Нобелевскую премию.**

## Пауль Эрлих

- На основе органических соединений мышьяка синтезировал **сальварсан** для лечения сифилиса (лат. *salvare* - спасти и *arsenicum* - мышьяк).
- В **1908** году **удостоен Нобелевской премии.**

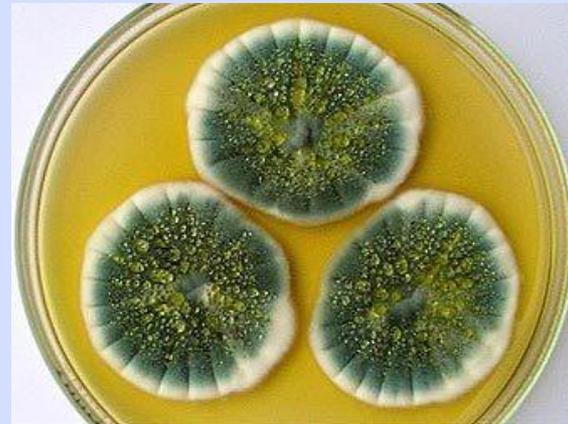


(1854–1915)

# Английский микробиолог Александр Флеминг

В 1929 году открыл плесень *Penicillium notatum*, которая угнетала рост стафилококков; фильтрат культуральной жидкости назвал **пенициллином** (лат. *penicillium* – плесень).

(1881–1955)



# Английские ученые Флори и Чейн



ФЛОРИ Хоуард Уолтер  
(1898 – 1968)



ЧЕЙН Эрнст Борис  
(1906 – 1979)

- В 1940 году в Оксфордском университете, из гриба, предоставленного **А.Флемингом** получили малотоксичный и эффективный **пенициллин**.
- **Эрнст Чейн** – выделил стабильную форму пенициллина.
- **Говард Флори** – занимался испытанием его на животных.
- В 1943г **Г. Флори** и фирма «Мерк» в США запустили производство пенициллина.
- В 1945 году Флеминг, Флори и Чейн удостоены Нобелевской премии.

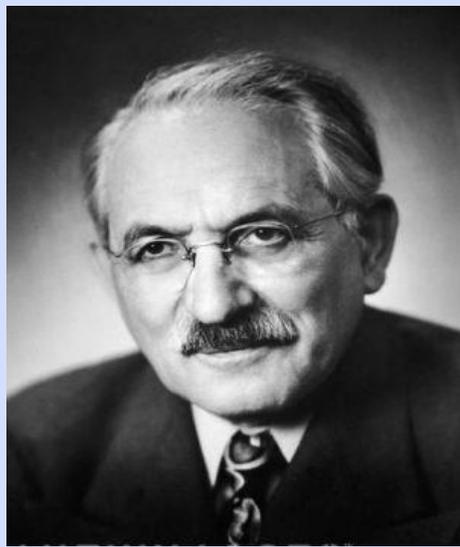
# Зинаида Виссарионовна Ермольева



- В 1942 г. получила **отечественный пенициллин** из шт. *Penicillium crustosum*.
- Он оказался продуктивнее английских и американских штаммов.
- При активном участии **З.В. Ермольевой** в 1943 году в России в промышленное производство запущен **отечественный пенициллин**.

*З.В. Ермольева и Говард Флори*  
(1944, Москва)

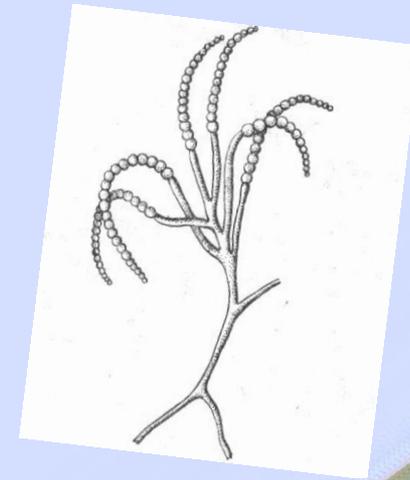




(1888–1973)

## Соломон Яковлевич Ваксман американский микробиолог

- В 1942 году ввел термин **антибиотики**.
- Вещества, вырабатываемые микроорганизмами для уничтожения или нарушения развития других микроорганизмов –противников.
- В **1943** году из актиномицетов группы ***Streptomyces*** впервые выделил **стрептомицин**.
- В **1952** году удостоен **Нобелевской премии**.







(1900–1984)

## Токин Борис Петрович

- В 1928 г. открыл фитонциды.
- Он обнаружил, что летучие вещества, способные убивать микробы, образуют лук, чеснок, хрен.
- Им доказано антимикробное действие многих растений: лишайников, зверобоя, эвкалипта, ромашки, шалфея, календулы, редьки и горчицы.

Б.П. Токин— советский биолог, профессор Томского университета, после войны — профессор ЛГУ, доктор биологических наук, основатель кафедры эмбриологии (1949) ЛГУ, Герой Соц. Труда (1971), з. д. н. РСФСР, лауреат Сталинской премии (1950), президент Ленинградского Общества испытателей природы с 1966 по 1984 г., создатель учения о фитонцидах.



## Уникальные свойства антибиотиков:

- **Мишень-рецептор** находится не в тканях человека, а в **клетке ми/о**.
- **Активность антибиотиков** не является постоянной, а снижается со временем, что обусловлено формированием резистентности.
- **Резистентность** – неизбежное биологическое явление, предотвратить ее практически невозможно.
- **Антибиотикорезистентность** – это опасность не только для пациента, но для многих других людей.

## Классификация антибиотиков

- **По происхождению: 5 групп**
  - из грибов (*пенициллин, цефалоспорины*),
  - из бактерий (*грамцидин С, стрептомицин, полимиксины*),
  - растительного происхождения (*лук, чеснок*) или животного (*экмолин* - из тканей рыб, *эктерицид* - из рыбьего жира),
  - синтетические (*левомецетин*).



# Классификация антибиотиков

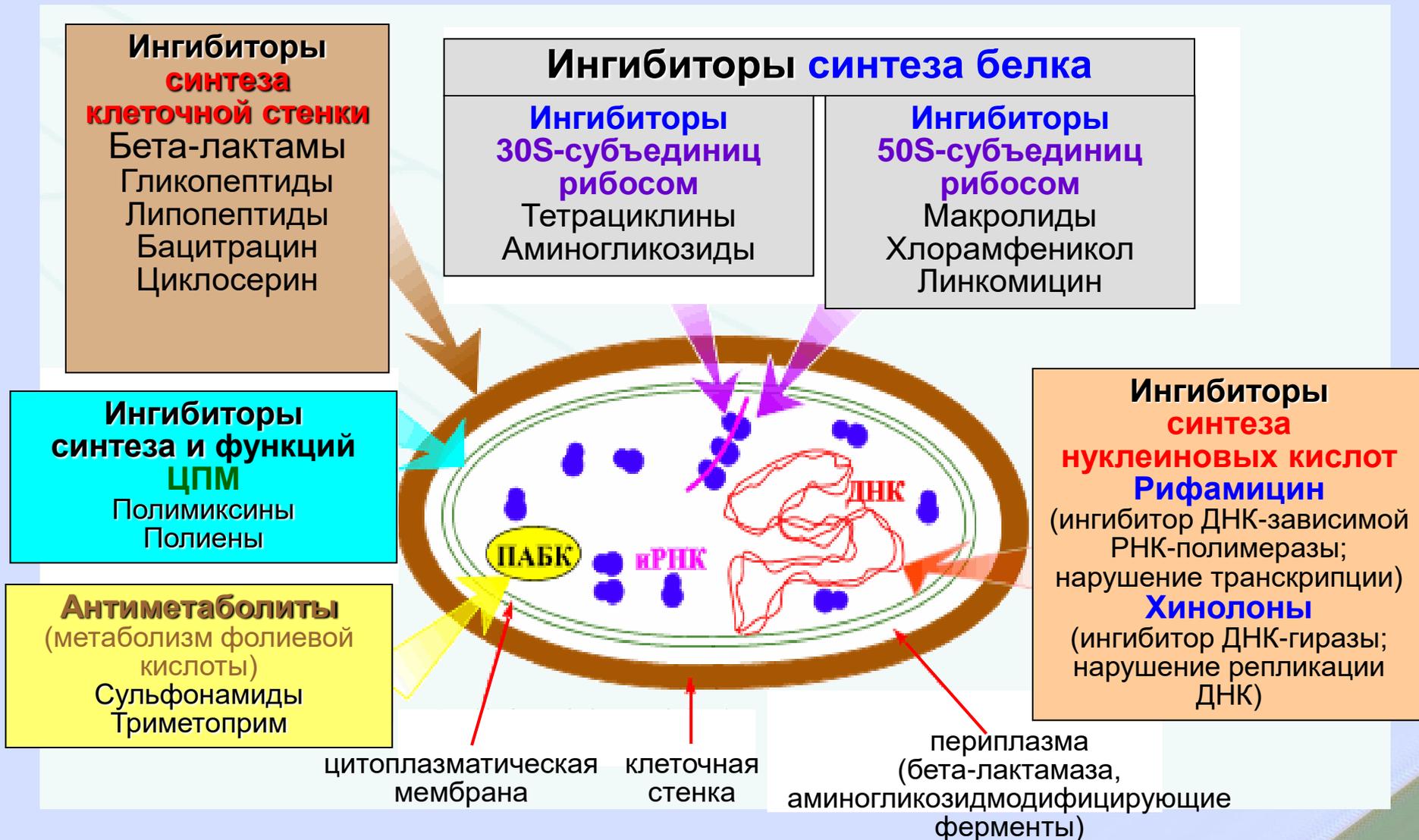
- **По направленности ингибирующего действия: 4 группы**
  - антибактериальные,
  - антифунгицидные,
  - противопротозойные,
  - противоопухолевые.
- **По химической структуре:**
  - **беталактамы** (*пеницилины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы*),
  - **гликопептиды** (*ванкомицин и тейкоплакин*),
  - **липopeптиды** (*даптомицин*),
  - **аминогликозиды** (*стрептомицин, канамицин, гентамицин*),
  - **макролиды** (*эритромицин, олеандомицин, спирамицин*),
  - **тетрациклины** (*окситетрациклин, метациклин*),
  - **полипептиды** (*полимиксины*),
  - **полиены** (*нистатин, леворин, амфотерицин В, фунагиллин*),
  - **рифамицины** (*рифампицин, рифамицин*),
  - **хлорамфеникол/левомицетин** и др.



## Классификация антибиотиков по механизму действия:

- **По механизму действия: 4 группы** нарушающие:
  - синтез клеточной стенки (*бета-лактамы, гликопептиды, липопептиды*),
  - молекулярную организацию и синтез клеточных мембран (*полимиксины, полиены*),
  - синтез белка на рибосомах бактерий (*аминогликозиды, макролиды, тетрациклины, левомецетин*),
  - синтез нуклеиновых кислот (*актиномицины- синтез РНК, рубомицин – синтез ДНК*).
- **По типу действия на микроорганизмы:**
  - **Микробостатические** (**бактериостатические, фунгистатические**) – ингибируют рост и размножение, но не вызывают гибели микроорганизмов (*макролиды*);
  - **Микробоцидные** (**бактерицидные, фунгицидные**) – убивают микроорганизмы (*пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды*).

# Механизм действия антибиотиков на бактерии



Группы препаратов	Основной механизм действия
<p><b>Бета-лактамы</b> (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и другие), гликопептиды (ванкомицин, тейкопланин и другие)</p>	<p><b>Нарушение биосинтеза клеточной стенки</b> (ингибирование синтеза пептидогликанов на различных стадиях)</p>
<p><b>Аминогликозиды</b> (гентамицин, амикацин, нетелмицин и другие), макролиды (эритромицин, кларитромицин, азитромицин и другие), линкозамины (клиндамицин и другие), тетрациклины (доксциклин и другие), фениколы (хлорамфеникол)</p>	<p><b>Ингибиторы синтеза белка на уровне рибосом</b> (связывание с субъединицами рибосом, нарушение процесса считывания информации с РНК)</p>
<p><b>Рифамицины</b> (рифампицин и другие)</p>	<p><b>Нарушение биосинтеза РНК</b> (ингибиторы РНК-полимеразы)</p>
<p><b>Фторхинолоны</b> (ципрофлоксацин, офлоксацин, норфлоксафн, ломефлоксацин)</p>	<p><b>Нарушение биосинтеза ДНК</b> (ингибиторы ДНК-гиразы и топоизомеразы IV)</p>
<p><b>Нитроимидазолы</b> (метронидазол, орнидазол, тинидазол и другие)</p>	<p><b>Нарушение биосинтеза ДНК</b> (связывание с ДНК и деградация ДНК продуктами восстановления нитроимидазолов)</p>



# Методы определения чувствительности к антибиотикам

Из-за формирования антибиотикоустойчивых популяций микроорганизмов с целью эффективного лечения необходимо предварительно определять чувствительность выделенной культуры возбудителя к антибиотикам.

- **in vitro** – метод диффузии в агар (бумажных дисков) и серийных разведений (в жидкой и на плотной питательной среде); экспресс-метод; молекулярно-генетические методы (ПЦР и др.) – позволяют исследовать геном микробов и обнаружить в нем гены резистентности.
- **in vivo** – на модели безмикробных животных, определение концентрации антибиотиков в крови и моче.

Но каким – вопрос?

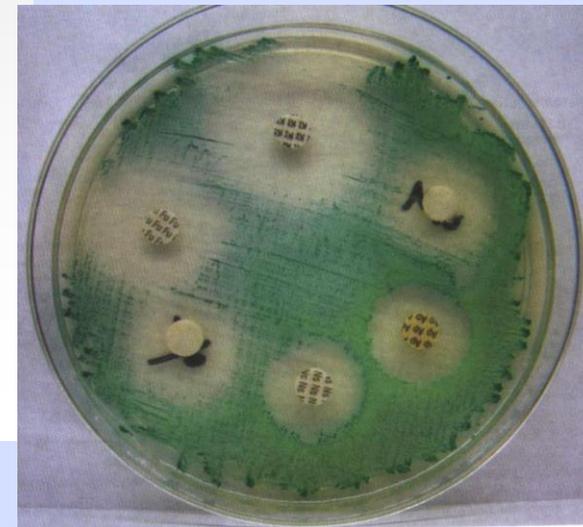


# Метод диффузии в агар

- Оценка результатов связана с существованием зависимости между **размером зоны подавления роста** исследуемых культур вокруг дисков и **значениями минимальных ингибирующих концентраций (МИК) антибиотиков** (чувствительностью микроорганизмов).
- Готовится взвесь культуры и вносится в чашку Петри с МПА («посев газоном»). На агар накладывают бумажные диски, пропитанные антибиотиком, на расстоянии между центрами дисков ~ 3 см. Чашки термостатируют и измеряют стерильную зону линейкой, через центр диска.
- Имеются таблицы для оценки результатов **по диаметру стерильной зоны вокруг диска**:  
**15 мм и более** – культура высокочувствительна,  
**10 мм** – культура чувствительна,  
**менее 10 мм** – культура малочувствительна,  
**отсутствие стерильной зоны** – культура не чувствительна.



Метод индикаторных дисков





# Метод серийных разведений

Позволяет более точно определить МИК

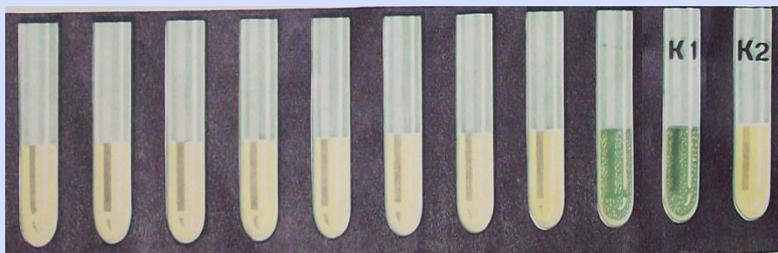
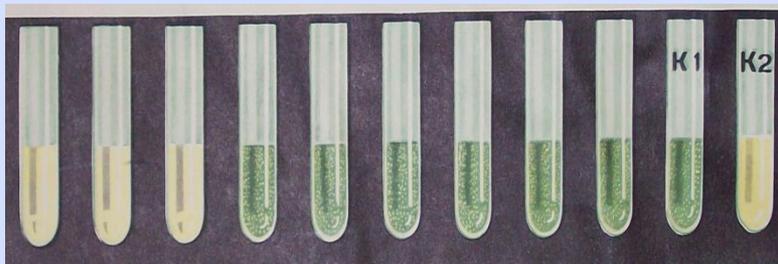
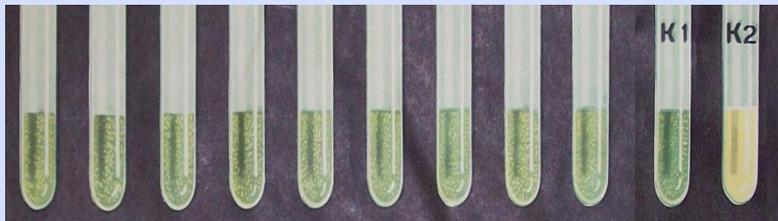
Готовят разведения антибиотика в бульоне в пробирках. Добавляют во все пробирки одинаковое количество бактериальной взвеси, содержащей  $\approx 10^7$  бактерий в 1мл.

**Контроль:** пробирка **K1** – бульон и взвесь культуры (без антибиотика), пробирка **K2** – бульон и антибиотик (без культуры). Посевы термостатируют 24 ч.

Результаты оценивают по помутнению питательной среды, сравнения с контролем.

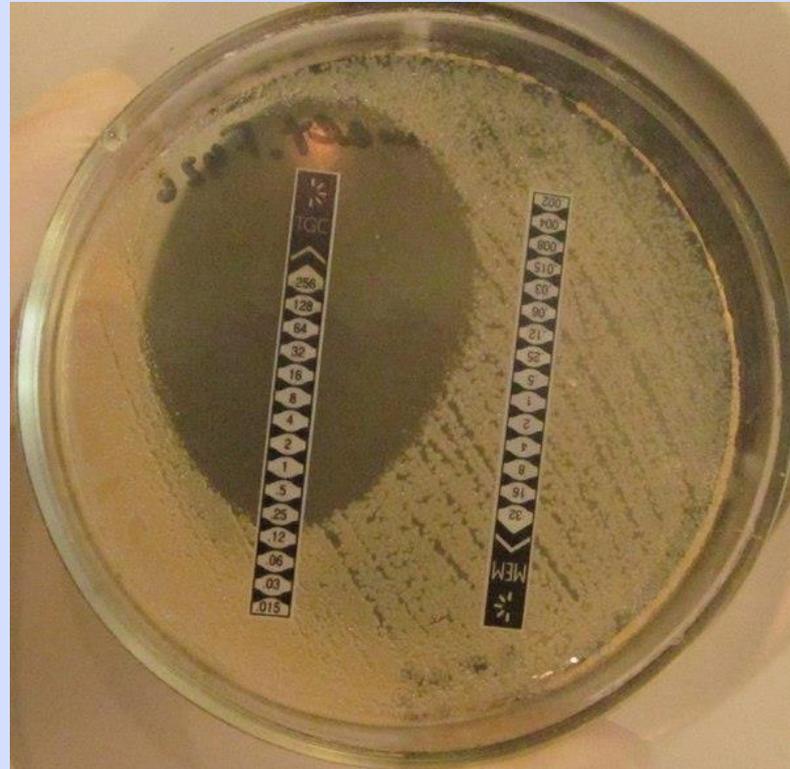
*Последняя пробирка с разведением, где нет помутнения, т.е. роста культуры, и будет минимальной ингибирующей концентрацией антибиотика.*

1 ряд - антибиотик не эффективен; 2 ряд - мало эффективен;  
3 ряд - эффективен





## *Е-тест* определения чувствительности к антибиотикам



- **Схема постановки Е-теста.** Бумажные полоски, пропитанные рядом убывающих концентраций антибиотика, как и диски, укладывают на поверхность МПА, засеянного испытуемой культурой в виде «газона». После инкубирования вокруг полоски формируется эллипсоидная зона задержки роста, которая сужается в области малых концентраций и пересекает полоску на уровне, соответствующей величине МИК.



# Антимикробная активность антибиотиков

Существует ряд причин, обуславливающих различную чувствительность микроорганизмов к антибиотикам *in vitro* и *in vivo*.



Автоматический диспенсер для нанесения дисков с антибиотиками на чашки Петри

На антимикробную активность **in vitro** влияют многие факторы:

- рН среды;
- компоненты среды;
- концентрация микроорганизмов;
- условия и время культивирования.

На антимикробную активность **in vivo** влияют:

- фармакодинамика препарата в организме (скорость всасывания, выведения, расщепления и т.д.);
- локализация микробов в организме (особенно внутриклеточная).

# Принципы рациональной антимикробной терапии



- **Микробиологический:** применять строго по результатам антибиотикограммы, в минимальной подавляющей концентрации;
- **Фармакологический:** определять оптимальные дозы и методы введения, продолжительность введения, комбинирование препаратов;
- **Клинический:** учитывать общее состояние больного, возраст, иммунный статус, сопутствующие заболевания, беременность;
- **Эпидемиологический:** знать к каким антибиотикам устойчивы микроорганизмы, обитающие в среде, окружающей больного;
- **Фармацевтический:** учитывать срок годности и условия хранения.

# Осложнения и побочные действия антибиотиков

## Для макроорганизма:

- **аллергические реакции** (зуд, покраснение, астма, анафилактический шок), для предупреждения ставят кожные пробы;
- **токсическое действие:** на печень, почки, органы кроветворения, слух, ЖКТ, нервную систему (стрептомицин - на слух, тетрациклин на печень, левомицетин на кроветворные органы); эндотоксический шок;
- **иммунодепрессивное действие:** нарушение антителообразования приводит к рецидивам, повторным заболеваниям;
- **тератогенное действие тетрациклин** - уродство плода;
- **феномен Герца-Геймера** (реакция обострения) - интоксикация, вызванная эндотоксином, выделяющимся при массовой гибели ГР- микроорганизмов;
- **дисбиоз** (дисбактериоз).

## Для микроорганизмов:

- формирование атипичных форм (L-форм);
- образование а/б резистентных (часто) и а/б зависимых (редко) форм микроорганизмов.

# Механизм устойчивости бактерий к антибиотикам

- **Природная и приобретенная устойчивость.**

**Природная** – врожденный видовой признак (отсутствие мишени для антибиотика или ее недоступность).

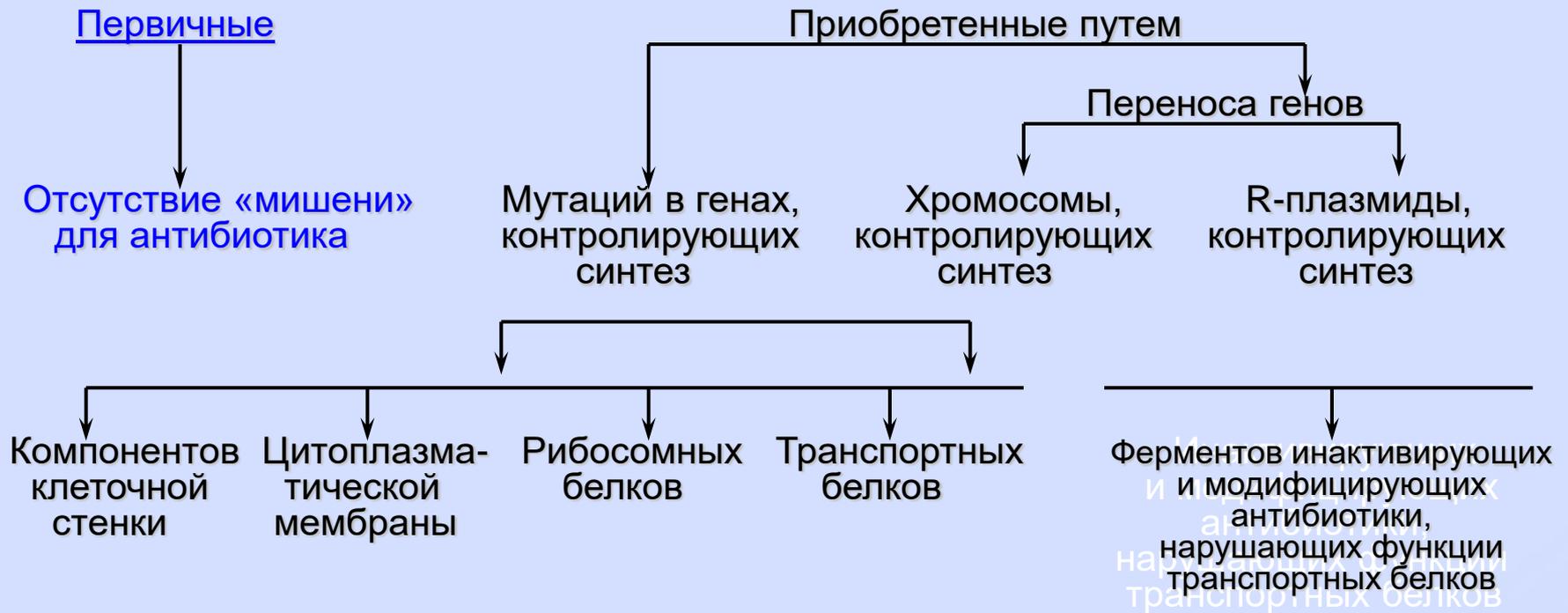
**Приобретенная** – связана с адаптацией к антибиотикам и возникает в результате мутаций в геноме; переноса R-плазмид и транспозонов, несущих гены резистентности; экспрессии генных каскадов (*содержащих гены резистентности*) интегронами (*интегроны – это генетические элементы, которые содержат в себе ген интегразы*).

- **Реализация приобретенной устойчивости**

- Изменение структуры мишеней (модификация) и рецепторных зон оболочек клетки (образование L-форм).
- Недоступность мишени (снижение проницаемости ЦПМ или выброс антибиотика из клеточных мембран).
- Инактивация антибиотика бактериальными ферментами.
- Включение коллатеральных путей обмена.



# Механизмы резистентности микроорганизмов к антибиотикам



# Механизмы резистентности: важнейший механизм - ферментативный

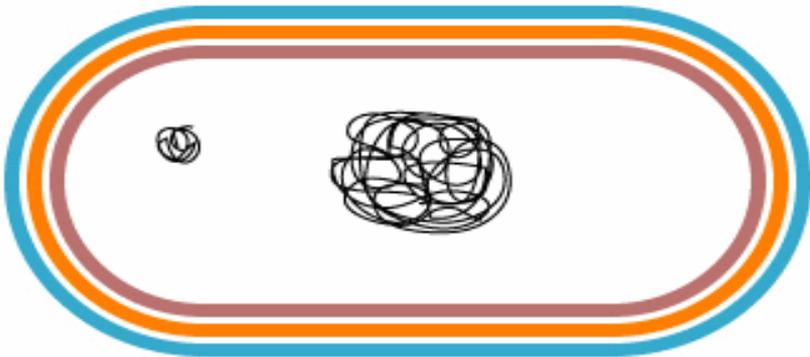


## Продукция ферментов:

- разрушающих антибиотик, таких как  **$\beta$ -лактамазы** (разрушают  $\beta$ -лактамное кольцо);
- модифицирующих антибиотик (добавляются новые химические группы, инактивирующие антибиотик).

У Гр- эти ферменты локализируются в периплазматическом пространстве.

У Гр+ взаимодействуют с антибиотиком **внеклеточно**.

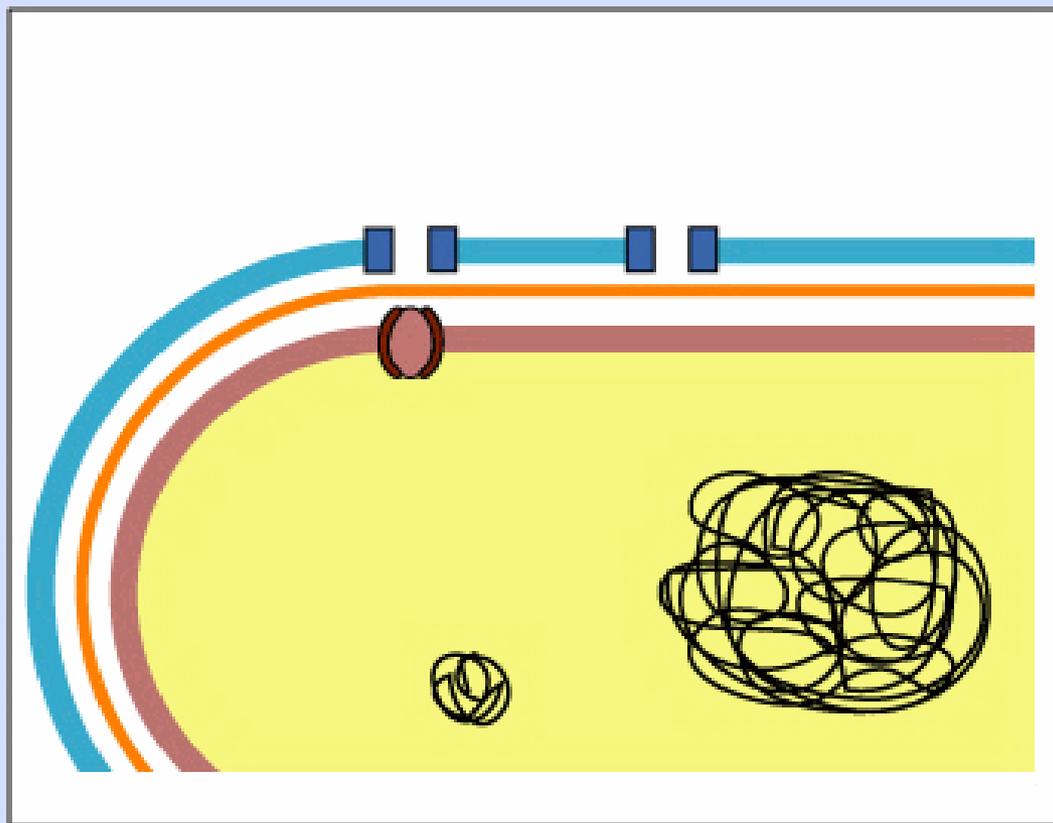
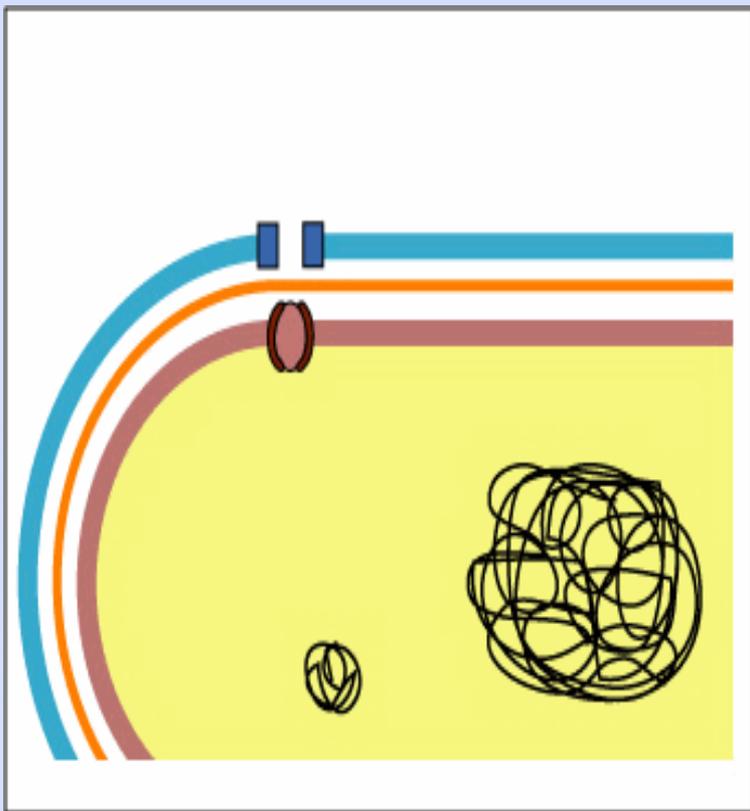


**Бета - лактамазный тест:** определение способности бактерий продуцировать бета - лактамазы. Чаще это метод дисков с **нитроцефином** – цефалоспорином, изменяющим окраску дисков при гидролизе. Диск наносят на бактерии, выросшие в чашке Петри. Через 10-60 мин. диск изменяет окраску с желтоватой на коричнево-малиновую, если культура продуцирует бета - лактамазы.

Положительный тест свидетельствует о резистентности бактерий ко всем антибиотикам, имеющим в структуре бета - лактамное кольцо.

# **Механизмы резистентности:** **изменение проницаемости клеточных мембран** **и структуры транспортных систем**

Например, эффект «помпы» при резистентности к тетрациклину

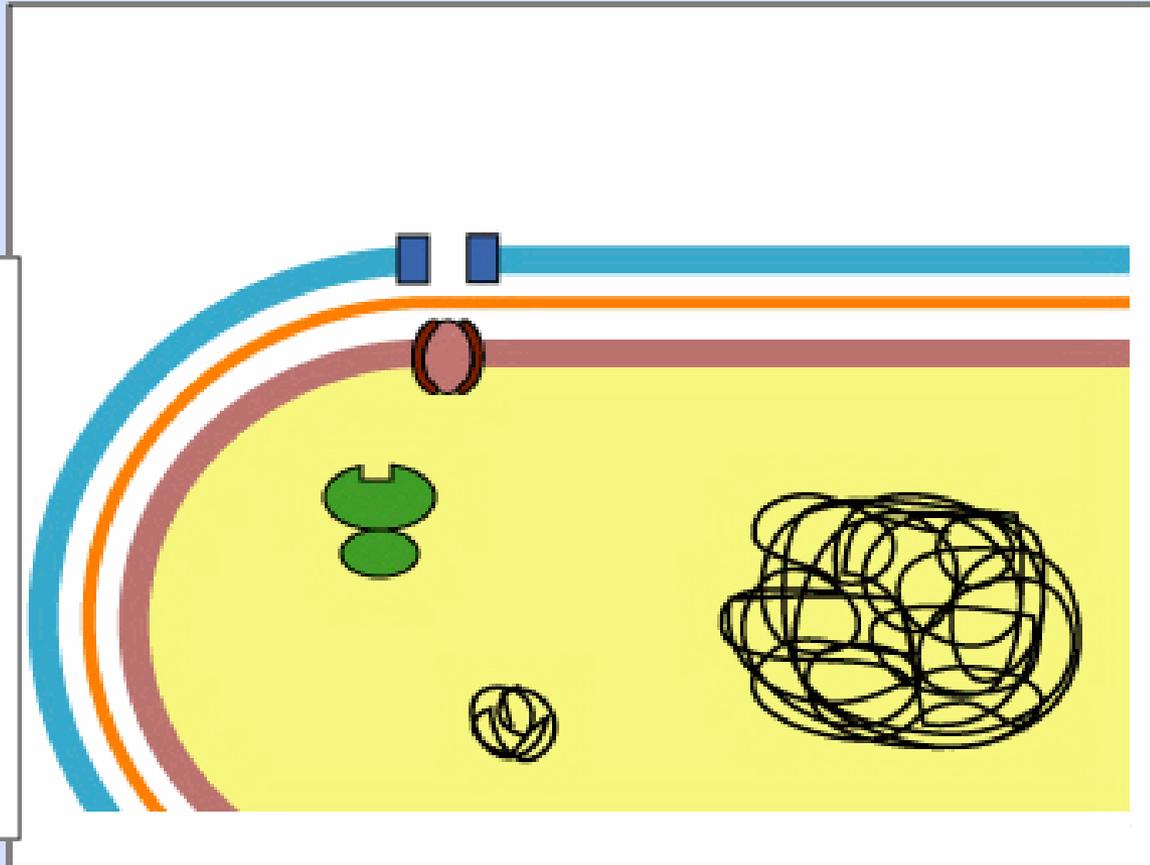


# Механизм резистентности

**Изменение структуры мишени транспептидазы (ПСП)** – антибиотик не может связаться с мишенью и возникает резистентность ко всем бета-лактамным антибиотикам (MRSA).



**Ферментативный.** Метилирование 2-х адениловых остатков в 23S рибосомальной РНК -антибиотик не соединяется с рибосомой.





# Противовирусные химиопрепараты

Аналоги нуклеозидов, синтетические пептиды, аналоги пирофосфата, тиосемикарбизонов, синтетические амины.

## По механизму действия:

- **нарушающие процессы проникновения вируса в клетку и его депротенинизацию** (синтетические амины – *амантадин*, нарушает процесс «раздевания», синтетические пептиды – *энфувиртид*, ингибирует слияние);
- **ингибиторы синтеза вирусных нуклеиновых кислот** (аналоги нуклеозидов – *йодооксиуридин*);
- **ингибиторы вирусных ферментов:**
  - полимеразы ингибируют – аналог гуанозина – *ацикловир*, а также аналог тимидина – *видарабин*;
  - обратную транскриптазу ингибируют – нуклеозидные – *зидовудин* и ненуклеозидные ингибиторы – *невирапин*;
- **ингибиторы процессов формирования новых вирионов** (производный тиосемикарбизонов – *метисазон*, блокирует поздние стадии вирусной репликации; синтетические пептиды – *оселтамивир*, ингибирует нейраминидазу и отпочковывание новых вирионов);
- **инактиваторы внеклеточных вирионов** (*оксалин*).



# Требования к применению антибиотиков

- **Эффективность** в низких концентрациях:  
– выраженный бактериостатический и (или) бактерицидный эффект.
- **Стабильность** в организме и в различных условиях хранения.
- **Низкая токсичность** или ее отсутствие.
- **Отсутствие побочных эффектов**, прежде всего- иммунодепрессивного действия.

Аллерготоксикодермия,  
вызванная **эритромицином**:  
эритема с крупнопластинчатым  
шелушением на щеках





## Требования к применению антибиотиков

### Основные:

- максимальное антимикробное действие на возбудителя в минимальных концентрациях;
- специфичность антимикробного действия;
- безвредность для организма хозяина;
- сохранение активности в биологическом организме;
- медленное привыкание;
- сохранение активности при длительном хранении.

### Дополнительные:

- хорошая растворимость и выводимость,
- сохранение активности в выделениях организма;
- выведение из организма определенными путями.

# Механизмы кворум-сенсинга между микробами в биоплёнке

---

В настоящее время наблюдается переход от традиционного представления о бактериях как строго одноклеточных организмах к представлению о микробных сообществах как целостных структурах, регулирующих свои поведенческие реакции в зависимости от изменения условий обитания.

**Понятие «ощущение кворума» (Quorum Sensing)** было предложено в 1994 г. Оно означает восприятие клетками изменений среды, которые наступают при достижении бактериальной культурой некоторой пороговой численности, и реакцию на эти изменения. К числу процессов, протекающих лишь при достаточно высокой плотности популяции, относятся следующие явления:

- стимуляция роста у стрептококков и ряда других микробов;
- конъюгация с переносом плазмид у *Enterococcus faecalis* и родственных видов;
- синтез экзоферментов и других факторов вирулентности у *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и др.;
- образование антибиотиков у бактерий рода *Streptomyces*;
- формирование биоплёнок у *P.aeruginosa* и других бактерий.

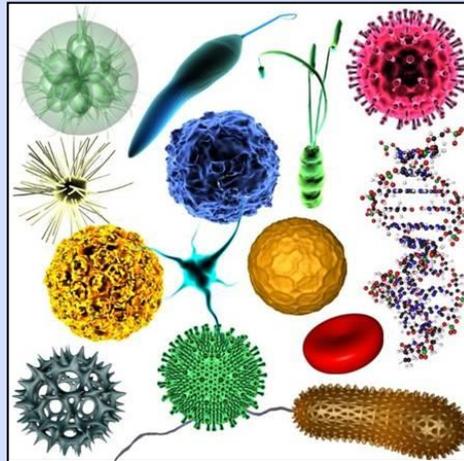
# Механизмы кворум-сенсинга между микробами в биоплёнке

**Кворум – сенсинг** (чувство сообщества бактерий или информации о плотности заселения). Механизмы этих реакций различаются у Гр+ и Гр- бактерий.

**Олигопептиды** у Гр+ бактерий, высокоспецифичны, активируются и выделяются из клеток, могут индуцировать синтез ферментов агрессии и экзотоксинов

**N-ацилгомосеринлактоны** у Гр– бактерий, распознаются белками-регуляторами транскрипции, что позволяет «включать» синтез различных специфических молекул

**Аутоиндукторы AI-2** являются регуляторами деятельности внутриклеточных метилтрансфераз





**Спасибо за внимание!**