

АНТИБИОТИКИ

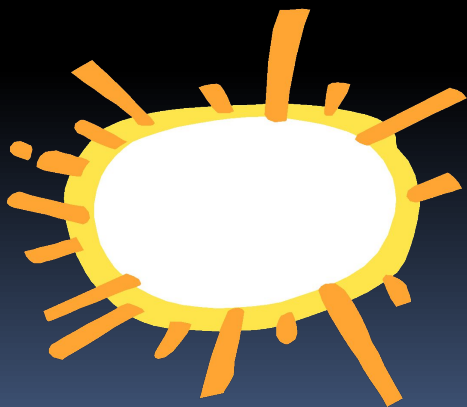


Антибиотики - это
лекарственные средства,
избирательно угнетающие
жизнедеятельность
микроорганизмов.

в России используется 30 групп антибиотиков,
число препаратов приближается к 200.

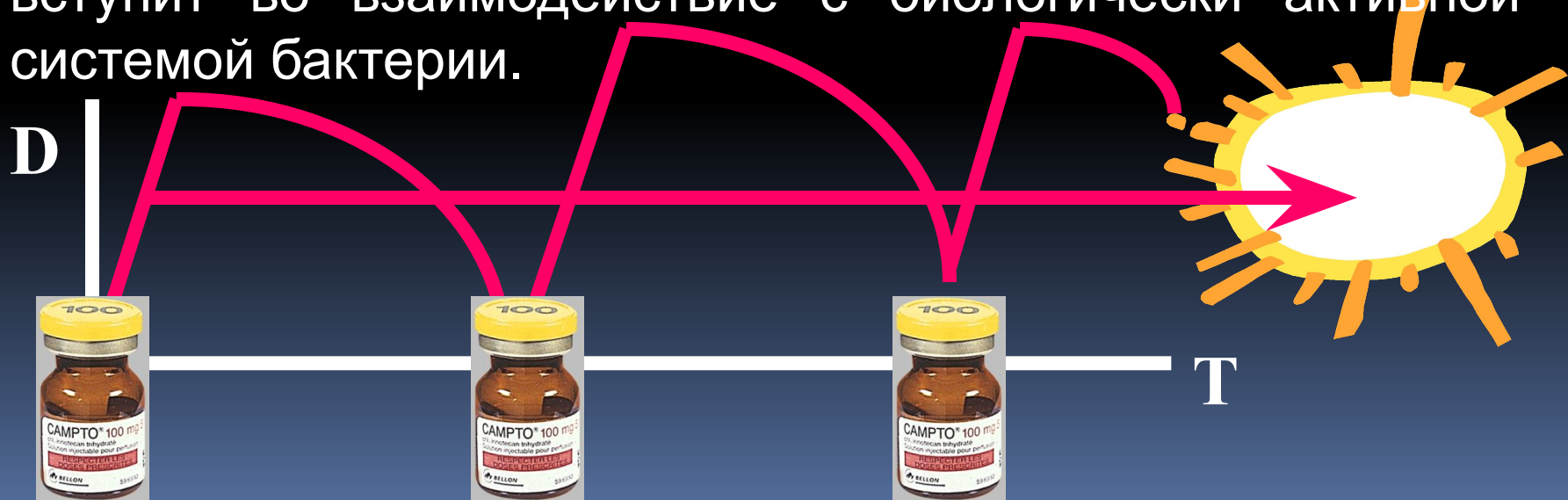
Особенности антибиотиков

1. Мишень-рецептор находится не в тканях человека, а в клетке микроорганизма.
2. Активность антибиотиков не является постоянной, а снижается со временем, что обусловлено формированием лекарственной устойчивости (резистентности).



Условия действия антибиотиков

- 1) Биологически важная для жизнедеятельности бактерий система должна реагировать на воздействие низких концентраций препарата через определенную точку приложения (наличие «мишени»)
- 2) Антибиотик должен обладать способностью проникать в бактериальную клетку и воздействовать на точку приложения;
- 3) Антибиотик не должен инактивироваться раньше, чем вступит во взаимодействие с биологически активной системой бактерии.



Принципы рационального назначения антибиотиков (1-5)

Компонента «больной»

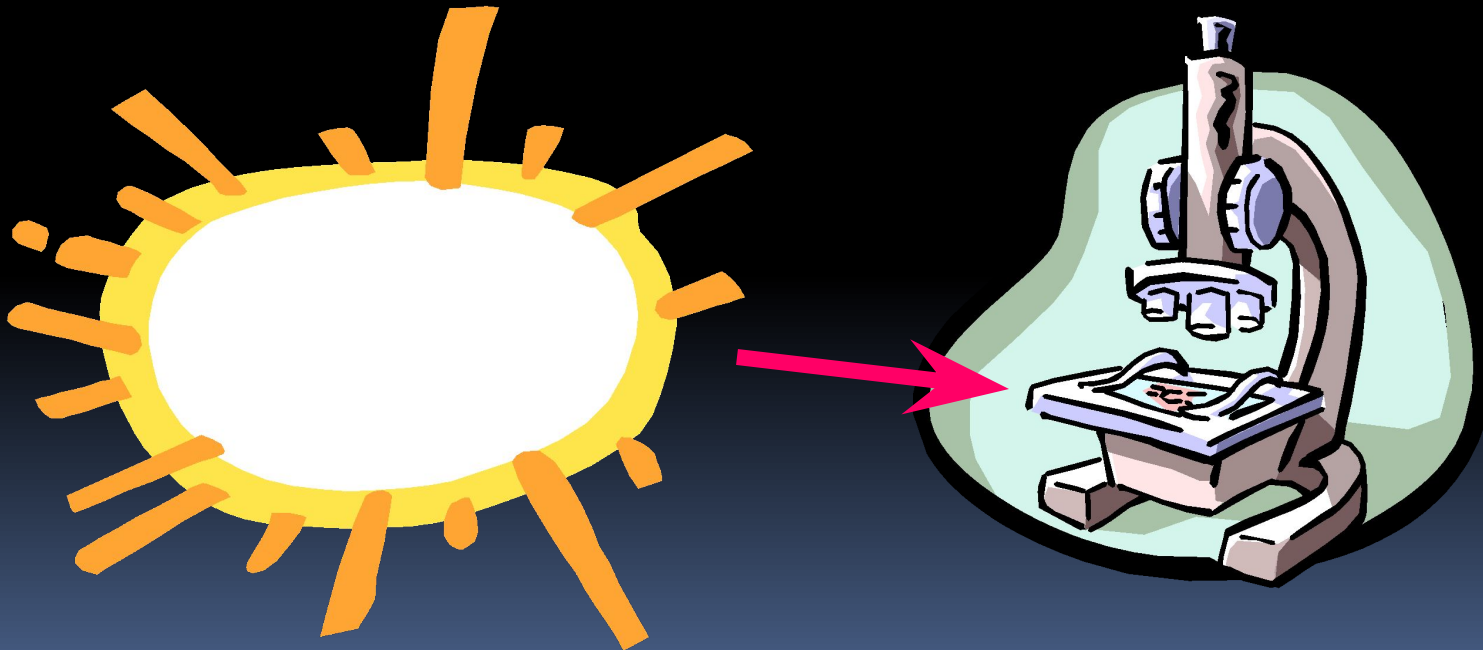
1. Материал для микробиологической диагностики следует брать до начала лечения.
2. Учет факторов - возраст, переносимость до начала эмпирической терапии



Принципы рационального назначения антибиотиков (2-5)

Компонента «микроорганизм»

3. Учет факторов - чувствительность, резистентность, устойчивость, выживаемость



Принципы рационального назначения антибиотиков (3-5)

Компонента «врач»

4. Необходимо иметь современную и объективную информацию о препаратах

5. Комплаентность с больным, контроль выполнения назначений



Принципы рационального назначения антибиотиков (4-5)

Общие принципы

6. Максимальные дозы до полного преодоления болезни; предпочтительный способ введения препаратов — парентеральный. Местное и ингаляционное применение антибактериальных препаратов должно быть сведено до минимума.

7. Периодическая замена препаратов недавно созданными или редко назначаемыми (резервными).

Принципы рационального назначения антибиотиков (5-5)

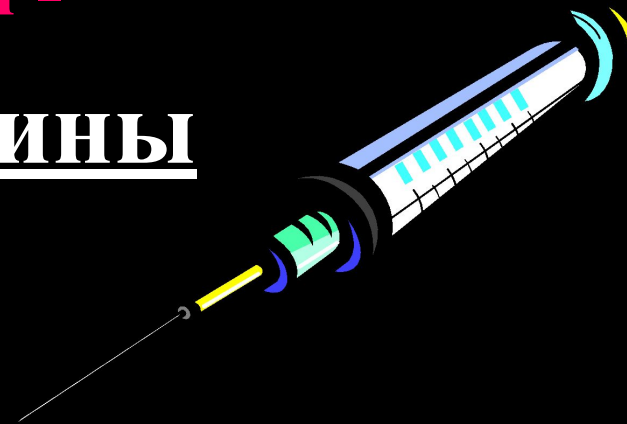
Общие принципы

8. Проведение программы циклической замены антибактериального препарата.
9. Комбинированное использование препаратов, к которым развивается устойчивость.
10. Не следует заменять один антибактериальный препарат на другой, к которому существует перекрестная устойчивость.

Классификация и механизм действия

β -лактамные антибиотики -

Пенициллины



Природные:

бензилпенициллин (пенициллин -
натриевая и калиевая соли),

бензилпенициллин прокаин,
бензатин бензилпенициллин,
феноксиметилпенициллин.

Гр « + »

Полусинтетические:

1. Изоксазолилпенициллины (пенициллиназоста-
бильные, антистафилококковые): оксациллин
2. Аминопенициллины: ампициллин,
амоксициллин
3. Карбоксипенициллины (антисинегнойные):
карбенициллин, тикарциллин
4. Уреидопенициллины: азлоциллин,
пиперациллин
5. Ингибиторозащищенные пенициллины:
амоксициллин/клавуланат,
Гр «+» Гр «-» ампициллин/сульбактам

Механизм действия β -лактаминов

Мишень действия - пенициллиносвязывающие белки бактерий, выполняющих роль ферментов на завершающем этапе синтеза пептидогликана - биополимера, являющегося основным компонентом клеточной стенки бактерий.

Блокирование синтеза пептидогликана приводит к гибели бактерии. Эффект бактерицидный.

Пептидогликан и пенициллиносвязывающие белки отсутствуют у млекопитающих => специфическая токсичность в отношении макроорганизма для β -лактамов не характерна.

Для преодоления приобретенной устойчивости микроорганизмов, вырабатывающих особые ферменты - β -лактамазы (разрушающих β -лактамы), разработаны необратимые **ингибиторы β -лактамаз** -

- клавулановая кислота (клавуланат),
- сульбактам,
- тазобактам.



Они используются при создании комбинированных (ингибиторозащищенных) пенициллинов.

Лекарственные взаимодействия (1-2)

Пенициллины нельзя смешивать в одном шприце или в одной инфузионной системе с **аминогликозидами** ввиду их физико-химической несовместимости.

При сочетании ампициллина с аллопурином возрастает риск "ампициллиновой" сыпи.

Применение высоких доз бензилпенициллина калиевой соли в сочетании с **калийсберегающими диуретиками, препаратами калия или ингибиторами АПФ** предопределяет повышенный риск гиперкалиемии.

Лекарственные взаимодействия (2-2)

Требуется соблюдать осторожность при сочетании пенициллинов, активных в отношении синегнойной палочки, с **антикоагулянтами и антиагрегантами** ввиду потенциального риска повышенной кровоточивости.

Следует избегать применения пенициллинов в сочетании с **сульфаниламидами**, так как при этом возможно ослабление их бактерицидного эффекта.

β-лактамные антибиотики -

Цефалоспорины

I поколение

Парентеральные

Цефазолин

Пероральные

Цефалексин

Цефадроксил



Гр « + »

II поколение

Парентеральные

Цефуроксим

Пероральные

Цефуроксим аксетил

Цефаклор

Гр « + » Гр « - »



III поколение

Парентеральные

Цефотаксим

Цефтриаксон

Цефтазидим

Цефоперазон

Пероральные

Цефиксим

Цефтибутен



Гр « - »

IV поколение

Парентеральные

Цефепим, Цефпиром

Активны в отношении некоторых штаммов, устойчивых к III поколению цефалоспоринов. Более высокая устойчивость к β -лактамазам широкого и расширенного спектра действия.

Показания - лечение тяжелых нозокомиальных инфекций, вызванных полирезистентной флорой; инфекций на фоне нейтропении.

Лекарственные взаимодействия

При сочетании с **аминогликозидами** и/или **петлевыми диуретиками**, особенно у пациентов с нарушениями функции почек, возможно повышение риска нефротоксичности.

Антациды снижают всасывание пероральных цефалоспоринов в ЖКТ. Между приемами этих препаратов должны быть интервалы не менее 2 ч.

При сочетании цефоперазона с **антикоагулянтами**, **тромболитиками** и **антиагрегантами** возрастает риск кровотечений, особенно желудочно-кишечных.

В случае употребления **алкоголя** на фоне лечения цефоперазоном может развиваться дисульфирамоподобная реакция.

β-лактамные антибиотики

Карбапенемы: имипенем, меропенем

Препараты резерва, более устойчивые к действию бактериальных β-лактамаз, более быстро проникают через наружную мембрану грамотрицательных бактерий, обладают более широким спектром активности и применяются при тяжелых инфекциях различной локализации, включая нозокомиальные (внутрибольничные).

Гр « + »

Гр « - »

Анаэробы

Лекарственные взаимодействия

Карбапенемы нельзя применять в сочетании с другими β -лактамными антибиотиками ввиду их антагонизма.

Не рекомендуется смешивать карбапенемы в одном шприце или инфузионной системе с другими препаратами.



β-лактамные антибиотики

Монобактамы: (моноциклические β-лактамы)

азтреонам

Препарат резерва, узкого спектра действия, его следует назначать в сочетании с препаратами, активными в отношении грамположительных кокков (оксациллин, цефалоспорины, линкосамиды, ванкомицин) и анаэробов (метронидазол)

Гр « - » аэробы

Группа аминогликозидов

I поколение:

Стрептомицин, Неомицин, Канамицин

II поколение:

Гентамицин, Тобрамицин, Нетилмицин

III поколение:

Амикацин

Гр « + » Гр « - » аэробы

Механизм действия

Бактерицидное действие, нарушение синтеза белка рибосомами.

Степень антибактериальной активности аминогликозидов зависит от их концентрации.

При совместном использовании с пенициллинами или цефалоспорины наблюдается синергизм в отношении грамотрицательных и грамположительных аэробных микроорганизмов.

Основное клиническое значение аминогликозиды имеют при лечении нозокомиальных инфекций, вызванных аэробными грамотрицательными возбудителями, а также инфекционного эндокардита.

Стрептомицин и канамицин используют при лечении туберкулеза.

Неомицин как наиболее токсичный среди аминогликозидов применяется только внутрь и местно.

Лекарственные взаимодействия

Нельзя смешивать в одном шприце или одной инфузионной системе с β -лактамными антибиотиками или гепарином вследствие физикохимической несовместимости.

Усиление токсических эффектов при одновременном назначении двух аминогликозидов или при их сочетании с другими нефро- и ототоксичными препаратами: полимиксином В, амфотерицином В, этакриновой кислотой, фуросемидом, ванкомицином.

Усиление нервно-мышечной блокады при одновременном применении средств для ингаляционного наркоза, опиоидных анальгетиков, магния сульфата и переливании больших количеств крови с цитратными консервантами.

Индометацин, фенилбутазон и другие НПВП, нарушающие почечный кровоток, замедляют скорость выведения аминогликозидов.

Группа аминоциклитолов

(структурно сходны с аминогликозидами)

Природные: Спектиномицин

Механизм действия

Бактериостатическое действие, подавление синтеза белка рибосомами бактериальных клеток.

Узкий спектр антимикробной активности - гонококки, в том числе - штаммы, резистентные к пенициллину

Группа хинолонов/фторхинолонов

I поколение (нефторированные хинолоны):

3 кислоты - налидиксовая, оксолиновая и
пипемидовая (пипемидиевая)

узкий спектр, препараты 2-го ряда при инфекции МВП и кишечника

Гр « - »

II поколение (фторхинолоны):

ломефлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин,
пефлоксацин, ципрофлоксацин.

Гр « - »

Гр « + »

Механизм действия

Хинолоны/фторхинолоны оказывают бактерицидный эффект, ингибируя жизненно важный фермент микробной клетки - ДНК-гиразу и нарушая биосинтез ДНК.

Лекарственные взаимодействия (1-4)

При одновременном применении с антацидами и другими препаратами, содержащими ионы магния, цинка, железа, висмута, может снижаться биодоступность хинолонов вследствие образования невсасывающихся хелатных комплексов.

Могут замедлять элиминацию метилксантинов и повышать риск их токсических эффектов.

При сопутствующем применении НПВС, производных нитроимидазола и метилксантинов повышается риск нейротоксических эффектов.

Лекарственные взаимодействия (2-4)

Хинолоны проявляют антагонизм с **производными нитрофурана**, поэтому следует избегать комбинаций этих препаратов.

Хинолоны I поколения, ципрофлоксацин и норфлоксацин могут нарушать метаболизм **непрямых антикоагулянтов** в печени, что приводит к увеличению протромбинового времени и риску кровотечений. При одновременном применении может понадобиться коррекция дозы антикоагулянта.

Лекарственные взаимодействия (3-4)

Повышают кардиотоксичность препаратов, удлиняющих интервал QT на электрокардиограмме, так как увеличивается риск развития сердечных аритмий.

При одновременном назначении с глюкокортикоидами повышается риск разрывов сухожилий, особенно у пожилых.

Лекарственные взаимодействия (4-4)

При назначении ципрофлоксацина, норфлоксацина и пефлоксацина совместно с **препаратами, ощелачивающими мочу** (ингибиторы карбоангидразы, цитраты, натрия бикарбонат), увеличивается риск кристаллурии и нефротоксических эффектов.

При одновременном применении с **азлоциллином и циметидином** в связи со снижением канальцевой секреции замедляется элиминация фторхинолонов и повышаются их концентрации в крови.

Группа макролидов

14-членные:

Природные - Эритромицин

Полусинтетические - Кларитромицин,
Рокситромицин

15-членные (азакиды):

Полусинтетические - Азитромицин

16-членные:

Природные - Спирамицин, Джозамицин,
Мидекамицин

Полусинтетические - Мидекамицина ацетат

Гр « + »

Механизм действия

Макролиды временно прекращают размножение грамположительных кокков. Эффект обусловлен нарушением синтеза белка рибосомами микробной клетки.

Как правило, макролиды оказывают бактериостатическое действие, но в высоких концентрациях способны действовать бактерицидно на бета-гемолитический стрептококк группы А, пневмококк, возбудителей коклюша и дифтерии.

Обладают умеренной иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью.

Угнетают цитохром Р-450 в печени.

Лекарственные взаимодействия (1-2)

Макролиды ингибируют метаболизм и повышают концентрацию в крови **непрямых антикоагулянтов, теофиллина, карбамазепина, вальпроевой кислоты, дизопирамида, препаратов спорыньи, циклоспорина.**

Опасно сочетать макролиды с **терфенадином, астемизолом и цизапридом** ввиду опасности развития тяжелых нарушений сердечного ритма, обусловленных удлинением интервала QT.

Макролиды увеличивают биодоступность **дигоксина** при приеме внутрь за счет ослабления его инактивации кишечной микрофлорой.

Лекарственные взаимодействия (2-2)

Антациды снижают всасывание макролидов, особенно азитромицина, в ЖКТ.

Рифампицин усиливает метаболизм макролидов в печени и снижает их концентрацию в крови.

Макролиды не следует сочетать с линкосамидами ввиду сходного механизма действия и возможной конкуренции.

Эритромицин, особенно при в/в введении, способен усиливать всасывание **алкоголя** в ЖКТ и повышать его концентрацию в крови.

Группа тетрациклинов

Природные: тетрациклин

Полусинтетические: доксициклин

Сохраняют клиническое значение при хламидийных инфекциях, риккетсиозах, боррелиозах и некоторых особо опасных инфекциях, тяжелой угревой сыпи.

Механизм действия

Обладают бактериостатическим эффектом, нарушая синтез белка в микробной клетке.

Гр « - » Гр « + »

Лекарственные взаимодействия (1-2)

При приеме внутрь одновременно с антацидами, содержащими кальций, алюминий и магний, с натрия гидрокарбонатом и холестирамином может снижаться их биодоступность вследствие образования невсасывающихся комплексов и повышения рН желудочного содержимого. Поэтому между приемами перечисленных препаратов и антацидов необходимо соблюдать интервалы 1-3 ч.

Не рекомендуется сочетать тетрациклины с препаратами железа, поскольку при этом может нарушаться их взаимное всасывание.

Лекарственные взаимодействия (2-2)

Карбамазепин, фенитоин и барбитураты усиливают печеночный метаболизм доксициклина и снижают его концентрацию в крови, что может потребовать коррекции дозы данного препарата или замены его на тетрациклин.

При сочетании с тетрациклинами возможно снижение надежности эстрогенсодержащих пероральных контрацептивов.

Тетрациклины могут усиливать действие непрямых антикоагулянтов вследствие ингибирования их метаболизма в печени, что требует тщательного контроля протромбинового времени.

Группа линкосамидов

Природные: линкомицин

Его полусинтетический аналог: клиндамицин

Механизм действия

Оказывают бактериостатическое действие, которое обусловлено ингибированием синтеза белка рибосомами. В высоких концентрациях могут проявлять бактерицидный эффект.

Узкий спектр антимикробной активности - (грамположительные кокки (в качестве препаратов второго ряда) и неспорообразующая анаэробная флора.

Гр « + »

Лекарственные взаимодействия

Антагонизм с хлорамфениколом и макролидами.

При одновременном использовании с опиоидными анальгетиками, ингаляционными наркотическими средствами или миорелаксантами возможно угнетение дыхания.

Каолин- и аттапульгит-содержащие противодиарейные препараты снижают всасывание линкосамидов в ЖКТ, поэтому между приемами этих препаратов необходимы интервалы 3-4 ч.

Группа гликопептидов

Природные: ванкомицин и тейкопланин

Механизм действия

Нарушают синтез клеточной стенки бактерий. Оказывают бактерицидное действие, однако в отношении энтерококков, некоторых стрептококков и коагулазонегативных стафилококков действуют бактериостатически.

Препараты выбора при инфекциях, вызванных MRSA, а также энтерококками, резистентными к ампициллину и аминогликозидам

Гр « + »

Лекарственные взаимодействия

При одновременном применении с местными анестетиками увеличивается риск развития гиперемии и других симптомов гистаминовой реакции.

Аминогликозиды, амфотерицин В, полимиксин В, циклоспорин, петлевые диуретики увеличивают риск нейротоксических эффектов гликопептидов.

Аминогликозиды и этакриновая кислота повышают риск ототоксического действия гликопептидов.

Группа полимиксинов

Полимиксин В - парентеральный

Полимиксин М - пероральный

Механизм действия

Оказывают бактерицидное действие, которое связано с нарушением целостности цитоплазматической мембраны микробной клетки.

Узкий спектр активности, высокая токсичность. Полимиксин В - резервный препарат, применяемый при лечении синегнойной инфекции, Полимиксин М - инфекции ЖКТ.

Гр « - »

Лекарственные взаимодействия

Не следует сочетать полимиксин В с **аминогликозидами и амфотерицином В** (повышение риска нефротоксичности), а также с **миорелаксантами и анестетиками** (угроза развития паралича дыхательных мышц).

Группа рифамицинов

Природные: рифамицин SV, рифамицин S

Полусинтетические: рифампицин, рифабутин

Механизм действия

Бактерицидный эффект, специфические ингибиторы синтеза РНК.

Широкий спектр активности.

Рифампицин - ПТП (противотуберкулезный препарат) первого ряда,

Рифабутин - ПТП второго ряда.

Гр « + » Гр « - »

Лекарственные взаимодействия

Рифампицин - индуктор микросомальных ферментов системы цитохрома Р-450; ускоряет метаболизм многих лекарственных препаратов: **непрямых антикоагулянтов, пероральных контрацептивов, глюкокортикоидов, пероральных противодиабетических средств; дигитоксина, хинидина, циклоспорина, хлорамфеникола, доксициклина, кетоконазола, итраконазола, флуконазола.**

Пиразинамид снижает концентрацию рифампицина в плазме крови в результате воздействия на печеночный или почечный клиренс последнего.

Хлорамфеникол

Природный: Хлорамфеникол (левомицетин)

Механизм действия

Бактериостатическое действие, из-за нарушения синтеза белка рибосомами.

В высоких концентрациях обладает бактерицидным эффектом в отношении пневмококка, менингококка и *H.influenzae*.

Используется как препарат II ряда при лечении менингита, риккетсиозов, сальмонеллезов и анаэробных инфекций.

Лекарственные взаимодействия

Антагонист макролидов и линкосамидов.
Снижает эффективность препаратов железа, фолиевой кислоты и витамина В₁₂ за счет ослабления их стимулирующего действия на гемопоэз.

Ингибитор микросомальных ферментов печени, усиливает эффекты пероральных противодиабетических препаратов, фенитоина, варфарина.

Индукторы микросомальных ферментов печени (рифампицин, фенобарбитал и фенитоин) снижают концентрацию хлорамфеникола в сыворотке крови.



ЛЕКАРСТВЕННАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ



Механизмы резистентности к антибактериальным
препаратам

ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ

Основой терапевтического действия антибактериальных препаратов является подавление жизнедеятельности возбудителя инфекционной болезни в результате угнетения более или менее специфичного для микроорганизмов метаболического процесса. Угнетение происходит в результате связывания антибиотика с мишенью, в качестве которой может выступать либо фермент, либо структурная молекула микроорганизма.

Резистентность микроорганизмов к антибиотикам может быть природной и приобретенной.

- Истинная природная устойчивость характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или недоступности мишени вследствие первично низкой проницаемости или ферментативной инактивации. При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики клинически неэффективны. Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов и легко прогнозируется.
- Под приобретенной устойчивостью понимают свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции. Возможны ситуации, когда большая часть микробной популяции проявляет приобретенную устойчивость. Появление у бактерий приобретенной резистентности не обязательно сопровождается снижением клинической эффективности антибиотика. Формирование резистентности во всех случаях обусловлено генетически: приобретением новой генетической информации или изменением уровня экспрессии собственных генов.



Известны следующие биохимические механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам:

- 1. Модификация мишени действия.**
 - 2. Инактивация антибиотика.**
 - 3. Активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс).**
 - 4. Нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки.**
 - 5. Формирование метаболического "шунта".**
- 

β-лактамные антибиотики

Ферментативная инактивация. Наиболее распространенным механизмом устойчивости микроорганизмов к β-лактамам является их ферментативная инактивация в результате гидролиза одной из связей β-лактамного кольца ферментами **β-лактамазами**. К настоящему времени описано более 200 ферментов, различающихся по следующим свойствам:

Субстратный профиль (способность к преимущественному гидролизу тех или иных β-лактамов, например **пенициллинов** (способность к преимущественному гидролизу тех или иных β-лактамов, например пенициллинов или **цефалоспоринов**, или тех и других в равной степени).

Локализация кодирующих генов (плазмидная или хромосомная). Эта характеристика определяет эпидемиологию резистентности. При плазмидной локализации генов происходит быстрое внутри- и межвидовое распространение резистентности, при хромосомной - наблюдают распространение резистентного клона.

Чувствительность к применяющимся в медицинской практике ингибиторам: клавулановой кислоте, сульбактаму и тазобактаму.

β-лактамные антибиотики

β-лактамазы встречаются у подавляющего большинства клинически значимых микроорганизмов.

Все известные в настоящее время **β-лактамазы** Все известные в настоящее время β-лактамазы делят на 4 молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и выраженной гомологией. Предполагается, что **β-лактамазы** Все известные в настоящее время β-лактамазы делят на 4 молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и выраженной гомологией. Предполагается, что β-лактамазы классов А, С и D эволюционировали из бактериальных пенициллиносвязывающих белков в почвенных экосистемах в результате селективного прессинга β-лактамных антибиотиков, продуцируемых некоторыми микроорганизмами. **β-лактамазы** перечисленных классов относятся к ферментам "серинового" типа (по аминокислоте, находящейся в активном центре фермента). Ферменты класса В относятся к металлоэнзимам, поскольку в качестве кофермента в них присутствует атом цинка, их происхождение менее ясно.

β-лактамы антибиотики

Наиболее распространенные β-лактамазы и их свойства

Ферменты	Характеристика
Плазмидные β-лактамазы класса А стафилококков	Гидролизуют <u>природные и полусинтетические пенициллины</u> Гидролизуют природные и полусинтетические пенициллины кроме метициллина и <u>оксациллина</u> . Чувствительны к ингибиторам.
Плазмидные β-лактамазы широкого спектра класса А грамотрицательных бактерий	Гидролизуют <u>природные и полусинтетические пенициллины</u> Гидролизуют природные и полусинтетические пенициллины, <u>цефалоспорины I поколения</u> . Чувствительны к ингибиторам.
Плазмидные β-лактамазы расширенного спектра класса А грамотрицательных бактерий	Гидролизуют <u>природные и полусинтетические пенициллины</u> Гидролизуют природные и полусинтетические пенициллины, <u>цефалоспорины I-IV поколения</u> . Чувствительны к ингибиторам.
Хромосомные β-лактамазы класса С грамотрицательных бактерий	Гидролизуют <u>природные и полусинтетические пенициллины</u> Гидролизуют природные и полусинтетические пенициллины, <u>цефалоспорины I-III поколения</u> . Не чувствительны к ингибиторам.
Хромосомные β-лактамазы класса А грамотрицательных бактерий	Гидролизуют <u>природные и полусинтетические пенициллины</u> Гидролизуют природные и полусинтетические пенициллины, <u>цефалоспорины I-II поколения</u> . Чувствительны к ингибиторам.
Хромосомные β-лактамазы класса В грамотрицательных бактерий	Эффективно гидролизуют практически все β-лактамы, включая <u>карбапенемы</u> . Не чувствительны к ингибиторам.
Плазмидные β-лактамазы класса D грамотрицательных бактерий	Гидролизуют <u>природные и полусинтетические пенициллины</u> Гидролизуют природные и

МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП

Снижение проницаемости внешних структур грамотрицательных бактерий. **β-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ**

Внешняя мембрана грамотрицательных микроорганизмов является препятствием для проникновения β-лактамов внутрь клетки. Транспорт антибиотика через внешнюю мембрану к чувствительным мишеням осуществляется через белковые структуры - порины. В результате мутаций возможна полная или частичная утрата поринов, приводящая к выраженному в различной степени снижению чувствительности к β-лактамам. Указанный механизм устойчивости встречается практически среди всех грамотрицательных бактерий, обычно в сочетании с другими механизмами.

Активное выведение β-лактамов из микробной клетки. Ранее считалось, что β-лактамы 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.

Модификация мишени действия. Мишенями действия β-лактамов являются ферменты - ПСБ Мишенями действия β-лактамов являются ферменты - ПСБ, участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации у некоторых ПСБ Мишенями действия β-лактамов являются ферменты - ПСБ, участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации у некоторых ПСБ уменьшается сродство к β-лактамам, что проявляется в повышении МПК Мишенями действия β-лактамов являются ферменты - ПСБ, участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации у некоторых ПСБ уменьшается сродство к β-лактамам, что проявляется в повышении МПК этих препаратов и снижении клинической эффективности. Реальное клиническое значение имеет устойчивость среди стафилококков и

Ферментативная инактивация.

МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП
Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам Основным

Механизмом устойчивости к аминогликозидам является их ферментативная инактивация путем модификации.

Модифицированные молекулы аминогликозидов Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам является их ферментативная инактивация путем модификации. Модифицированные молекулы аминогликозидов теряют способность связываться с рибосомами и подавлять биосинтез белка. Описаны три группы АМФ Основным механизмом устойчивости к аминогликозидам является их ферментативная инактивация путем модификации.

Модифицированные молекулы аминогликозидов теряют способность связываться с рибосомами и подавлять биосинтез белка. Описаны три группы АМФ, осуществляющих инактивацию аминогликозидов, путем их связывания с различными молекулами: ААС - присоединяющие молекулу уксусной кислоты, АРН - присоединяющие молекулу фосфорной кислоты, нуклеотидил- или АНТ - присоединяющие молекулу нуклеотида аденина.

Общее число описанных АМФ превышает 50, каждый из них характеризуется более или менее уникальным субстратным профилем. Гены ферментов локализуются, как правило, на плазмидах, либо иных мобильных генетических элементах, что приводит к быстрому внутри- и межвидовому распространению устойчивости. Среди грамположительных и грамотрицательных бактерий распространены различные ферменты

Аминогликозиды

Характеристика наиболее распространенных АМФ

Ферменты	Устойчивость к антибиотикам
Грамположительные микроорганизмы	
APH (3')-III	КАН, НЕО, АМК
ANT (4')-I	ТОБ, АМК
ANT (6)-I	СТР
AAC (6')-APH (2'')	ГЕН, ТОБ, НТЛ, АМК
Грамотрицательные микроорганизмы	
ANT (2'')	КАН, ГЕН, ТОБ
AAC (2')	ГЕН, ТОБ, НТЛ
AAC (3)-V	ГЕН, ТОБ, НТЛ
AAC (3)-I	ГЕН
AAC (6')-I	ТОБ, НТЛ, АМК
APH (3')-I	КАН, НЕО
APH (3')-II	КАН, НЕО

АМК - амикацин; АМК - амикацин; ГЕН - гентамицин; АМК - амикацин; ГЕН - гентамицин; КАН - канамицин; АМК - амикацин; ГЕН - гентамицин; КАН - канамицин; НЕО - неомицин; НТЛ - нетилмицин; НТЛ - нетилмицин; СТР - стрептомицин; НТЛ - нетилмицин; СТР - стрептомицин

МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП

Снижение проницаемости внешних структур. Проникновение аминогликозидов через внешнюю и цитоплазматическую мембраны бактерий является сложным процессом. Низкая природная чувствительность к

аминогликозидам некоторых микроорганизмов (например, *B. cerea*) 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, 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, 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.

Аминогликозиды могут подвергаться активному выведению из микробной клетки.

Модификация мишени действия. Основной мишенью действия аминогликозидов является 30S субъединица бактериальной рибосомы, в некоторых случаях устойчивость может быть связана с ее модификацией. Распространение и клиническое значение устойчивости

изменение структуры топоизомераз в результате мутаций в соответствующих генах и аминокислотных замен в молекулах ферментов. Аминокислотные замены, в свою очередь, приводят к снижению сродства хинолонов к ферментам и повышению МПК препаратов.

Хиноплоны / фторхинолоны Частота возникновения мутаций, вероятно, мало зависит от воздействия хинолонов Основным механизмом устойчивости к хинолонам является изменение структуры топоизомераз в

результате мутаций в соответствующих генах и аминокислотных замен в молекулах ферментов. Аминокислотные замены, в свою очередь, приводят к снижению сродства хинолонов к ферментам и повышению МПК препаратов. Частота возникновения мутаций, вероятно, мало зависит от воздействия хинолонов, однако, формирование устойчивых штаммов возможно лишь в результате селекции на фоне действия препаратов. В подавляющем большинстве случаев устойчивость формируется ступенеобразно. После возникновения и селекции мутаций в генах фермента, являющегося первичной мишенью действия хинолонов Основным механизмом устойчивости к хинолонам является изменение структуры топоизомераз в результате мутаций в соответствующих генах и аминокислотных замен в молекулах ферментов. Аминокислотные замены, в свою очередь, приводят к снижению сродства хинолонов к ферментам и повышению МПК препаратов. Частота возникновения мутаций, вероятно, мало зависит от воздействия хинолонов, однако, формирование устойчивых штаммов возможно лишь в результате селекции на фоне действия препаратов. В подавляющем большинстве случаев устойчивость формируется ступенеобразно. После возникновения и селекции мутаций в генах фермента, являющегося первичной мишенью действия хинолонов, МПК Основным механизмом устойчивости к хинолонам является изменение структуры топоизомераз в результате мутаций в соответствующих генах и аминокислотных замен в молекулах ферментов. Аминокислотные замены, в свою очередь, приводят к снижению сродства хинолонов к ферментам и повышению МПК препаратов. Частота возникновения мутаций, вероятно, мало зависит от воздействия хинолонов, однако, формирование устойчивых штаммов возможно лишь в результате селекции на фоне действия препаратов. В подавляющем большинстве случаев устойчивость формируется ступенеобразно. После возникновения и селекции мутаций в генах фермента, являющегося первичной мишенью действия хинолонов, МПК препаратов обычно повышается в 4-8 раз, а антибактериальный эффект проявляется за счет подавления активности фермента, являющегося вторичной мишенью. Если воздействие

хинолонов Основным механизмом устойчивости к хинолонам является изменение структуры топоизомераз в результате мутаций в соответствующих генах и аминокислотных замен в

субъединица бактериальной рибосомы. Несмотря на различия в структуре, все эти антибиотики имеют общий участок связывания с рибосомой. У большинства механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам отдельных групп бактерий устойчивость возникает в результате метилирования 23S-субъединицы рРНК. Известно около 20 генов (*erm* - erythromycin ribosome methylation), 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 грамотрицательных бактерий.

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

У ряда микроорганизмов (*S. pneumoniae*, *Mycobacterium* spp., *Brachyspira hyodysenteriae*, *Propionibacterium* spp., *B. pertussis*, *H. influenzae*, *H. pylori*) известен и другой механизм модификации мишени для макролидов) известен и другой механизм модификации мишени для макролидов и линкозамидов) известен и другой механизм модификации мишени для макролидов и линкозамидов - 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) известен и другой механизм модификации мишени для макролидов и линкозамидов - 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) известен и другой механизм модификации мишени для макролидов и линкозамидов - 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

Макролиды, кетолиды и линкозамиды

Активное выведение. Активное выведение макролидов Активное выведение макролидов и линкозамидов 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 активное выведение макролидов локализованы на хромосомах в составе конъюгативных элементов, что обеспечивает достаточно эффективное внутри- и межвидовое распространение. У стафилококков и энтерококков активное выведение макролидов, но не линкозамидов, осуществляют транспортные системы другого типа, кодируемые генами *msr*. Существуют также транспортные системы, осуществляющие избирательное выведение некоторых препаратов, например, линкомицина или олеандомицина.

Ферментативная инактивация. Ферменты, инактивирующие макролиды Ферменты, инактивирующие макролиды и линкозамиды, описаны среди грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Некоторые из них обладают широким субстратным профилем (макролидфосфотрансферазы *E.coli* и *Staphylococcus spp.*), другие инактивируют только отдельные антибиотики (эритромицинаэстеразы, распространенные среди семейства *Enterobacteriaceae*, линкомицинацетилтрансферазы стафилококков и энтерококков). Клиническое значение ферментов, инактивирующих макролидные антибиотики, невелико.

Тетрациклины

Активное выведение. Этот механизм является наиболее распространенным среди грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. 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.

Защита рибосомы. Известно семейство защитных белков, которые позволяют бактерии синтезировать белок, несмотря на связывание с рибосомой молекулы тетрациклина. Известно семейство защитных белков, которые позволяют бактерии синтезировать белок, несмотря на связывание с рибосомой молекулы тетрациклина. 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.

в блокировании завершающей стадии синтеза пептидогликана путем связывания молекулы антибиотика с концевыми аминокислотами в боковой пептидной цепочке (D-аланин-D-аланин).

Гликопептиды

Механизм устойчивости к гликопептидам наиболее детально изучен у энтерококков, он связан с синтезом бактериями модифицированной боковой полипептидной цепи.

Известны три фенотипа устойчивости: VanA, VanB и VanC. Детерминанты устойчивости фенотипа VanA локализуются на плазмидах, а фенотипа VanB - в основном на хромосомах. Для фенотипа VanA характерен высокий уровень устойчивости к ванкомицину. Известны три фенотипа устойчивости: VanA, VanB и VanC. Детерминанты устойчивости фенотипа VanA локализуются на плазмидах, а фенотипа VanB - в основном на хромосомах. Для фенотипа VanA характерен высокий уровень устойчивости к ванкомицину и тейкопланину. Известны три фенотипа устойчивости: VanA, VanB и VanC. Детерминанты устойчивости фенотипа VanA локализуются на плазмидах, а фенотипа VanB - в основном на хромосомах. Для фенотипа VanA характерен высокий уровень устойчивости к ванкомицину и тейкопланину, для VanB - переменная резистентность к ванкомицину. Известны три фенотипа устойчивости: VanA, VanB и VanC.

Детерминанты устойчивости фенотипа VanA локализуются на плазмидах, а фенотипа VanB - в основном на хромосомах. 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.

На практике при выделении ванкомицинорезистентных энтерококков и стафилококков необходимо проявлять настороженность, тщательно проверять чистоту исследуемой культуры и точность ее идентификации. Так, необходимо

Сульфаниламиды и ко-тримоксазол

Сульфаниламиды Сульфаниламиды и триметоприм блокируют различные этапы одного метаболического пути бактерий - синтез фолиевой кислоты, благодаря чему между ними отмечается выраженный синергизм. Сульфаниламиды, являющиеся структурным аналогом ПАБК, являются конкурентными ингибиторами дигидроптератсинтетазы. Триметоприм подавляет активность дигидрофолатредуктазы.

Формирование метаболического шунта. Резистентность к триметоприму может являться результатом приобретения генов дигидрофолатредуктазы, нечувствительной (или малочувствительной) к ингибции, а устойчивость к сульфаниламидам - генов дигидроптератсинтетазы. Известно несколько типов каждого из устойчивых ферментов, но их происхождение не совсем ясно.

Гены ферментов, устойчивых к ингибированию, часто находятся в составе подвижных генетических элементов (транспозонов) в ассоциации с генами, детерминирующими устойчивость к другим антибиотикам.

Модификация мишени действия. Устойчивость может также сформироваться в результате мутаций в генах указанных ферментов.

МНОЖЕСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ, СВЯЗАННАЯ СО СНИЖЕНИЕМ ПРОНИЦАЕМОСТИ

Снижение проницаемости внешних структур бактериальной клетки является наименее специфичным механизмом устойчивости и, обычно, приводит к формированию устойчивости одновременно к нескольким группам антибиотиков.

Чаще всего причиной этого явления становится **полная или частичная утрата пориновых белков**. Кроме этого, относительно хорошо изучена система **MAR** (multiple antibiotic resistance - множественная устойчивость к антибиотикам). На фоне применения **тетрациклинов** (multiple antibiotic resistance - множественная устойчивость к антибиотикам). На фоне применения тетрациклинов или **хлорамфеникола** (multiple antibiotic resistance - множественная устойчивость к антибиотикам). На фоне применения тетрациклинов или хлорамфеникола формируется устойчивость не только к этим антибиотикам, но и к β -лактамам и **хинолонам**. Активация MAR системы приводит к одновременному снижению количества одного из пориновых белков (OmpF) и повышению активности одной из систем активного выведения.

Снижение проницаемости за счет утраты или снижения количества пориновых белков встречается в ассоциации с продукцией **β -лактамаз расширенного спектра**. Утрата одного из пориновых белков (D2) *P.aeruginosa* приводит к избирательному снижению чувствительности микроорганизма к **имипенему**.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ: МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ, ОЦЕНКА

В настоящее время в клинической практике существуют два принципа назначения антибактериальных препаратов: эмпирическое и этиотропное.

Эмпирическое назначение антибиотиков основано на знаниях о природной чувствительности бактерий, эпидемиологических данных о резистентности микроорганизмов в регионе или стационаре, а также результатах контролируемых клинических исследований. Несомненным преимуществом эмпирического назначения химиопрепаратов является возможность быстрого начала терапии. Кроме того, при таком подходе исключаются затраты на проведение дополнительных исследований.

Этиотропное назначение антибиотиков предполагает не только выделение возбудителя инфекции из клинического материала, но и определение его чувствительности к антибиотикам. Получение корректных данных возможно только при грамотном выполнении всех звеньев бактериологического исследования: от взятия клинического материала, транспортировки его в бактериологическую лабораторию, идентификации возбудителя до определения его чувствительности к антибиотикам и интерпретации полученных результатов.



Антибактериальные препараты. Методы определения чувствительности к ним

Этапы изучения антибиотиков :

- ❑ 1929г. – открытие пенициллина А.Флемингом
- ❑ 1940г. – Х.В. Чейн и Э.Б.Флори получили пеницилин в чистом виде
- ❑ 1941-44г.- попытки применения пенициллина З.В. Ермольевой и А.Флемингом
- ❑ 1948г. – обобщение результатов лечения 10 тыс. больных.
- ❑ 1949г. - расшифровка структурной формулы пенициллина
- ❑ 1953г. – создание пенициллина для перорального применения
- ❑ 1953г. – в США получен кислотоустойчивый пенициллин
- ❑ 1959г. – создание полусинтетического пенициллина – метициллина.

По механизму действия

- ❑ 1. ингибиторы синтеза компонентов клеточной стенки (пенициллины природные, полусинтетические, бета-лактамовые, потенцированные, цефалоспорины различных поколений)
- ❑ 2. препараты, нарушающие функцию цитоплазматической мембраны микроорганизмов (полимексины, полиеновые антибиотики-нистатин и др.)
- ❑ 3. ингибиторы синтеза белка, нарушающие функциональные свойства рибосом (аминогликозиды 3-х поколений, тетрациклины, левомицетин, макролиды, азолиды, ликозамиды)
- ❑ 4. ингибиторы транскрипции и синтеза нуклеиновых кислот (хинолоны, производные нитроимидазола, рифамицины)
- ❑ 5. ингибиторы синтеза нуклеотидов (сульфаниламиды, диаминопиримидины)



По типу действия на микробную клетку

- 1. бактерицидные препараты (бета-лактамы, аминогликозиды и др.)
 - 2. бактериостатические препараты (тетрациклины и др.)
 - 3. бактериолитические препараты (лизозим)
- 

По источнику получения

- ❑ 1. природные – продуцируемые микроорганизмами (пенициллины)
- ❑ 2. полусинтетические – получаемые в результате модификации природных структур (ампициллин)
- ❑ 3. синтетические (хинолоны, сульфаниламиды и др.)

По химическому строению

1. β -лактамы антибиотики :

- пенициллины (бензилпенициллин, оксациллин, ампициллин, азлоциллин);
- цефалоспорины 4-х поколений (цефалотин, цефаклор, цефотаксим, цефепим);
- карбапенемы (имепенем, меропенем);
- монобактамы (азтреонам)

2. аминогликозиды 3-х поколений (стрептомицин, гентамицин, амикацин);

3. хинолоны 4-х поколений (налидиксовая кислота, офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин);

4. тетрациклины (тетрациклин, доксициклин);

5. макролиды (эритромицин, азитромицин, джозамицин);

6. линкосамиды (линкомицин);

7. полимиксины (полимиксин, колистин);

8. гликопептиды (ванкомицин, лейкопланин);

9. оксазолидиноны (линезолид);

10. антибиотики разных групп (фузидин, левомицетин, рифампицин, диоксидин);

11. сульфаниламиды (сульфадимезин, сульфадиметоксин, фталазол);

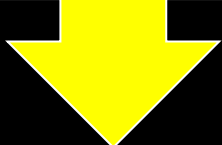
12. комбинированные препараты сульфаниламидов (ко-тримоксазол).

Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам осуществляется для решения следующих задач:

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

КОАГУЛАЗОПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СТАФИЛОКОККИ

Набор № 1
Препараты первого
выбора



Бензилпенициллин
Оксациллин
Эритромицин
Тетрациклин
Хлорамфеникол

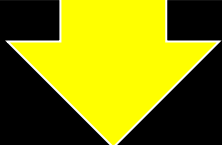
Набор № 2
Дополнительные
препараты



Гентамицин
Амикацин
Ко-тримоксазол
Клиндамицин

ПСЕВДОМОНАДЫ

Набор № 1
Препараты первого
выбора



Пиперациллин
Гентамицин
Тобрамицин

Набор № 2
Дополнительные
препараты



Амикацин

ЭНТЕРОБАКТЕРИИ

Набор № 1

Препараты первого выбора

*Ампициллин
Хлорамфеникол
Ко-тримоксазол
Налидиксовая кислота
Тетрациклин*

*Сульфонамид
Триметоприм
Ко-тримоксазол
Ампициллин
Нитрофурантоин
Налидиксовая кислота
Тетрациклин*

*Ампициллин
Хлорамфеникол
Ко-тримоксазол
Налидиксовая кислота
Тетрациклин
Цефалотин
Гентамицин*

**Кишечни
к**

Моча

**Кровь и
ткани**

Набор № 2

Дополнительные препараты

Норфлоксацин

*Норфлоксацин
Хлорамфеникол
Гентамицин*

*Цефуроксим
Цефтриаксон
Ципрфлоксацин
Пиперацillin
Амикацин*

Чума

Доксициклин

Ципрфлоксацин (офлоксацин, пефлоксацин)

Стрептомицин

Гентамицин

Цефтриаксон (цефотаксим)

Рифампицин

Туляремия

Рифампицин
Ципрофлоксацин (пефлоксацин)
Стрептомицин
Канамицин
Гентамицин
Доксициклин

Сибирская язва

Ампициллин (бензилпенициллин)

*Ципрофлоксацин (офлоксацин,
нефлоксацин)*

Доксициклин

Рифампицин

Гентамицин

Холера

Доксициклин

Ципрофлоксацин (офлоксацин, пефлоксацин)

Сульфатон (сульфамометаксим /триметоприм)

Фуразолидон

Хлорамфеникол

Гентамицин

Цефтриаксон (цефотаксим, цефтибутен)

Рифампицин

Налидиксовая кислота

Бруцеллез

Ципрофлоксацин (офлоксацин, пефлоксацин)

Рифампицин

Доксициклин

Гентамицин

Сап

Ципрофлоксацин (офлоксацин, пефлоксацин)

Доксициклин

Сульфаметаксозол/триметоприм

Рифампицин

Мелиоидоз

Пефлоксацин

Доксициклин

Сульфаметаксозол/триметоприм

Рифампицин

Хлорамфеникол

Главный показатель чувствительности - величина **МИНИМАЛЬНОЙ ИНГИБИРУЮЩЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ*** - МИК (мкг/мл), т.е минимальная концентрация АБП, задерживающая рост испытуемого микроорганизма в стандартном опыте.

* В некоторых инструкциях МИК называют МПК – минимальная концентрация, подавляющая рост микроорганизмов в бульонной культуре или на плотной среде

- **Чувствительный** - микроорганизм не имеет механизмов резистентности к данному антимикробному средству и при лечении стандартными дозами этого препарата отмечается хорошая терапевтическая эффективность.
- **Устойчивый (резистентный)** - микроорганизм имеет механизмы резистентности к данному препарату и при лечении инфекций, вызванных этим микроорганизмом нет клинического эффекта даже при использовании максимальных терапевтических доз этого препарата.
- **Умеренно-устойчивый** - микроорганизм по своей чувствительности занимает промежуточное значение между чувствительными и устойчивыми штаммами и при лечении инфекций, вызванных данным возбудителем, хорошая клиническая эффективность наблюдается только при использовании высоких терапевтических доз препарата.

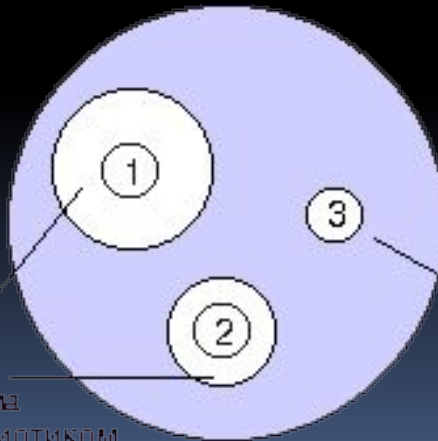
Методы определения чувствительности к антибактериальным препаратам

- *Методы серийных разведений*
 - - бульоне
 - - в агаре
 - - макроразведений
 - - микроразведений
- *Диско-диффузионные методы*
 - - классический Кирби –Бауэра
 - - Е-тест

Практика определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам

Диффузионные методы: дисковый тест

При определении чувствительности диско-диффузионным методом на поверхность агара в чашке Петри наносят бактериальную суспензию определенной плотности (обычно эквивалентную стандарту мутности 0,5 по McFarland) и затем помещают диски, содержащие определенное количество антибиотика. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков. После инкубации чашек в термостате при температуре 35° - 37° С в течение ночи, учитывают результат путем измерения диаметра зоны вокруг диска в миллиметрах



Зона подавления
роста микроорганизма
вокруг диска с антибиотиком
(микроорганизм чувствителен к антибиотiku (1)
или микроорганизм умеренно резистентен
к антибиотiku (2))

Нет зоны подавления
роста микроорганизма
вокруг диска с антибиотиком
(микроорганизм устойчив к антибиотiku (3))



Диффузионные методы: Е-тест

Определение чувствительности микроорганизма с помощью Е-теста проводится аналогично тестированию диско-диффузионным методом. Отличие состоит в том, что вместо диска с антибиотиком используют полоску Е-теста, содержащую градиент концентраций антибиотика от максимальной к минимальной. В месте пересечения эллипсовидной зоны подавления роста с полоской Е-теста получают значение минимальной подавляющей концентрации (МПК).



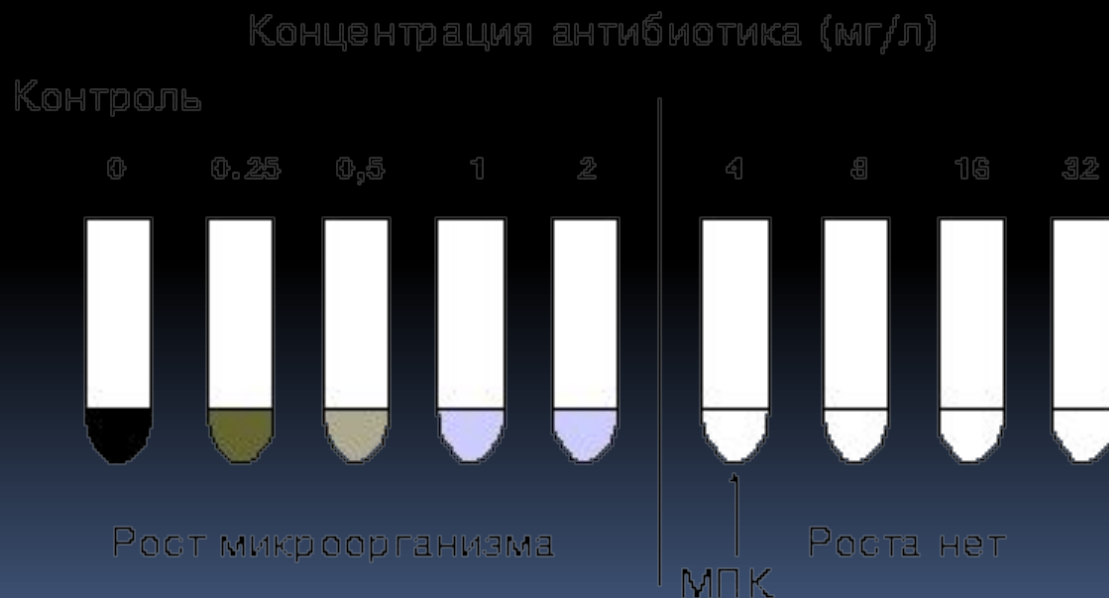
Методы разведения:

- Используют двукратные последовательные разведения 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).
- Антибиотик в различных концентрациях вносят в жидкую питательную среду (бульон) или в агар.
- Бактериальную суспензию определенной плотности (0,5 по McFarland) помещают в бульон с антибиотиком или на поверхность агара в чашке.
- Инкубируют в течение ночи при температуре 35°- 37°С.
- Проводят учет полученных результатов.

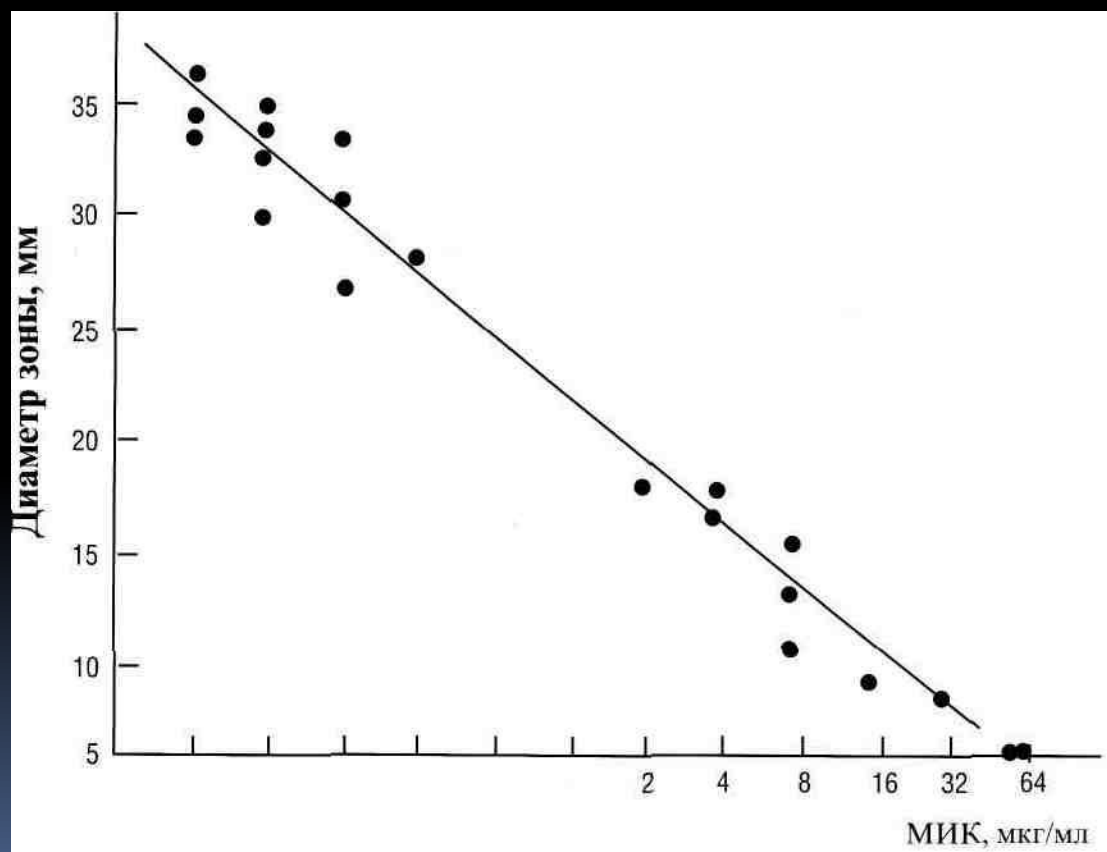
Наличие роста микроорганизма в бульоне (помутнение бульона) или на поверхности агара свидетельствует о том, что данная концентрация антибиотика недостаточна, чтобы подавить его жизнеспособность. По мере увеличения концентрации антибиотика рост микроорганизма ухудшается. Первую наименьшую концентрацию антибиотика (из серии последовательных разведений), где визуально не определяется бактериальный рост принято считать минимальной подавляющей концентрацией (МПК). Измеряется МПК в мг/л или мкг/мл

Методы разведения

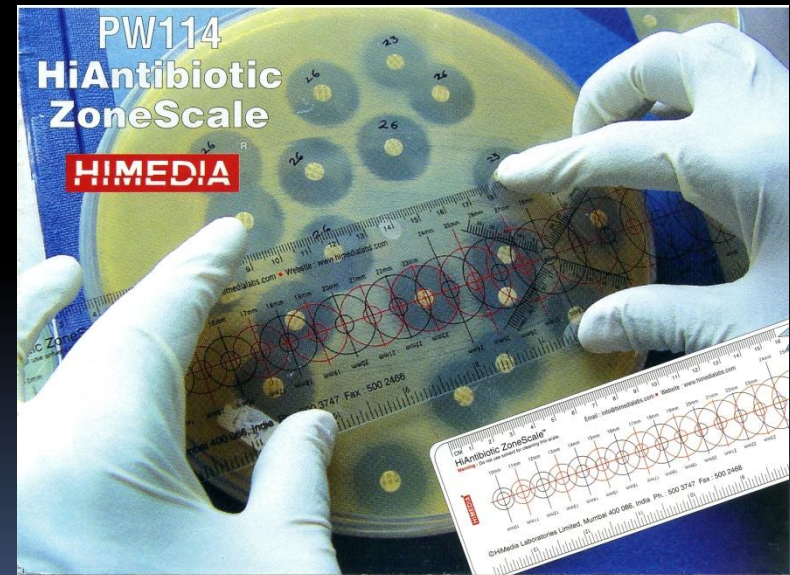
Минимальная подавляющая концентрация (МПК) - наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост бактерий



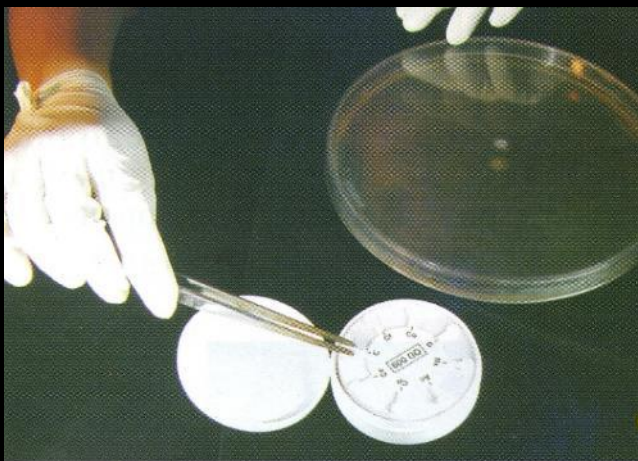
Существует линейная связь между логарифмом МИК, измеренной при использовании метода серийных разведений, и диаметром зоны задержки роста при использовании диско-диффузионного метода



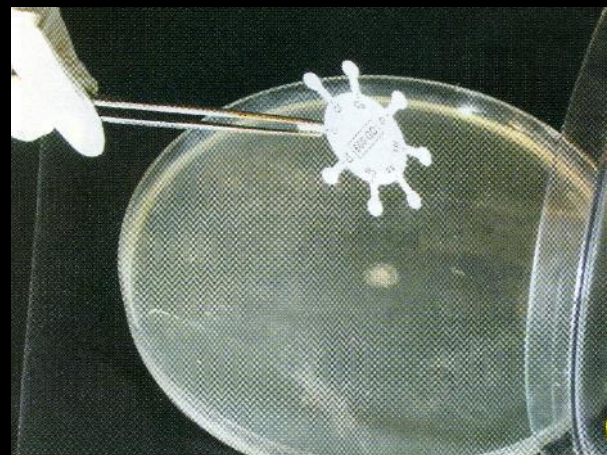
Использование диспенсеров



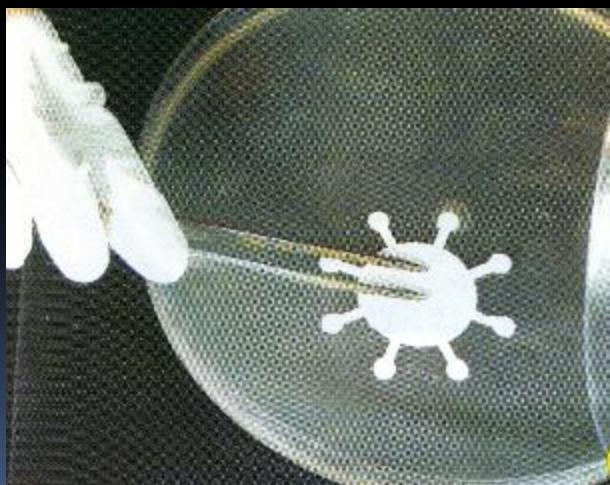
Использование октодисков



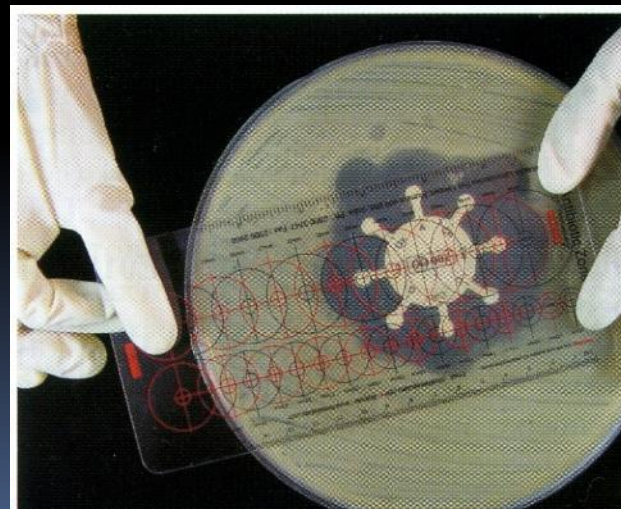
1



2



3



4

Таблица критериев интерпретации результатов

Product Code	Antimicrobial Agent	Symbol	Disc content	Diameter of zone of inhibition in mm		
				*Quality Control Limits		
				<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853
SD082	Amikacin	Ak	10 mcg	16-23	18-24	15-23
SD001	Amoxycillin	Am	10 mcg	19-25	28-36	—
SD129	Amoxycillin	Am	25 mcg	19-25	28-36	—
SD076	Amoxycillin	Am	30 mcg	19-25	28-36	—
SD078	Amoxycillin/Clavulanic acid	Ac	10 mcg	19-25	28-36	—
SD002	Ampicillin	A	10 mcg	16-22	27-35	—
SD077	Ampicillin	A	25 mcg	20-30	32-40	—
SD113	Ampicillin/Cloxacillin	Ax	10 mcg	16-22	35-37	—
SD112	Ampicillin/Sulbactam	As	10/10 mcg	20-24	29-37	—
SD204	Azithromycin	At	15 mcg	—	21-26	—
SD124	Azithromycin	At	30 mcg	—	24-30	—
SD064	Azlocillin	Az	75 mcg	—	—	24-30
SD212	Aztreonam	Ao	30 mcg	28-36	—	23-29
SD003	Bacitracin	B	10 units	—	12-22	—
SD105	Bacitracin	B	8 units	—	12-22	—
SD004	Carbenicillin	Cb	100 mcg	23-29	—	18-24
SD157	Cefaclor	Cj	30 mcg	23-27	27-31	—
SD200	Cefamandole	Cef	30 mcg	26-32	26-34	—
SD047	Cefazolin	Cz	30 mcg	23-29	29-35	—
SD218	Cefdinir	Cdn	5 mcg	24-28	25-32	—
SD219	Cefepime	Cpm	30 mcg	29-35	23-29	24-30
SD211	Cefixime	Cfx	5 mcg	23-27	—	—
SD072	Cefoperazone	Cs	75 mcg	28-34	24-33	23-29
SD725	Cefpodoxime	Cep	10 mcg	23-28	19-25	—
SD209	Cefprozil	Cfz	30 mcg	21-27	27-33	—
SD062	Ceftazidime	Ca	30 mcg	25-32	16-20	22-29
SD207	Ceftazidime/Clavulanic acid	Cac	30/10 mcg	27-34	25-32	—
SD110	Ceftizoxime	Ck	30 mcg	30-36	27-35	12-17
SD065	Ceftriaxone	Ci	30 mcg	29-35	22-28	17-23
SD061	Cefuroxime Sodium (Parenteral)	Cu	30 mcg	20-26	27-35	—
SD116	Cephadroxil	Cq	30 mcg	12-18	26-32	—
SD048	Cephalexin	Cp	30 mcg	17-22	29-37	—

Обязательные правила при постановке тестов на чувствительность к антибиотикам:

- ❖ использовать диски стандартного размера (6,35 мм);
- ❖ использовать диски с соответствующим количеством препарата;
- ❖ хранить диски при температуре ниже 8.С ;
- ❖ для контроля качества применять только агар Мюллера-Хинтона или среду АГВ;
- ❖ правильно готовить и хранить питательные среды;
- ❖ посевная доза микроорганизмов должна быть четко стандартизована по мутности;
- ❖ измерение зон следует осуществлять с большой точностью;
- ❖ результаты интерпретировать путем сравнения с показателем специальной таблицы или с сертификатом производителя;
- ❖ использовать только чистые культуры микроорганизмов
- ❖ для контроля следует использовать культуры референс- штаммов постоянно в работе один раз в неделю параллельно с выполнением анализов и, когда начинают использовать новую партию дисков, новую партию сред.

Стандартные штаммы для контроля качества:

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
- *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212 или 33186)
- *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 46619)
- *Haemophilus influenzae* (ATCC 49247)
- *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 49266)
- *Vibrio cholerae non O1* P-9741 (KM 162)

Метод пограничных концентраций можно считать усеченным методом серийных разведений. В соответствии с ним испытываемую культуру вносят только в две лунки (пробирки), где находятся высокая (С) и низкая (с) концентрации антибиотика. Концентрация «С» соответствует границе между устойчивыми и умеренно-устойчивыми штаммами, а концентрация «с» - границе между умеренно-устойчивыми и чувствительными штаммами. Если после инкубирования рост отсутствует в обеих лунках, штамм относят к чувствительным, если только в лунке с концентрацией «С» - к умеренно-устойчивым штаммам, а если в обеих лунках имеется рост, штамм относят к устойчивым. Результат этого исследования имеет качественное (полуколичественное) выражение, но само исследование отличается простотой и экономичностью.

Многие модификации метода серийных разведений сводятся к способу учета результата: колориметрическое, турбидиметрическое, флюорометрическое исследование и др.

Оригинальный диско-диффузионный метод, описанный в 1966 г., хорошо стандартизован и широко используется для количественной оценки. Он рекомендован Всемирной Организацией Здравоохранения (с незначительными модификациями) в качестве референс-теста, которым следует пользоваться при рутинной работе в клинической лаборатории.

Определение чувствительности следует проводить только с использованием чистой культуры микроорганизма, рассматриваемого в качестве этиологического агента инфекционного процесса. Этот микроорганизм должен быть идентифицирован (типирован). Не следует определять чувствительность контаминантов или комменсалов, относящихся к нормальной микрофлоре, или других микроорганизмов, не имеющих отношения к инфекционному процессу и, тем более, смешанных культур.

Например, присутствующие в незначительных количествах в моче *Escherichia coli*, не рассматриваются в качестве этиологического фактора, поэтому составление антибиотикограммы не принесет пользы и даже может ввести в заблуждение.

- В повседневной лабораторной практике нет надобности выполнять тесты на чувствительность в тех случаях, когда возбудитель принадлежит к виду с прогнозируемой чувствительностью. Это относится к *Streptococcus pyogenes* и *Neisseria meningitidis*, которые до сих пор чувствительны к пенициллину (однако имеются сообщения о спорадически обнаруживаемых пенициллиноустойчивых менингококках).
- Если на клиническом уровне появилось подозрение на наличие устойчивости среди указанных микроорганизмов, следует направить несколько штаммов таких культур для исследования в референс-лабораторию.
- Если возбудитель относится к медленно растущим прихотливым микроорганизмам, например *Haemophilus influenzae* и *Neisseria gonorrhoeae*, то определение чувствительности требует специальных сред

Антимикробные средства для первичного и дополнительного тестирования в зависимости от природы этиологического агента инфекции

Среди множества лекарственных препаратов, которые могли бы использоваться для лечения больного, инфицированного одним из патогенных микроорганизмов, лишь ограниченное число скрупулезно отобранных антибиотиков следует включать в перечень препаратов для определения чувствительности. Этот выбор определяется спектром антимикробной активности препарата, его фармакокинетикой, токсичностью, биодоступностью, а также стоимостью как для больного, так и для общества. На практике набор антибиотиков чаще всего включает до 8 наиболее уместных в конкретной ситуации препаратов (по числу дисков, накладываемых на агар в 90-миллиметровой чашке Петри).

Чувствительность в отношении препаратов, включенных в набор дополнительного тестирования, определяют только:

- по специальному запросу лечащего врача;**
- если возбудитель устойчив к антибиотикам первого выбора;**
- по другим причинам (включая аллергию к препарату или невозможность получения препарата), которые оправдывают постановку дополнительных тестов.**

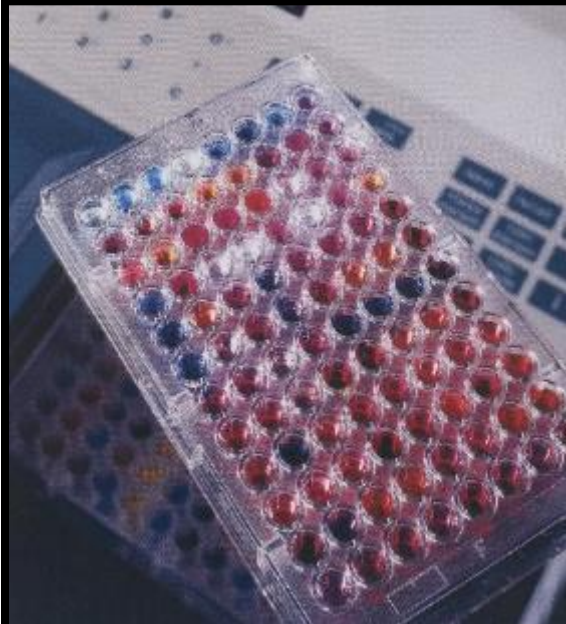
Следует периодически пересматривать списки, представленные в этой таблице, однако делать это нужно только после тщательного обсуждения вопроса с клиницистами.

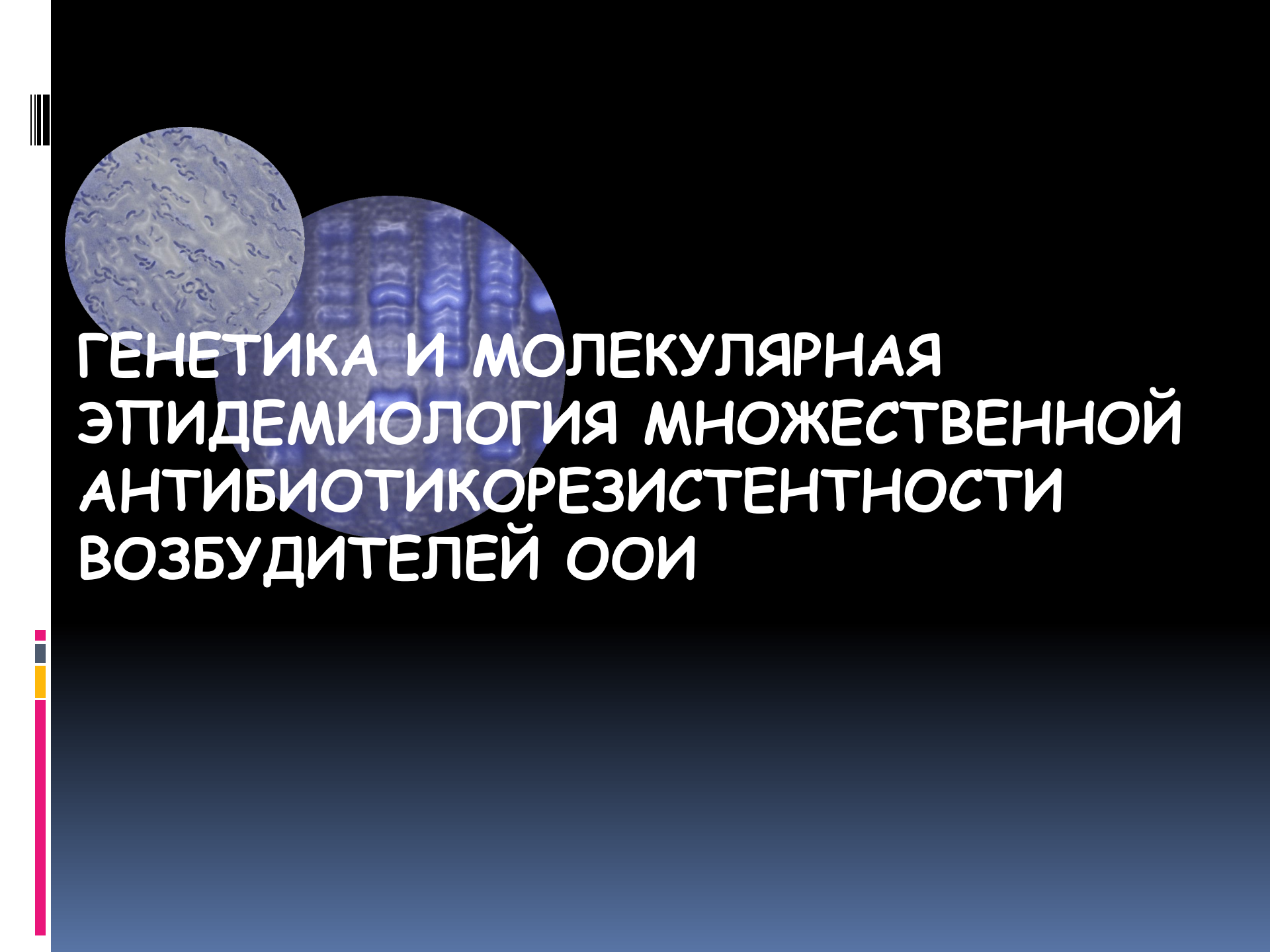
Автоматический анализатор антибиотикочувствительности "Osiris" (BioRad)



Система идентификации микроорганизмов

МикроТакс



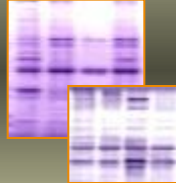


ГЕНЕТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ООИ

Формирование множественной резистентности

Мутационные изменения мишеней или модифицирующих ферментов

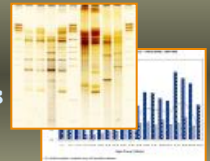
bla_{TEM} (Arg₂₄₄→Ser)
 bla_{TEM} (Val₂₆₁→Ile)
 $gyrA$ (Glu₈₇→Lys)



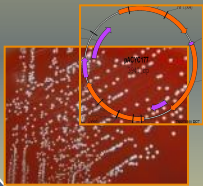
Множественная
лекарственная
резистентность

Возрастание уровня экспрессии efflux-генов

MFS efflux pumps
SMR efflux pumps
RND efflux pumps
ABC efflux pumps



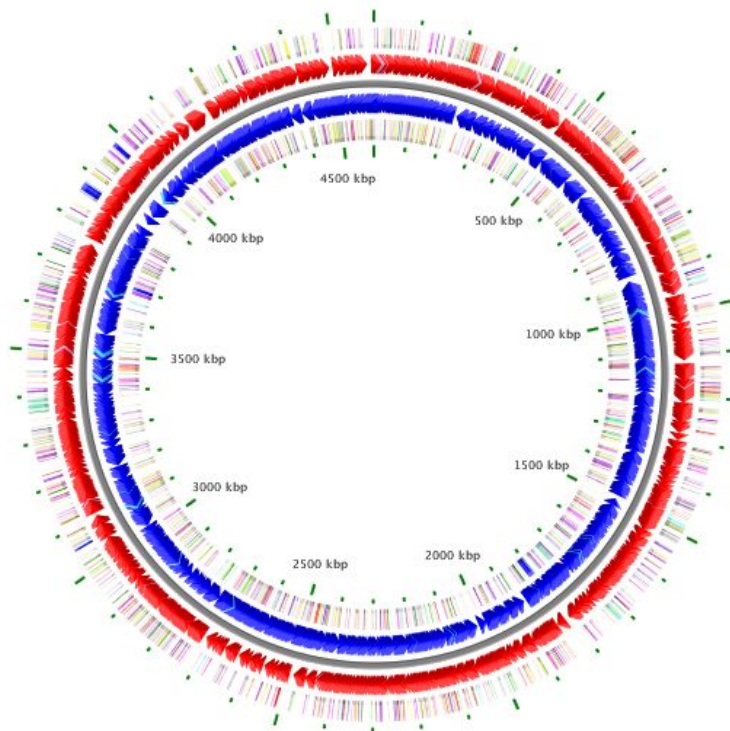
Горизонтальный перенос и аккумуляция генов резистентности



R-плазмиды
Транспозоны
SXT constin
Интегроны

Хромосомные гены резистентности *Y. pestis*

Yersinia pestis biovar Mediaevalis str. 91001, complete geno...



Accession: NC_005810

Length: 4,595,065 bp; Genes: 4,097

BacMap

Genome Atlas

Genes encoding proteins

- Forward strand
- Reverse strand

Genes encoding functional RNA

- Forward strand
- Reverse strand

COG functional categories

Information storage and processing

- Translation, ribosomal structure and biogenesis
- Transcription
- DNA replication, recombination and repair

Cellular processes

- Cell division and chromosome partitioning
- Posttranslational modification
- Cell envelope biogenesis, organelle development
- Cell motility and secretion
- Inorganic ion transport and metabolism
- Signal transduction mechanisms

Metabolism

- Energy production and conversion
- Carbohydrate transport and metabolism
- Amino acid transport and metabolism
- Nucleotide transport and metabolism
- Coenzyme metabolism
- Lipid metabolism
- Secondary metabolites biosynthesis

Poorly characterized

- General function prediction only
- Function unknown

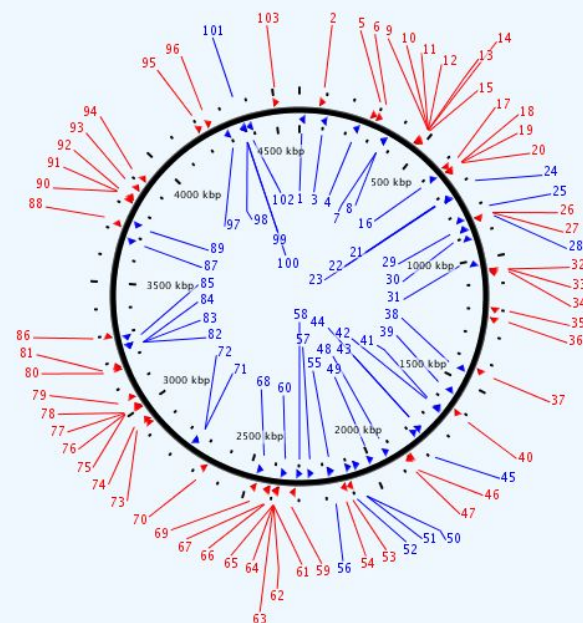
NC_005810

4,595,065 bp

4095 генов

Accession: NC_005810

- Forward strand hit
- Reverse strand hit

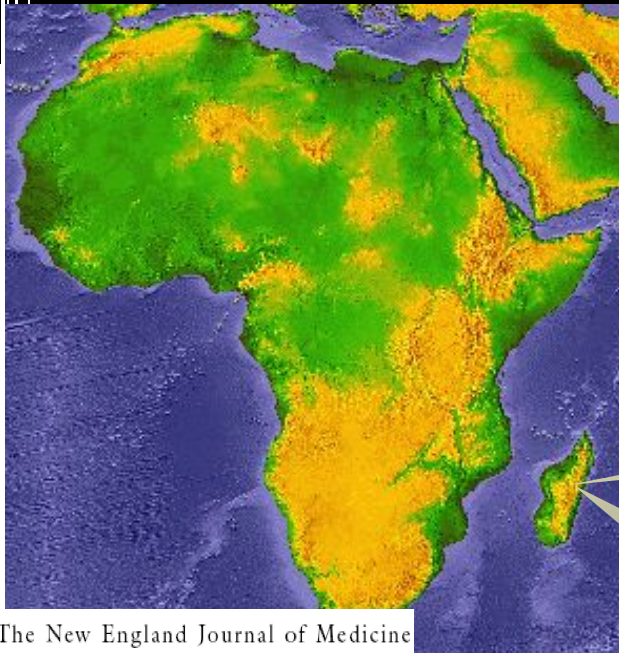


103 of the 103 labels are shown.

Sequence length: 4,595,065 bp

- Генов резистентности - 103

Резистентные штаммы *Yersinia pestis*



The New England Journal of Medicine

Brief Report

MULTIDRUG RESISTANCE IN *YERSINIA PESTIS* MEDIATED BY A TRANSFERABLE PLASMID

MARC GALIMAND, PH.D., ANNIE GUIYOULE, GUY GERB
BRUNO RASOAMANANA, M.D., SUZANNE CHANTEAU, P
ELISABETH CARNIEL, M.D., PH.D.,
AND PATRICE COURVALIN, M.D.

Molecular Microbiology (2002) (2), 349–354

High-frequency conjugative transfer of antibiotic resistance genes to *Yersinia pestis* in the flea midgut

B. Joseph Hinnebusch,^{1*} Marie-Laure Rosso,²
Tom G. Schwan¹ and Elisabeth Carniel³

¹Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis, Rocky
Mountain Laboratories, National Institute of Allergy and
Infectious Diseases, National Institutes of Health, 903 S
4th St., Hamilton, MT 59840, USA.

²Institut Pasteur de Madagascar, BP 1274, Antananarivo
101, Madagascar.

³Yersinia Laboratory, Institut Pasteur, 28 Rue du Docteur
Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

Summary

The acquisition of foreign DNA by horizontal transfer
from unrelated organisms is a major source of varia-
tion leading to new strains of bacterial pathogens.
The extent to which this occurs varies widely, due in

diagnosis and antibiotic intervention, and prophylactic
antibiotic treatment is also critical for persons exposed to
bubonic or pneumonic plague. No vaccine is currently
available. After decades of quiescence, plague re-
emerged in Madagascar during the 1990s to cause an
estimated 200–1600 cases per year (Chanteau *et al.*,
2000). In 1995, a strain of *Y. pestis* resistant to multiple
antibiotics, including all the drugs of choice for plague
(streptomycin, gentamycin, tetracycline, chloramphenicol
and sulphonamides) was isolated from a human in Ma-
dagascar (Galimand *et al.*, 1997). The *Y. pestis* isolate con-
tained a foreign conjugative plasmid that encoded all of
the resistance determinants. This was the first report of
multidrug resistance in a vector-borne bacterial pathogen.
The same year, a streptomycin-resistant *Y. pestis* strain
in which the drug-inactivating aminoglycoside phospho-
transferase genes were also present on a conjugative

Y. pestis 17/95

- ✓ Клинический изолят
- ✓ pFra pPla pUV **pIP1202**
- ✓ резистентность: **ампициллин, хлорамфеникол, канамицин, стрептомицин, спектиномицин, сульфонамиды, тетрациклин, миноциклин**

Y. pestis 16/95

- ✓ Клинический изолят
- ✓ pFra pPla pUV **pIP1203**
- ✓ резистентность: **стрептомицин**

Плазмиды резистентности *Yersinia pestis*

- ✓ Tra+
- ✓ Частота передачи в конъюгации $1 \times 10^{-2} - 5 \times 10^{-5}$
- ✓ Принадлежит к группе несовместимости Inc6-C
- ✓ Содержит детерминанты резистентности :

*bla*_{TEM-1} *catI* *aph(3')* *aad(3'')*(9)
sulI *tetD*

Y. pestis 17/95

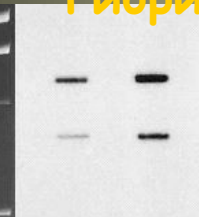
pIP1202

150 kb

ПЦР-анализ



Гибридизационный анализ



Y. pestis 16/95

pIP1203

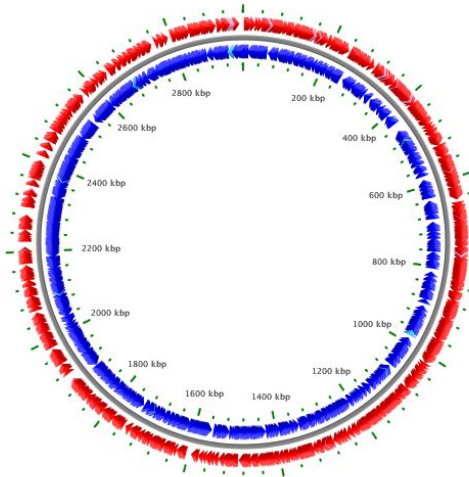
40 kb

- ✓ Tra+
- ✓ Частота передачи в конъюгации $3 \times 10^{-1} - 2 \times 10^{-5}$
- ✓ Принадлежит к группе несовместимости IncP
- ✓ Содержит детерминанты резистентности :

aph(3'')-Ib *aph(6)-Id*

Хромосомные гены резистентности *V. cholerae*

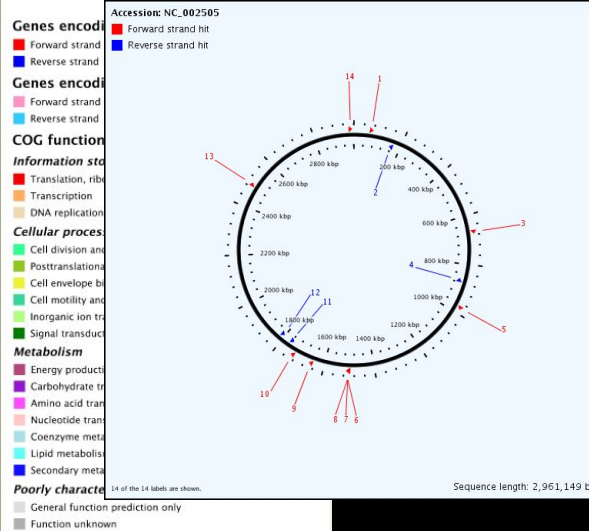
Vibrio cholerae O1 biovar eltor str. N16961 chromosome I, co...



Accession: NC_002505

Length: 2,961,149 bp; Genes: 2,860

BacMap



NC_002505

2,961,149 bp

2860 генов

Генов резистентности - 14

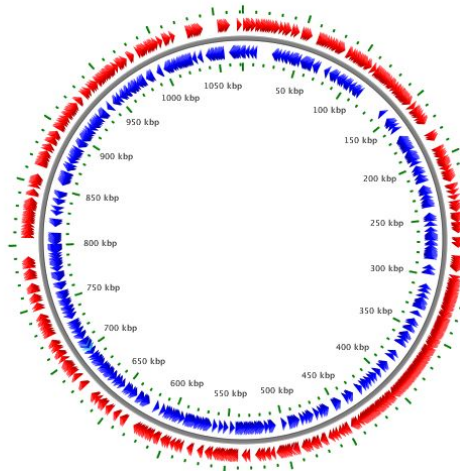
NC_002506

1,072,315 bp

1097 генов

Генов резистентности - 5

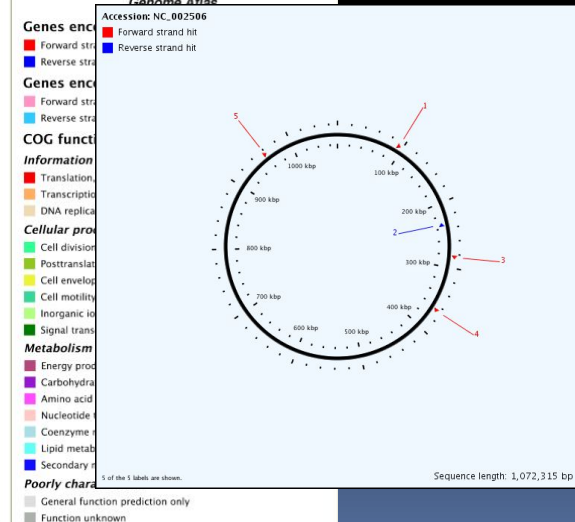
Vibrio cholerae O1 biovar eltor str. N16961 chromosome II, c...



Accession: NC_002506

Length: 1,072,315 bp; Genes: 1,097

BacMap



Полирезистентные штаммы *Vibrio cholerae*

V. cholerae O139 Bengal

- ✓ резистентность: ампициллин, эритромицин, триметоприм, сульфаметоксазол, тетрациклин

V. cholerae O1 ElTor Inaba

- ✓ резистентность: ампициллин, эритромицин, триметоприм, сульфаметоксазол, тетрациклин

V. cholerae не O1 не O139

- ✓ резистентность: ампициллин, хлорамфеникол, неомицин, канамицин, гентамицин, трипетоприм, сульфаметоксазол, тетрациклин



V. cholerae O1 ElTor Ogawa

V. cholerae O1 ElTor Inaba

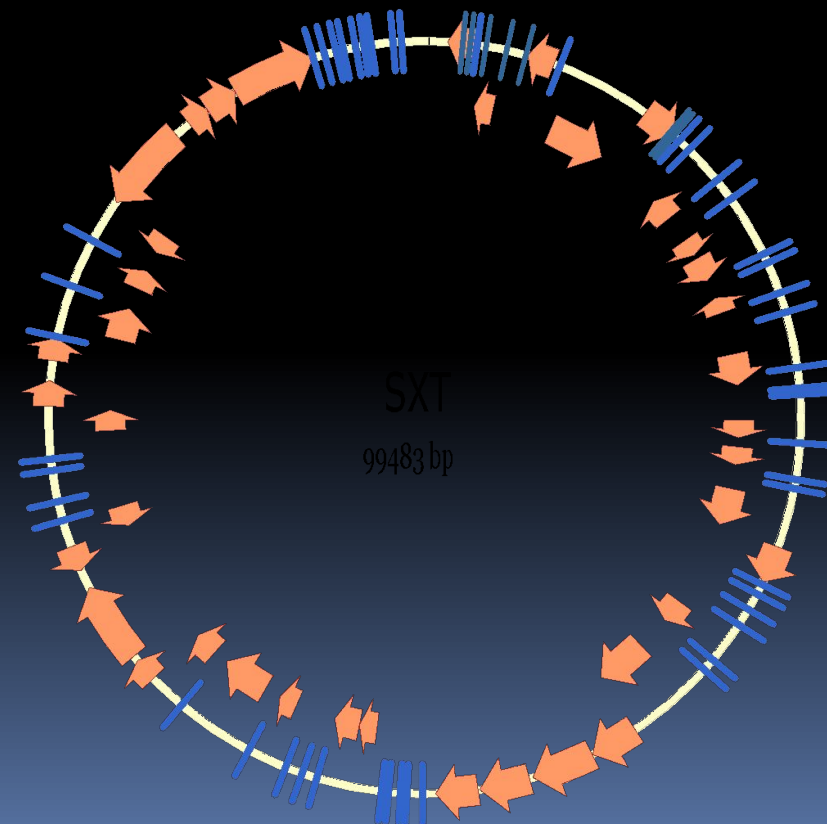
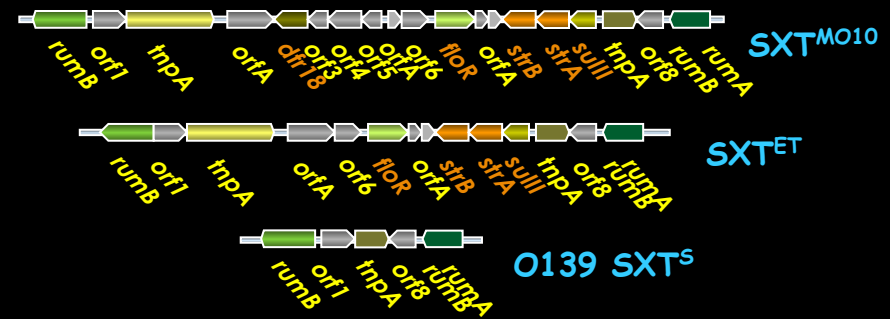
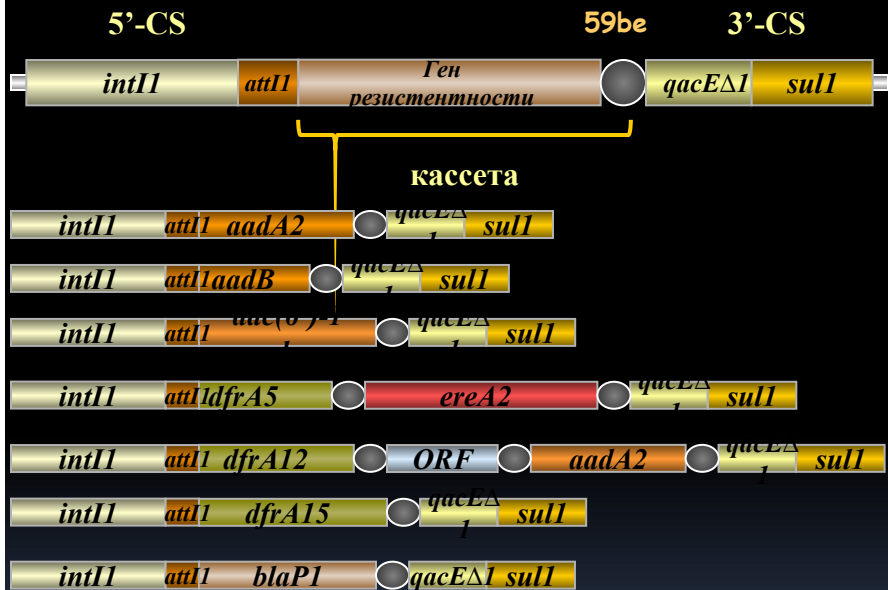
- ✓ резистентность: ампициллин, стрептомицин, спектиномицин, триметоприм, сульфаметоксазол, хлорамфеникол, тетрациклин, гентамицин

V. cholerae O1 ElTor Ogawa

V. cholerae O1 ElTor Inaba

- ✓ резистентность: ампициллин, хлорамфеникол, неомицин, канамицин, гентамицин, трипетоприм, сульфаметоксазол, тетрациклин

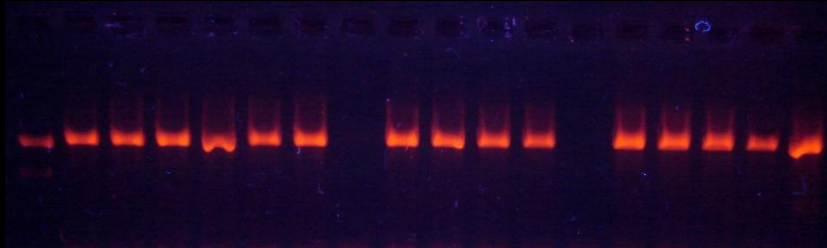
Интегроны *In1* и SXT-элементы *V. cholerae*



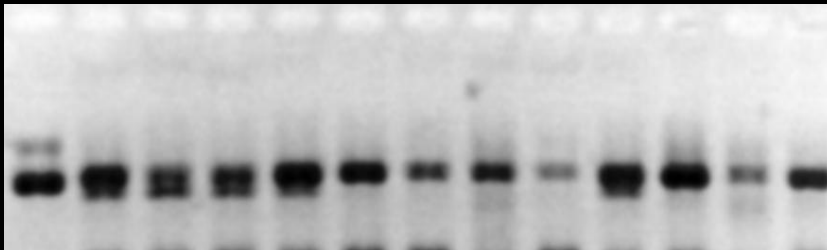
Hochhut B., et al., 2001

Thungapathra M., et al., 2002

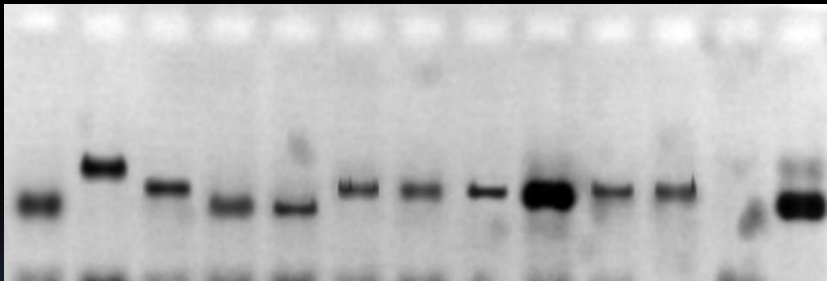
Детекция последовательностей *In1* и SXT в штаммах *V.cholerae*, выделенных в Волгоградской области



Фрагмент 3'-CS интегронов
Последовательность *qacEd1-sul*
Размеры ампликонов ~ 800 п.н.



«Пустая» область кассетных вставок
интегронов
Размеры ампликонов ~ 380 п.н.



Интегроны со вставками генных кассет
Размеры ампликонов ~ 1110 - 2170 п.н.



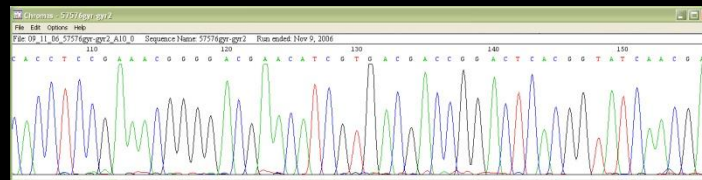
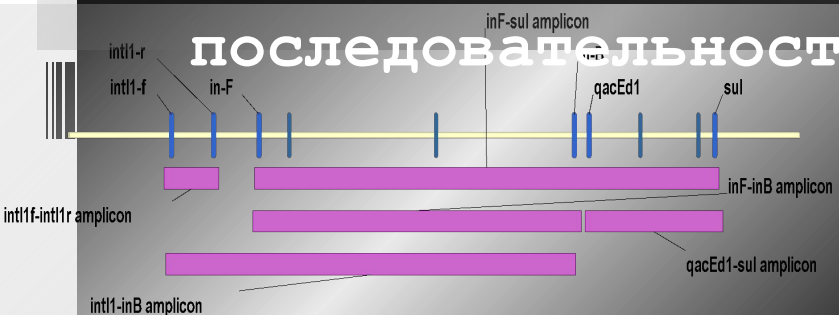
Последовательность интегразы
SXT-элемента
Размеры ампликонов ~ 820 п.н.

Распространенность *In1* и *SXT* в штаммах *V. cholerae*, выделенных на территории Волгоградской области в 1970 – 2003 гг.

Штаммы <i>V. cholerae</i>	Размер ампликона (п.н.)			Фенотип резистентности
	qacEd1 - sul	in-F - in-B	SXT-F - SXT-B	
B-44, B-48, B-54	-	-	-	POL ^R LIN ^R
B-88, B-91, B-112, B-129, B-133, B-135, B-136, B-192, B-194, B-198	800	380	-	POL ^R LIN ^R
B-134	800	-	-	POL ^R LIN ^R
B-132, B-152	-	380	-	POL ^R LIN ^R
B-148, B-149, B-153, B-163	800	1100	-	POL ^R STR ^R OXA ^R LIN ^R
B-161	800	1510	820	POL ^R RIF ^R STR ^R GEN ^R KAN ^R AMP ^R OXA ^R TMP ^R LIN ^R CML ^R
B-193	-	2170	-	POL ^R STR ^R AMP ^R OXA ^R LIN ^R
B-196	-	1510	820	POL ^R RIF ^R STR ^R AMP ^R OXA ^R PIP ^R TMP ^R LIN ^R
O139 Bengal *	800	1800	820	POL ^R RIF ^R STR ^R GEN ^R KAN ^R AMP ^R OXA ^R TMP ^R LIN ^R CML ^R

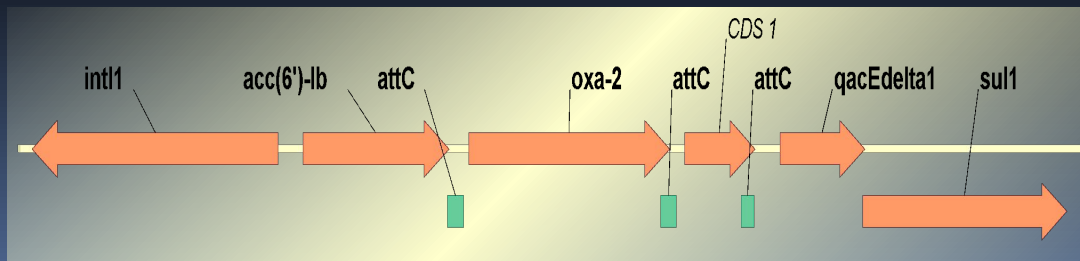
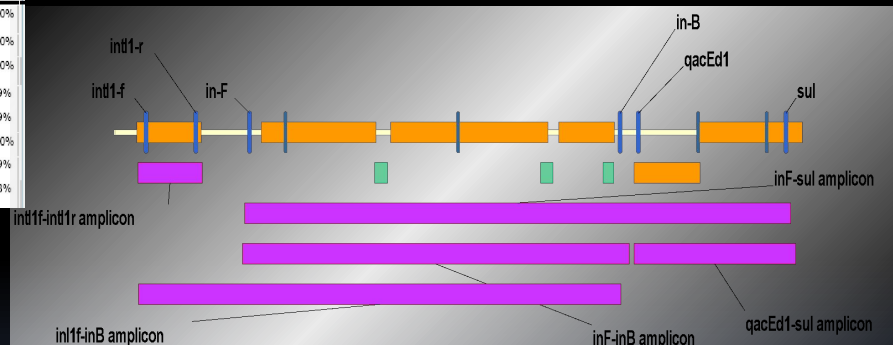
RIF - рифампицин, POL - полимиксин, STR - стрептомицин, AMP - ампициллин, OXA - оксациллин, PIP - пиперацillin, TMP - триметоприм, LIN - линкомицин, CML - хлорамфеникол, * - штамм O139 Bengal (*In1*+ *SXT*+) использован для сравнения

Секвенирование и картирование последовательности *In1* *Vibrio cholerae* B-193



BLAST Basic Local Alignment Search Tool

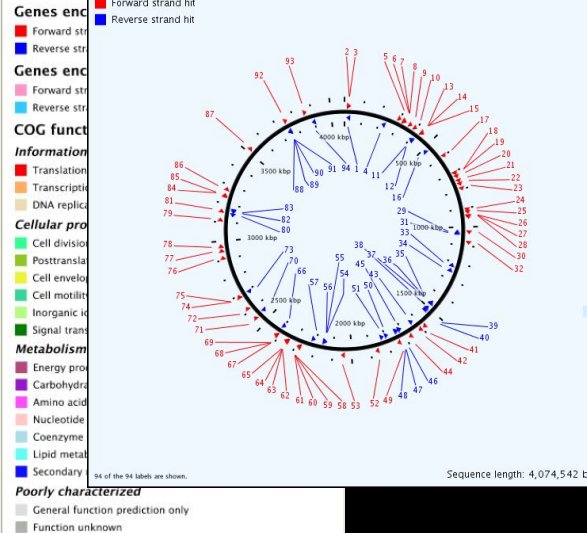
Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
DQ310703.1	<i>Vibrio cholerae</i> plasmid pAS1 insertion sequence IS4321R and transposon Tn1696, complete sequence; and class 1 integron InVC117, partial sequence	3683	3683	100%	0.0	100%
AM040449.1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> partial integron InK13	3683	3683	100%	0.0	100%
U00006.1	... uil, aac(6')Ib gene, blaOXA-2 gene, ORF0, qacEdelta1 gene, sul1 gene, ORF513, blaCTX-M-2 gene, and sul1 gene (partial)	3683	3683	100%	0.0	100%
U00006.1	... sanII class 1 integron (In116)	3678	3678	100%	0.0	99%
U00006.1	int11 plasmid pS21 class 1 sul1-type integron (InS21)	3656	3656	100%	0.0	99%
U00006.1	integron, partial sequence	3443	3443	93%	0.0	100%
U00006.1	integron, partial sequence	2704	2704	73%	0.0	99%
U00006.1	rpA), Int1 (int1), AacA8 (aacA8), Oxa-2a (oxa-2), AacA7 (aacA7), AadA6 (aadA6), complete cds, and unknown genes	2475	3200	100%	0.0	98%



Хромосомные гены резистентности *B.pseudomallei*

Burkholderia pseudomallei K96243 chromosome 1, complete sequ...

BacMap



Accession: NC_006350

Length: 4,074,542 bp; Genes: 3,537

NC_00650

4,074,542 bp

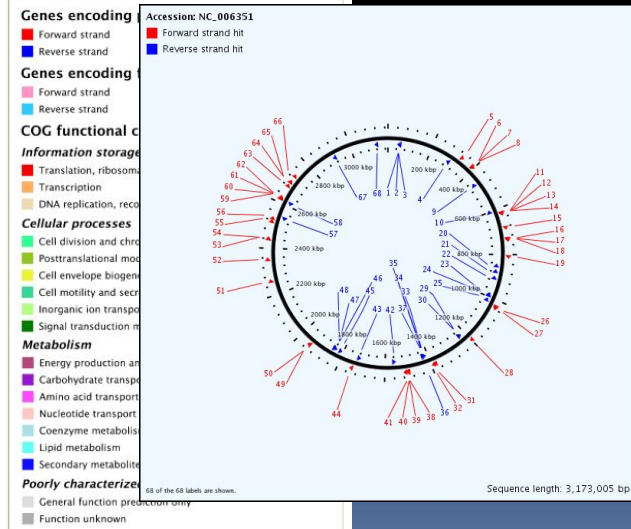
3537 генов

Генов резистентности - 94

Burkholderia pseudomallei K96243 chromosome 2, complete sequ...

BacMap

Genome Atlas



NC_006351

3,173,005 bp

2354 генов

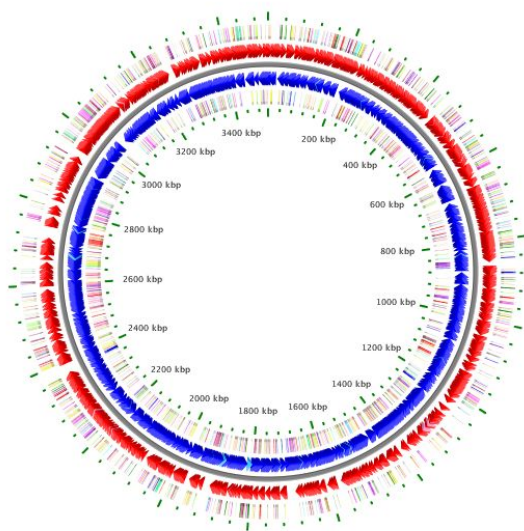
Генов резистентности - 68

Accession: NC_006351

Length: 3,173,005 bp; Genes: 2,354

Хромосомные гены резистентности *B. mallei*

Burkholderia mallei ATCC 23344 chromosome 1, complete sequen...



Accession: NC_006348

Length: 3,510,148 bp; Genes: 3,100

BacMap

Genome Atlas

Genes encoding proteins

Forward strand

Reverse strand

Accession: NC_006348

Forward strand hit

Reverse strand hit

COG

Inform

Trans

Trans

DNA

Cellul

Cell

Post

Cell

Cell

Inor

Sign

Metab

Ene

Car

Am

Nuc

Coe

Lipi

Sec

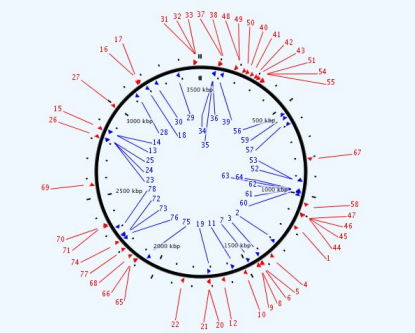
Poorly

General function prediction only

Function unknown

29 of the 79 labels are shown.

Sequence length: 3,510,148 bp



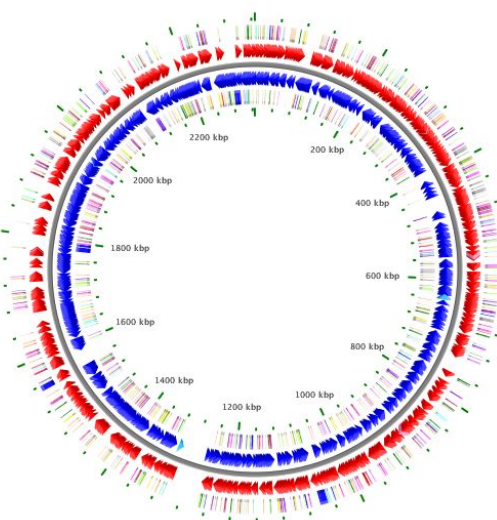
NC_00650

3,510,148 bp

3100 генов

■ Генов резистентности - 78

Burkholderia mallei ATCC 23344 chromosome 2, complete sequen...



Accession: NC_006349

Length: 2,325,379 bp; Genes: 1,800

BacMap

Genome Atlas

Genes encoding proteins

Forward strand

Reverse strand

Accession: NC_006349

Forward strand hit

Reverse strand hit

COG functional ca

Information storage

Translation, ribosomal

Transcription

DNA replication, recom

Cellular processes

Cell division and chro

Posttranslational modi

Cell envelope biogene

Cell motility and secre

Inorganic ion transport

Signal transduction me

Metabolism

Energy production and

Carbohydrate transport

Amino acid transport a

Nucleotide transport a

Coenzyme metabolism

Lipid metabolism

Secondary metabolites

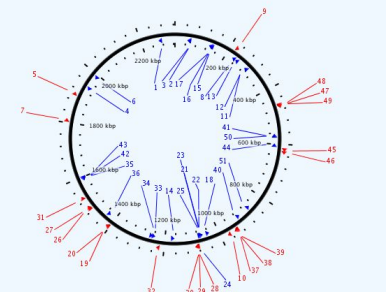
Poorly characterized

General function pred

Function unknown

11 of the 51 labels are shown.

Sequence length: 2,325,379 bp



NC_006351

2,325,379 bp

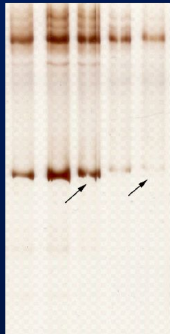
1800 генов

■ Генов резистентности - 51

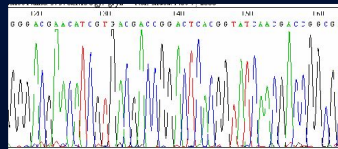
Изучение молекулярно-генетических механизмов полирезистентности видов *Burkholderia*

Анализ аллельного полиморфизма отдельных R-детерминант

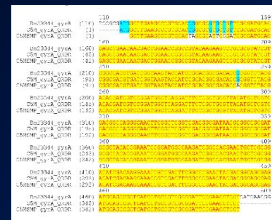
Поиск мутантных последовательностей в ПЦР-SSCP



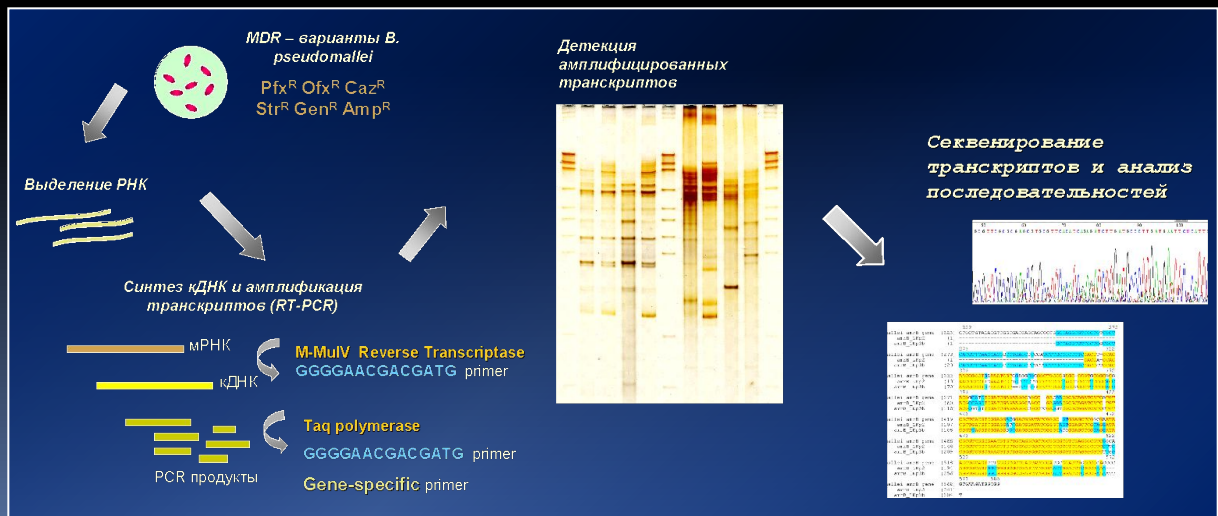
Секвенирование продуктов ПЦР



Детекция и характеристика мутаций



Дифференциальный дисплей мРНК



Дифференциальная экспрессия эффлюкс-генов у полирезистентных вариантов *B.pseudomallei*, *B.mallei* и *B.thailandensis*

Транскрипты мРНК *amrB* у исходных и мутантных штаммов



1 2 3 4 5 6

- 1 - *B.pseudomallei* 56770
- 2 - *B.pseudomallei* 56770 SMOC
- 3 - *B.mallei* 10230
- 4 - *B.mallei* 10230 SMP
- 5 - *B.thailandensis* E264
- 6 - *B.thailandensis* E264 SMPC

Транскрипты мРНК *emrE* у исходных и мутантных штаммов

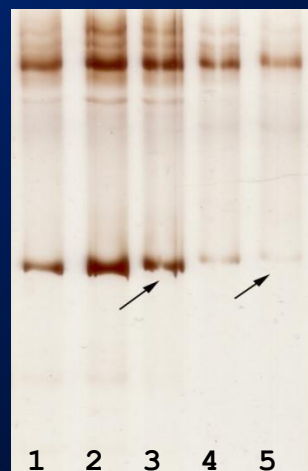
- 1 - *B.pseudomallei* 56770
- 2 - *B.pseudomallei* 56770 SMOC
- 3 - *B.mallei* 10230
- 4 - *B.mallei* 10230 SMP
- 5 - *B.thailandensis* E264
- 6 - *B.thailandensis* E264 SMPC



1 2 3 4 5 6

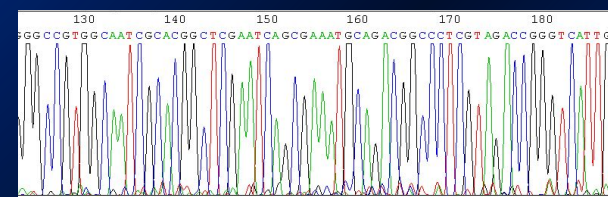
Выявление точечных мутаций в QRDR *gyrA* у мутантов *B.pseudomallei* и *B.mallei* с высоким уровнем устойчивости к фторхинолонам

ПЦР-SSCP QRDR региона



- 1 - *B.pseudomallei* 56770
- 2 - *B.pseudomallei* 56770 SMCР
- 3 - *B.pseudomallei* 56770 SMOС
- 4 - *B.mallei* Ц-5
- 5 - *B.mallei* Ц-5 SMP

Секвенирование ампликонов



Выявление точечных мутаций в QRDR *gyrA*

Bps1710b_gyrA	(112)	112	161
BpsK96243_gyrA	(112)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(1)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(1)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(162)	162	211
BpsK96243_gyrA	(162)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(40)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(40)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(212)	212	261
BpsK96243_gyrA	(212)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(89)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(89)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(262)	262	311
BpsK96243_gyrA	(262)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(138)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(138)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(312)	312	361
BpsK96243_gyrA	(312)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(188)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(188)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(362)	362	411
BpsK96243_gyrA	(362)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(238)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(238)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(412)	412	461
BpsK96243_gyrA	(412)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(288)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(288)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bps1710b_gyrA	(462)	462	511
BpsK96243_gyrA	(462)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770_gyrA_QRDR	(338)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
56770SMOC_gyrA_QRDR	(338)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	

Bm23344_gyrA	(110)	110	159
C5M_gyrA_QRDR	(1)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(1)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(160)	160	209
C5M_gyrA_QRDR	(45)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(42)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(210)	210	259
C5M_gyrA_QRDR	(95)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(92)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(260)	260	309
C5M_gyrA_QRDR	(145)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(142)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(310)	310	359
C5M_gyrA_QRDR	(195)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(192)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(360)	360	409
C5M_gyrA_QRDR	(245)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(242)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(410)	410	459
C5M_gyrA_QRDR	(295)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(292)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
Bm23344_gyrA	(460)	460	509
C5M_gyrA_QRDR	(345)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	
C5MSMP_gyrA_QRDR	(342)	CGCGATGAGCTTGAAGCGTGAACGCGGCGTGTTCGCGATGCACGA	