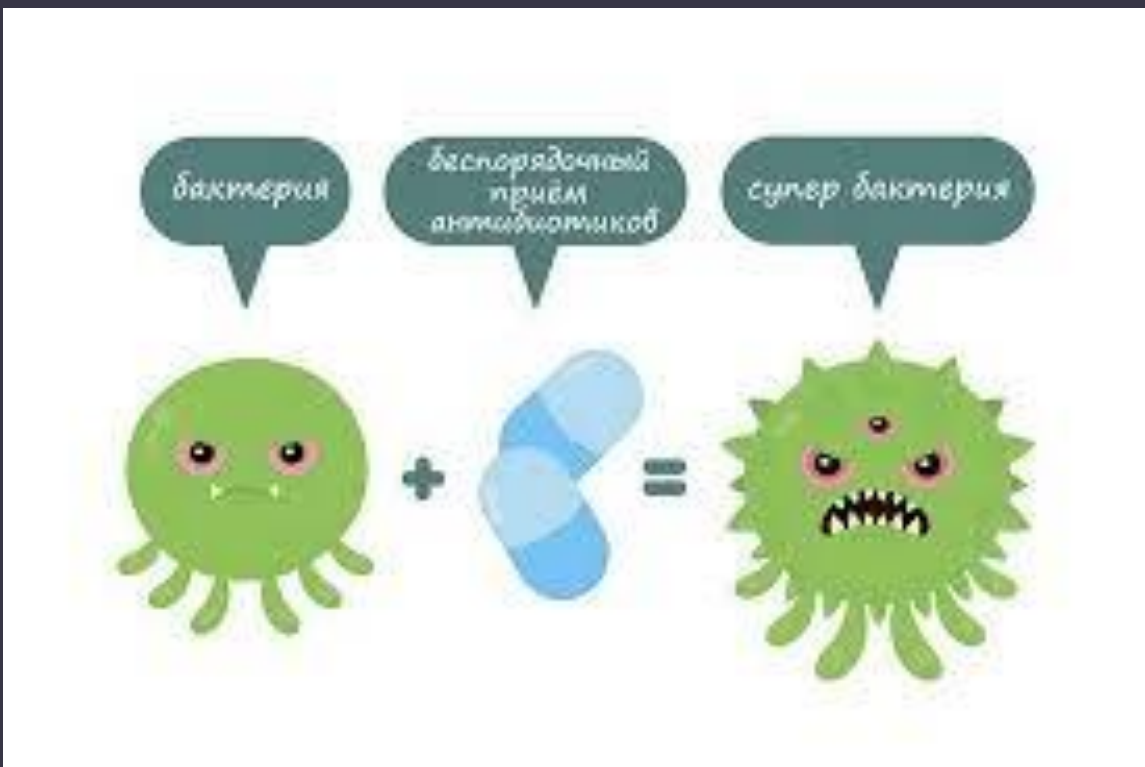


Антибиотикорезистентность. Проблемы резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам

10 ЛЕКЦИЯ



Антибиотикорезистентность

— это устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, в результате которой они выживают и размножаются, несмотря на действие лекарств. Эта проблема возникает из-за мутаций в микроорганизмах, чему способствует нерациональное применение антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве. Следствием является снижение эффективности лечения, повышение риска осложнений и летальных исходов от инфекций, которые раньше были легко излечимы.

Причины возникновения и распространения резистентности

- **Нерациональное использование антибиотиков:**
 - Самолечение антибиотиками.
 - Приём антибиотиков при вирусных инфекциях, таких как ОРВИ, грипп и простуда.
 - Нерегулярное или преждевременное прекращение приёма антибиотиков.
- **Чрезмерное использование в сельском хозяйстве:** Применение антибиотиков для стимуляции роста животных способствует развитию резистентности.

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 не эффективны. Природная резистентность является постоянным видовым признаком микроорганизмов и легко прогнозируется;



Приобретенная устойчивость

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

Виды резистентности микроорганизмов к АБ

Природная

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

Приобретенная

- свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях АБ, которые подавляют основную часть микробной популяции.
- формирование резистентности обусловлено генетически: приобретением новой генетической информации или изменением уровня экспрессии собственных генов.

Известны следующие биохимические механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам:

1) модификация мишени действия антибактериальных препаратов;

2) инаktivация антибактериальных препаратов;

3) активное выведение антибактериальных препаратов из микробной клетки (эффлюкс);

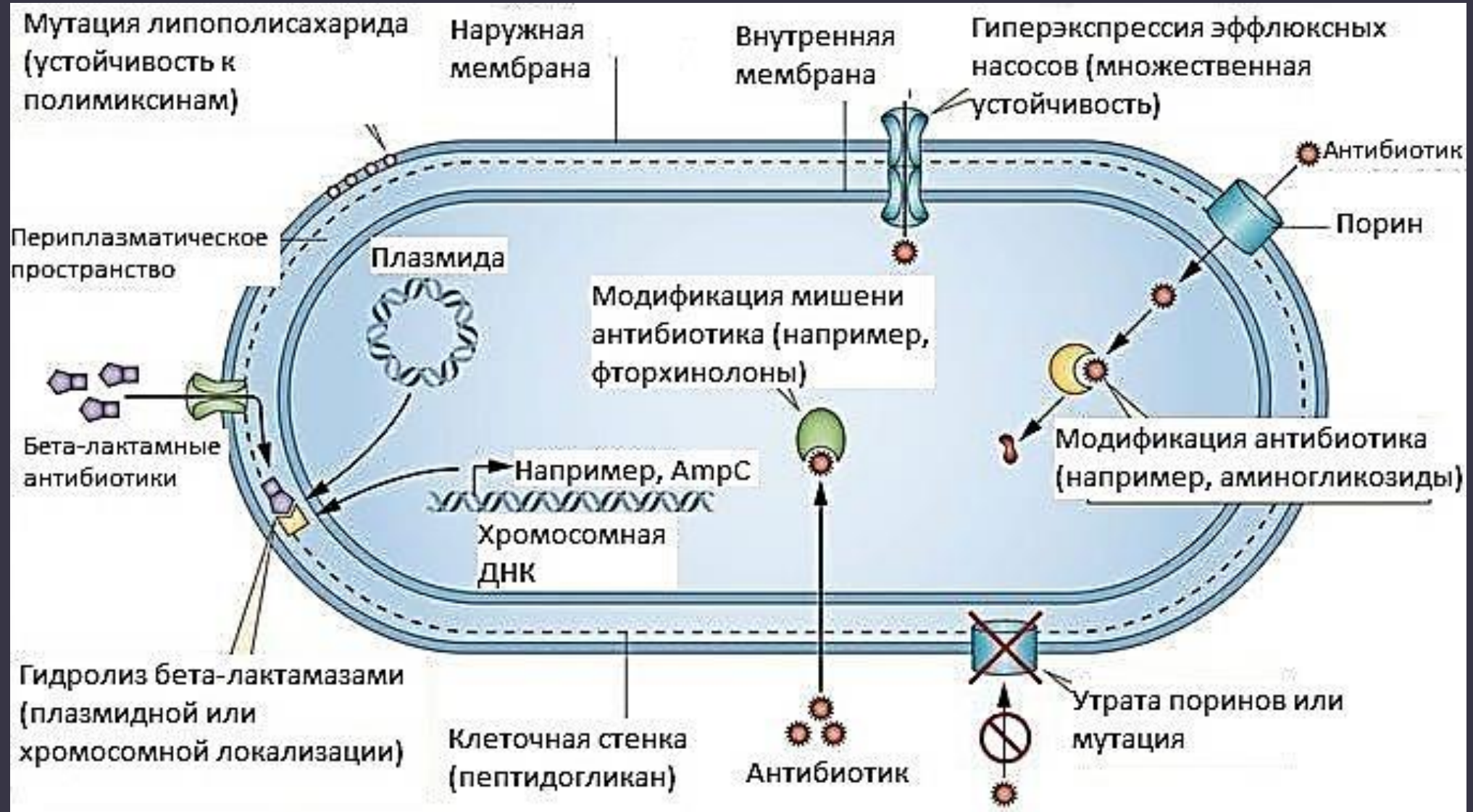
4) нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки;

5) формирование метаболического «шунта»

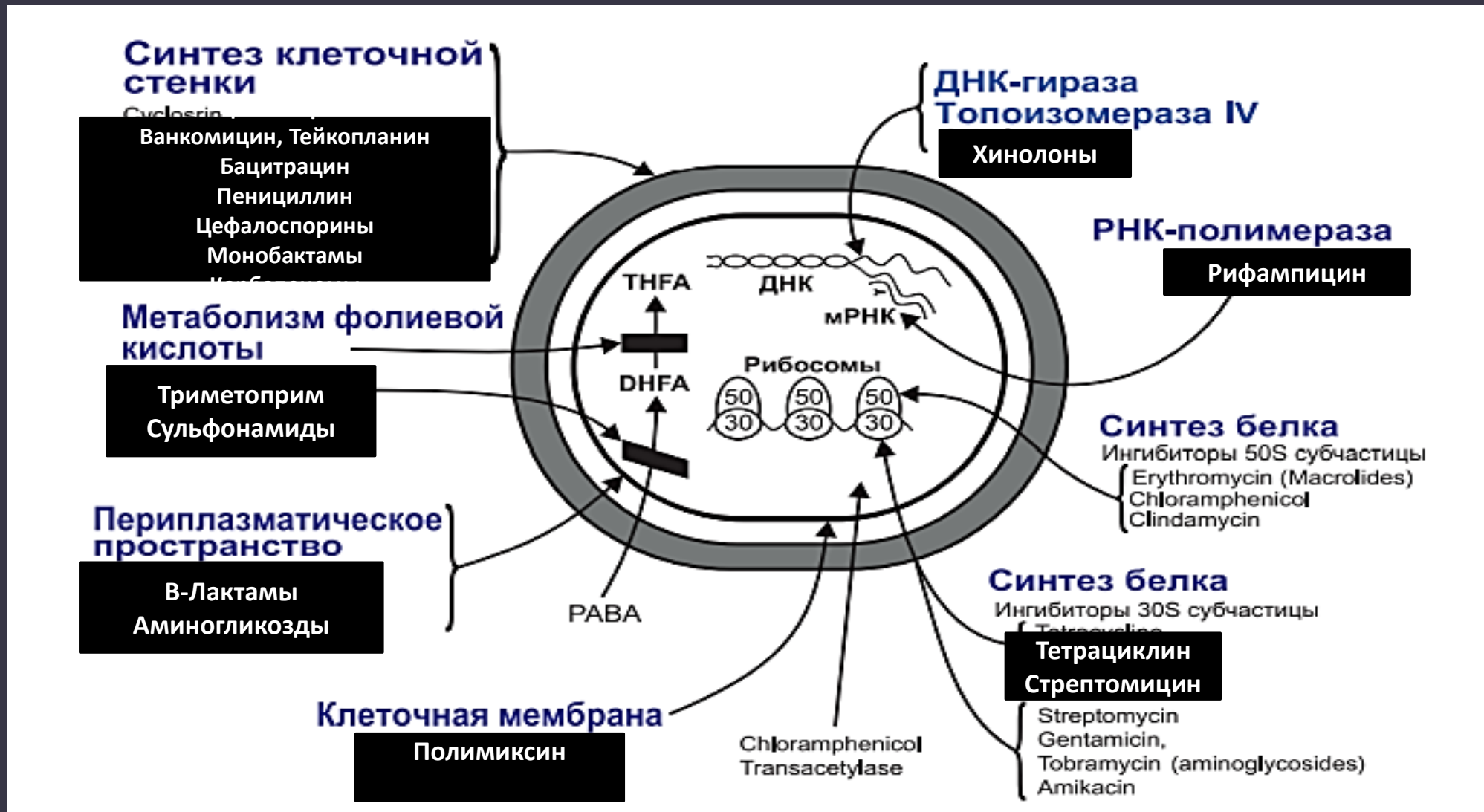
Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам:

Структура мишеней действия АБП (антибактериальные препараты) подвержена изменчивости в результате спонтанных мутаций в кодирующих их генах или иных генетических событий. Часть таких изменений может привести к снижению (или утрате) способности мишени связываться с АБП.

Механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам:



Основные механизмы воздействия АБ на микробную клетку



THFA, DHFA — тетрагидро- и дигидрофолиевая кислоты, соответственно;
PABA — *p*-аминобензойная кислота

Механизм развития устойчивости

- Устойчивость к ФХ развивается в результате спонтанных мутаций, приводящих к аминокислотным заменам в полипептидных цепях ДНК-гиразы или топоизомеразы IV.
- Важны лишь мутации, возникающие в «хинолоновом кармане». Участки получили название «область, детерминирующая устойчивость к хинолонам».

Размер этой области у субъединицы A ДНК-гиразы кишечной палочки составляет около 40 аминокислот. При этом замены некоторых аминокислот приводят к наиболее выраженному снижению аффинности и, к максимальному снижению чувствительности. Так, у *E. coli* замена серина в 83-м положении является наиболее частой мутацией, приводящей к формированию устойчивости.

Устойчивость к фторхинолонам

Для всех ФХ выделяют:

- 1) Первичную мишень (препарат проявляет наибольшее сродство);
- 2) Вторичная мишень

**У грамположительных
бактерий**

первичная мишень –
топоизомераза IV,

**У грамотрицательных
бактерий**

первичная мишень – ДНК-
гираза.

- Спарфлоксацин и гатифлоксацин действуют на – ДНК-гирazu.
- Моксифлоксацин и гемифлоксацин обладают приблизительно одинаковым сродством к обоим ферментам.

Устойчивость к фторхинолонам

- После возникновения мутаций в генах фермента (первичной мишени действия) МПК **(минимальная подавляющая концентрация)** препаратов обычно повышается в 4-8 раз, а антибактериальный эффект проявляется за счет подавления активности фермента, являющегося вторичной мишенью.
- Если воздействие фторхинолонов на микроорганизм продолжается, то возможно возникновение и селекция мутаций во вторичной мишени и, как следствие, повышение МПК еще в 4-8 раз.
- Для формирования устойчивого штамма мутации должны произойти одновременно в генах обоих ферментов(встречаются реже, чем одиночные).

**МПК – минимальная подавляющая концентрация*

Имитация молекулы-мишени

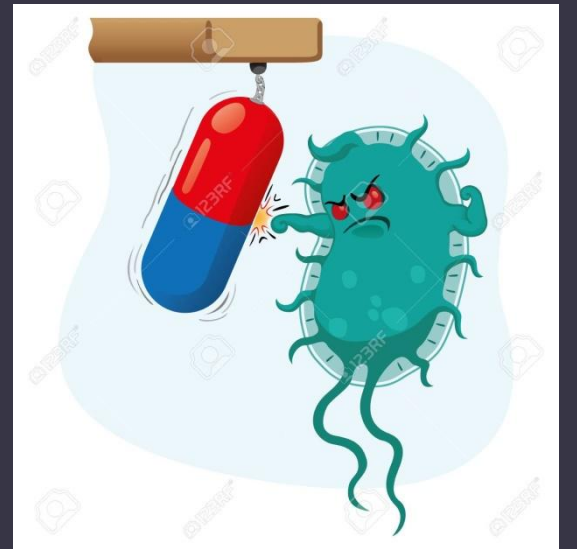
- Интересный механизм устойчивости к хинолонам обнаружен у *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium bovis*.
- У этих двух видов был обнаружен белок семейства «пентапептидных повторов», кодируемый хромосомным геном *mfpA*.
- Данный белок по окончании фолдинга приобретает структуру, чрезвычайно схожую с двойной спиралью ДНК.
- MfpA симулирует структуру ДНК и тем самым служит мишенью для фторхинолонов, что защищает клетку от губительного взаимодействия антибиотика с ДНК-гиразным комплексом.

*Фолдинг белка – пространственная укладка полипептидной цепи в третичную структуру.

Модификация мишени действия

Приобретение генов менее чувствительной молекулы-мишени от других видов.

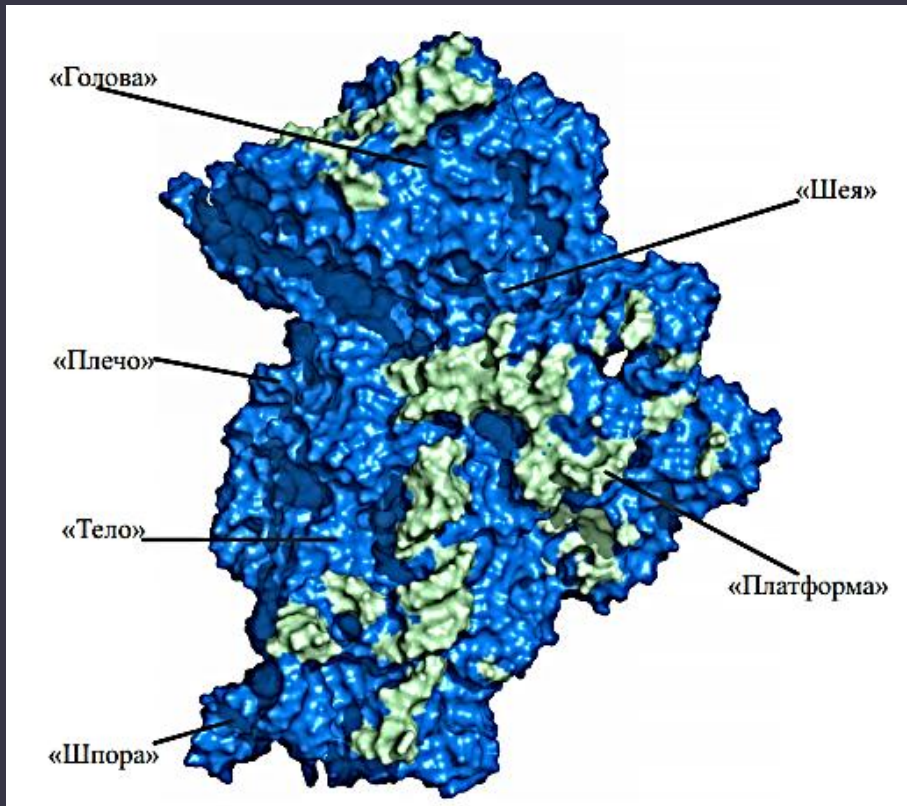
Подобный механизм устойчивости к пенициллину распространен среди устойчивых штаммов *Streptococcus pneumoniae* и *Neisseria meningitidis*, содержащих мозаичные гены DD-транспептидазы, являющейся мишенью для пенициллина.



Устойчивость к макролидам, кетолидам и линкозамидам

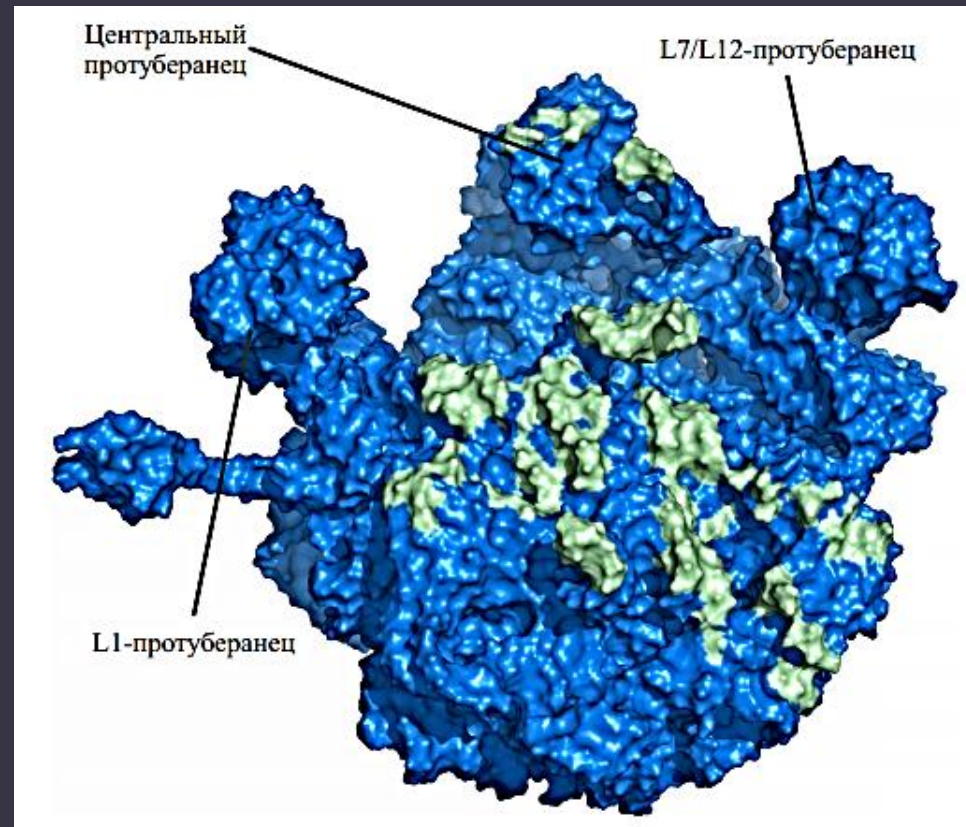
- Механизм действия антибиотиков данной группы основан на ингибировании биосинтеза белка в результате связывания с 50S субъединицей рибосомы.
- АБ данных групп существенно различаются по своей химической структуре, но их объединяет общий механизм антибактериального действия и механизмы резистентности.

Рибосома как мишень действия



Малая 30S субъединица
бактериальной рибосомы

большая 50S субъединица
бактериальной рибосомы



Механизм развития устойчивости

1) АБ связывается с доменами II и V рРНК.

Основным участком связывания является домен V, причем основные точки связывания – нуклеотиды в положениях A2058, A2059 и G2505.

2) В пределах домена II АБ взаимодействует с нуклеотидом в положении A752 – характерно для кетолидов (более высокая АБ активность и отсутствие перекрестной устойчивости с макролидами).

- Связь с 23S рРНК препятствует сборке 50S субъединицы и процессу элонгации.
- Модификация 23S рРНК осуществляется в результате:
 - метилирования аденина (в положении 2058);
 - нуклеотидных замены.

Модификация 23S рРНК

2 варианта синтеза метилазы:

При индуцибельном типе синтеза фермента для его начала необходима индукция.

При конститутивном типе синтез фермента не зависит от внешних условий. Соответственно, бактерии проявляют устойчивость ко всем макролидам и линкозамидам.

- **Синтез стрептококковых метилаз** индуцируется всеми макролидами и линкозамидами и микроорганизмы проявляют устойчивость ко всем перечисленным антибиотикам.
- **Синтез стафилококковых метилаз** способен индуцировать только 14- и 15-членные макролиды (устойчивость сохраняется к этим АБ), но сохраняют чувствительность к 16-членным макролидам и линкозамидам.
- В клинической практике могут встречаться стафилококки устойчивые как ко всем макролидам и линкозамидам, так и только к 14- и 15-членным макролидам.

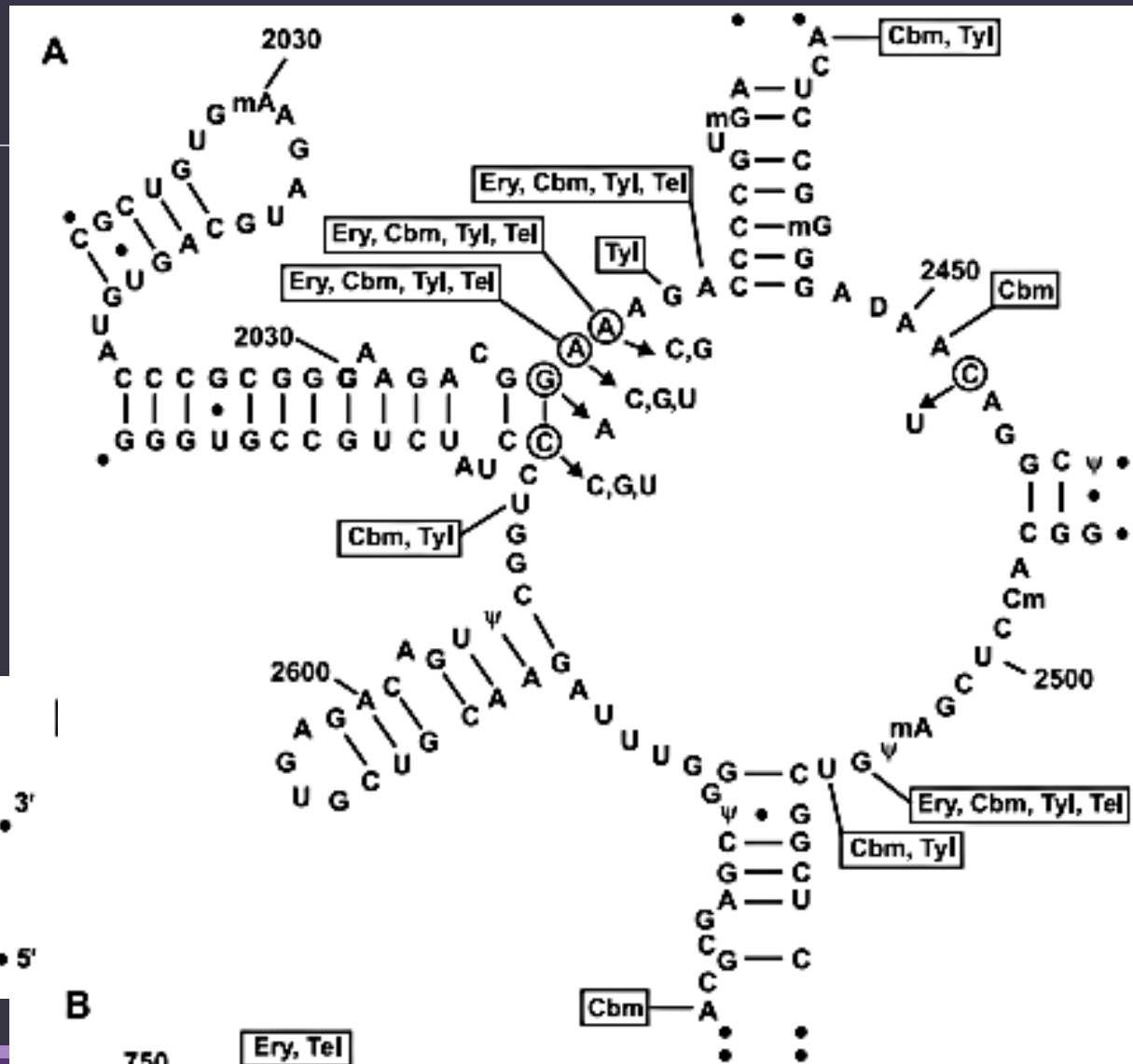
Устойчивость к макролидам, кетолидам и линкозамидам

Вторым механизмом развития устойчивости являются мутации в генах рРНК и рибосомальных белков, приводящие к конформационным изменениям пептидилтрансферазного центра и к снижению аффинности препаратов.

Мутации в генах рРНК являются основным механизмом устойчивости к макролидам у *H. pylori*.



**Кружками отмечены
положения,
нуклеотидные замены
в которых приводят к
формированию
устойчивости.**



Указаны нуклеотиды, с которыми связываются отдельные представители макролидных АБ.

Устойчивость к гликопептидам



- Механизм действия гликопептидов: блокирование завершающей стадии синтеза пептидогликана путем связывания молекулы антибиотика с концевыми аминокислотами в боковой пептидной цепочке (D-аланин-D-аланин).
- Механизм устойчивости к гликопептидам у энтерококков связан с синтезом бактериями модифицированной боковой полипептидной цепи.

Устойчивость микобактерий к рифамицинам

Мишень действия: фермент ДНК-зависимая РНК-полимераза (ген *rpoB*).

Устойчивость к рифамицинам (рифампицину, рифабутину и др.) (более 95% штаммов) связана с мутациями в сравнительно небольшом фрагменте β -субъединицы этого фермента. Размер указанного фрагмента составляет 81 пару оснований (27 кодонов).

Пример: наличие мутации в кодонах 526 и 531 приводит к высокому уровню резистентности к рифампицину (МПК < 32,0 мкг/мл) и другим рифамицинам.

Мутации в кодонах 511, 516, 518 и 522 сопровождаются низким уровнем устойчивости к рифампицину и рифапентину, при сохранении чувствительности к рифабутину.

Устойчивость микобактерий к изониазиду

- Изониазид представляет собой пролекарство. При монотерапии изониазидом к нему быстро (в 70% случаев) развивается устойчивость.



Механизм действия связан с угнетением синтеза миколовой кислоты в клеточной стенке *M.tuberculosis*.

- Одним из механизмом устойчивости микобактерий является **гиперпродукция мишеней действия активных форм препарата.**

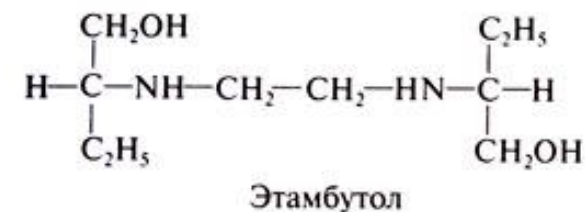
Мишени действия: белки, участвующие в транспорте предшественников миколовой кислоты и ее биосинтезе: ацилированный белок-носитель (ген *acrM*), синтетаза (ген *kasA*) и редуктаза (ген *inhA*) белка-носителя. Мутации обычно выявляются в промоторных областях перечисленных генов. Уровень устойчивости, связанной с гиперпродукцией мишеней, как правило, ниже, чем при мутациях в генах каталазы-пероксидазы.

Устойчивость микобактерий к этамбутолу

Мишень действия: белок embB (арабинозилотрансфераза), участвующий в биосинтезе компонента клеточной стенки микобактерий - арабиногалактана.

Устойчивость к этамбутолу, в подавляющем большинстве случаев, связана с точечной мутацией в 306 кодоне.

Этамбутол — синтетический ПТП (противотуберкулезный препарат). Активность этамбутола связана с ингибированием ферментов, участвующих в синтезе клеточной стенки микобактерий. Препарат оказывает бактериостатическое действие. Активен только в отношении размножающихся микобактерий.



Устойчивость к β -лактамам АБ

Мишень действия β -лактамов: ферменты — ПСБ (пенициллин-связывающие белки) участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации у некоторых ПСБ уменьшается сродство к β -лактамам(повышается МПК (минимальная подавляющая концентрация) этих препаратов и снижается клиническая эффективность).

Устойчивость стафилококков (*S.aureus*) обусловлена появлением у микроорганизмов дополнительного ПСБ (ПСБ2а). Маркером наличия

Клиническое значение имеет устойчивость среди стафилококков и пневмококков. Гены модифицированных ПСБ локализованы на хромосомах.

Основные клинически значимые бактерии устойчивы к следующим группам АБ

- **Staphylococcus spp.:** резистентность к природным и полусинтетическим пенициллинам (за счет продукции бета-лактамаз);
- **S.aureus** (метициллинорезистентные): ассоциированная (между разными группами) резистентность к макролидам, аминогликозидам, тетрациклинам, фторхинолонам, ко-тримоксазолу, иногда к ванкомицину;
- **S.pneumoniae:** резистентность к пенициллинам (некоторые штаммы к цефалоспорином 3 поколения); ассоциированная устойчивость к макролидам, тетрациклинам, ко-тримоксазолу;
- **Enterococcus spp.:** ассоциированная резистентность к пенициллинам, аминогликозидам, фторхинолонам, гликопептидам;
- **H.influenzae:** резистентность к полусинтетическим пенициллинам;
- **N.gonorrhoeae:** резистентность к пенициллинам, фторхинолонам, тетрациклинам;

- **Shigella spp.:** резистентность к ампициллину, тетрациклинам, хлорамфениколу, ко-тримоксазолу;

- **Salmonella spp.:** резистентность к ампициллину, цефалоспорином 3 поколения, хлорамфениколу, фторхинолонам, ко-тримоксазолу;

- **E.coli:** резистентность к ампициллину, гентамицину, ко-тримоксазолу, фторхинолонам, некоторые штаммы — к карбапенемам;

- **Klebsiella spp.:** резистентность ко всем цефалоспорином; ассоциированная устойчивость к гентамицину и фторхинолонам;

- **P. mirabilis:** устойчивость к пенициллинам, цефалоспорином 1 поколения;

- *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *S.maltophilia*: ассоциированная резистентность к цефалоспорином, фторхинолонам, аминогликозидам, иногда к карбапенемам.

β-лактамы 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 практически важным свойствам:

· **субстратный профиль** (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-лактамазы встречаются у подавляющего большинства клинически значимых микроорганизмов, важным исключением являются микроорганизмы рода *Streptococcus*.

<https://app.jove.com/ru/embed/player?id=19553&access=2d8cdf48ec&language=ru&t=1&s=1&fpv=1>

<https://app.jove.com/ru/embed/player?id=10807&access=454cfe4d57&language=ru&t=1&s=1&fpv=1>

<https://app.jove.com/ru/embed/player?id=19522&access=4eb23e5ebc&language=ru&t=1&s=1&fpv=1>