

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
MEDICĪNAS FAKULTĀTE

**AUGU PREPARĀTA UN ANTIBAKTERIĀLO
VIELU SINERĢISKĀ DARBĪBA**

MAGISTRA DARBS

Autors: **Ieva Taujēna**

Studenta apliecības Nr.: it18035

Darba vadītājs: profesore Dr. biol. Tatjana Tračevska

RĪGA 2020

KOPSAVILKUMS

Visā pasaulē arvien vairāk tiek runāts par dažādu mikroorganismu un to izraisīto infekciju ārstēšanas iespējām. Gan nozokomiālās infekcijas, gan sabiedrībā iegūtas infekcijas ir viens no lielākajiem draudiem sabiedrības veselībai. Šīs infekcijas ir viens no galvenajiem faktoriem jaunu antibakteriālo līdzekļu vai to kombināciju pētīšanai.

Maģistra darba ietvaros tika izmantoti baktēriju izolāti, kuri iegūti no Latvijas Universitātes mikrobioloģijas kultūru kolekcijas. Darbā tika izmantoti divi *Staphylococcus aureus* celmi, meticilīna jutīgais un klīniskais celms, un 11 augu komponentu preparāts AFI. Antibakteriālo līdzekļu efektivitāte tika pārbaudīta ar hinolonu grupas pretmikrobu līdzekli – ciprofloksacīnu un aminoglikozīdu grupas pretmikrobu līdzekli – gentamicīnu.

Darba mērķis ir izpētīt augu preparāta AFI darbības efektivitāti kombinācijā ar antibiotikām izmantojot mikrobioloģiskās metodes. No mikrobioloģiskajām metodēm augu preparāta AFI efektivitātes analīzei tika izmantota buljona mikroatšķaidījuma metode.

Darba gaitā iegūtie rezultāti norāda, ka augu preparāta AFI kombinācija ar antibakteriālajiem līdzekļiem sniedz pastiprinošu jeb additīvu efektu salīdzinot ar šo antibakteriālo līdzekļu darbību lietojot tos individuālajā terapijā, bet ar hinolonu grupas antibakteriālo līdzekli - ciprofloksacīnu šis efekts bija lielāks nekā ar aminoglikozīdu grupas pārstāvi - gentamicīnu.

Dati liecina, ka augu preparātu kombinācija ar antibakteriālajiem līdzekļiem var tikt efektīvi izmantota dažādu infekciju ārstēšanai uz ādas, tādu kā brūču infekcijas, ko izraisa *S. aureus*. Šādu preparātu farmakoloģiskā forma varētu būt, piemēram, ziede.

Atslēgvārdi: Hinoloni, aminoglikozīdi, AFI, *Staphylococcus aureus*, sinerģisms, antibakteriālie līdzekļi.

SUMMARY

There is a worldwide research and interest in increasing the possibility for treatment of various microorganism caused infections. Both nosocomial infections and community infections are one of the biggest threats to public health. Infections caused by resistant microbes are stimulating research for new antimicrobials or their combinations with herbal products.

As a part of master's work, bacterial isolates derived from the University of Latvia's microbiology culture collection were used. Two strains of *Staphylococcus aureus*, methicillin sensitive laboratory and the clinical strain and an extract AFI (11 plant components) were used in this study. The effectiveness of antimicrobials was tested with two antimicrobial agents: - ciprofloxacin (quinolones group) and the antimicrobials of the aminoglycoside group – gentamicin.

The goal of this study was to investigate effectiveness of the AFI plant combination with antibiotics using microbiological methods. From the microbiological analysis of the effectiveness of the plant preparation AFI, the broth microdilution method was used.

The results of the work indicate that the combination of AFI antimicrobials of the plant preparation provides an aggravating or additive effect compared to the activity of these antimicrobials in individual therapy. Additionally, when tested with the quinolones group antimicrobial such as – ciprofloxacin, this effect was higher than with aminoglycosides group antimicrobial – gentamicin.

Data shows that the combinations of plant preparations with antimicrobials can be used effectively to treat various chronic infections of the skin, such as wound infections caused by *Staphylococcus aureus*. The pharmacological form of such preparations, for example, – ointment could be developed.

Keywords: quinolones, aminoglycosides, AFI, *Staphylococcus aureus*, synergism, antimicrobials.

Saturs

KOPSAVILKUMS	2
SUMMARY	3
APZĪMĒJUMI	6
IEVADS	7
1. LITERATŪRAS APSKATS	9
1.1. Gram pozitīvo un Gram negatīvo baktēriju raksturojums	9
1.1.1. Baktēriju krāsošana pēc Grama metodes	9
1.1.2. Gram-negatīvās baktērijas	10
1.1.3. Gram-pozitīvās baktērijas	13
1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
1.3. Biežāk lietoto antibakteriālo vielu klases	19
1.4. β -laktāmi	19
1.4.1. β -laktāmu antibiotiku darbības mehānisms	20
1.4.2. Penicilīni	20
1.4.3. Penicilīnu iedalījums un aktivitāte	20
1.4.4. β -laktamāzes	22
1.4.5. β -laktamāzes inhibitori	23
1.4.6. Cefalosporīni	24
1.4.7. Cefalosporīnu struktūra un iedalījums	24
1.5. Makrolīdi	27
1.5.1. Makrolīdu darbības mehānisms	28
1.5.2. Makrolīdu aktivitāte	28
1.6. Tetraciklīni	30
1.6.1. Tetraciklīnu darbības mehānisms	31
1.7. Aminoglikozīdi	32
1.7.1. Aminoglikozīdu darbības mehānisms	33
1.8. Hinoloni	34

1.8.1. Hinolonu darbības mehānisms.....	34
1.8.2. Hinolonu struktūra un aktivitāte	35
1.9. Augu sastāvdaļas ar antibakteriālu darbību.....	37
1.9.1. AFI jeb Ājurvēdiskais Indijas Farmakopejas preparāts.....	38
1.9.2. Sinerģiskais efekts augu preparātiem ar antibakteriālajiem līdzekļiem	41
2. MATERIĀLI UN METODEDES.....	43
2.1. Materiāli.	43
2.1.1. Izejmateriāli	43
2.1.2. Ķīmiskās vielas.....	43
2.1.3. Aparatūra	44
2.2. Barotņu sagatavošana	44
2.3. Darba izstrādei nepieciešamo paraugu sagatavošana	44
2.3.1. AFI preparāta sagatavošana.....	44
2.3.2. Pretmikrobu līdzekļu šķīdumu sagatavošana	45
2.4. Mikroorganismu sagatavošana mikroatšķaidījumu metodei	45
2.5. Metodes	47
2.5.1. Buljona mikroatšķaidījumu metode.....	47
3. REZULTĀTI	50
4. DISKUSIJA	52
SECINĀJUMI	56
LITERATŪRAS SARAKSTS	57

APZĪMĒJUMI

- MSSA – metecilīna jutīgais *Staphylococcus aureus*
MRSA – metecilīnrezistentais *Staphylococcus aureus*
LPS – lipopolisaharīds
DNS – dezoksiribonukleīnskābe
RNS – ribonukleīnskābe
PBP - penicilīnu saistošie proteīni
7-ACA - 7-aminocefalosporīnskābe
AFI – Ājurvēdiska Indijas Farmakopeja (Ayurvedic formulation of India)
NPET – topošā peptīda izejas tunelis (The nascent peptide exit centre)
PTC – peptidīltransferāzes centrs (peptidyltransferase centre)
FDA – *Food and Drug Administration*, US Pārtikas un zāļu pārvalde
NAG – N-acetilglikozamīns
NAM – N-acetilmurāmskābe
QNR - plazmīdu veidojošais hinolonu rezistences gēns
ATCC – *American Type Culture Collection*
S. Pyogenes – *Streptococcus pyogenes*
S. aureus – *Staphylococcus aureus*
K. pneumoniae – *Klebsiella pneumoniae*
E. coli – *Escherichia coli*
A. baumannii – *Acinetobacter baumannii*
H. influenzae – *Haemophilus influenzae*
P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*
S. pneumoniae – *Streptococcus pneumoniae*
S. typhi – *Salmonella typhi*
CYP3A4 – citohroms P450 3A4
MGE – mobīlie ģenētiskie elementi (*mobile genetic elements*)
SCC*mec* – hromosomālā stafilokokku kasete
mecA – gēns, ko nes mobīlie ģenētiskie elementi
DMSO – dimetilsulfoksīds
M. officinalis - *Melissa officinalis* (ārstniecības melisa)
D. Genkwa – *Daphne genkwa* (Daphne ceriņi)
V. officinalis – *Verbena officinalis* (ārstniecības verbēna)
M. charantia - *Momordica charantia* (rūgtā melone)

IEVADS

Pasaulē arvien vairāk tiek runāts par mikroorganismu rezistenci uz dažādu veidu antibakteriālajiem līdzekļiem. Tas ir liels drauds sabiedrībai, tās veselībai un infekciju slimību ārstēšanai. Tāpēc tiek meklētas jaunas vielas un vielu kombinācijas, lai novērstu rezistences veidošanos, kā arī profilaktiskai terapijai.

Viens no galvenajiem un klīniski nozīmīgākajiem cilvēku patogēniem ir *Staphylococcus aureus*. Šis mikroorganisms ir spējīgs izraisīt daudzas klīniski nozīmīgas infekciju slimības – bakterēmijas, infekciozi endokardīti, ādas un dažādu mīksto audu slimības, invazīvo procedūru infekciju izraisītājs (Tong, 2015). Neilgi pēc pirmo antibiotiku, penicilīnu, atklāšanas tika izolēti arī pirmie antibiotiku rezistentie celmi. No klīniski nozīmīgākajiem rezistentajiem mikroorganismiem noteikt ir jāmin - meticilīna rezistentais *Staphylococcus aureus* (MRSA). Šis mikroorganisms izraisa vairāk nāves gadījumus nekā meticilīna jutīgais *Staphylococcus aureus* (MSSA). Tas ir ļoti nozīmīgs nozokomiālo infekciju izraisītājs un ir liels izaicinājums mūsdienu medicīnai, bet mūsdienās šis mikroorganisms vairs netiek uzskatīts tikai par nozokomiālo infekciju izraisītāju. Tāpēc arvien vairāk tiek meklētas alternatīvas metodes, lai ārstētu šo mikroorganismu izraisītas infekcijas (Lakhundi, 2018).

Alternatīvās metodes infekciju slimību, it īpaši, rezistentu mikroorganismu izraisīto infekciju slimību ārstēšanai, tiek meklētas dažādu pasaules tautu medicīnā. Piemēram, tiek meklētas alternatīvas augu pasaulē. Augus un to ekstraktus dažādās kultūrās medicīniskos nolūkos jau izmanto sen. Ar tūkstošiem gadu senu vēsturi augu ekstraktu izmantošanā izceļas tādas pasaules valstis kā Ķīna, Indija, arī Dienvidamerikas un senie Amerikas iedzīvotāji paļāvās uz augu ārstniecisko spēku. Tomēr jāizceļ, ka Ķīnā un Indijā augus slimību ārstēšanā plaši izmanto arī mūsdienās. Ājurvēdā ir ļoti plaši aprakstīti un izmantoti augu preparāti un to kombinācijas, kuras mūsdienas jau izmanto arī citviet pasaulē. Un neapšaubāmi šo medicīnas nozari un augu preparātu izmantošana ārstnieciskos nolūkos izmantos vēl gadiem ilgi, jo sintētiskajiem medikamentiem ir gan savi ieguvumi, gan trūkumi, kurus pastiprināt vai samazināt ir iespējams ar dažādām augu aktīvajām vielām.

Šajā darbā tiek apskatīti biežāk izmantotie antibakteriālie līdzekļi un augu sastāvdaļu nozīme cīņā pret mikroorganismiem. Pārbaudīta un apskatīta antibakteriālo līdzekļu un ājurvēdas preparāta AFI (Ājurvēdiskais Indijas Farmakopejas preparāts) efektivitāte pret baktēriju *Staphylococcus aureus* izmantojot buljona mikroatšķaidījuma metodi.

Maģistra darba mērķis: Izpētīt augu preparāta AFI darbības efektivitāti kombinācijā ar antibiotikām izmantojot mikrobioloģisko metodi – buljona atšķaidījuma metodi.

Darba uzdevumi:

1. Noteikt antibiotikas – gentamicīna antibakteriālo efektivitāti darbojoties uz *Staphylococcus aureus* ATCC 2848 un *Staphylococcus aureus* ATCC 704.
2. Noteikt antibiotikas – ciprofloksacīna antibakteriālo efektivitāti darbojoties uz *Staphylococcus aureus* ATCC 2848 un *Staphylococcus aureus* ATCC 704.
3. Noteikt efektivitāti augu ekstraktam AFI darbojoties uz *Staphylococcus aureus* ATCC 2848 un *Staphylococcus aureus* ATCC 704.
4. Noteikt AFI efektivitāti kombinācijā ar antibakteriālo vielu – gentamicīnu darbojoties uz *Staphylococcus aureus* ATCC 2848 un *Staphylococcus aureus* ATCC 704.
5. Noteikt AFI efektivitāti kombinācijā ar antibakteriālo vielu – ciprofloksacīnu darbojoties uz *Staphylococcus aureus* ATCC 2848 un *Staphylococcus aureus* ATCC 704.
6. Noteikt kura no kombinācijām labāk darbojas un vai ir novērojams sinerģiskais efekts kombinējot AFI ar dažādām antibakteriālajām vielām.

1. LITERATŪRAS APSKATS

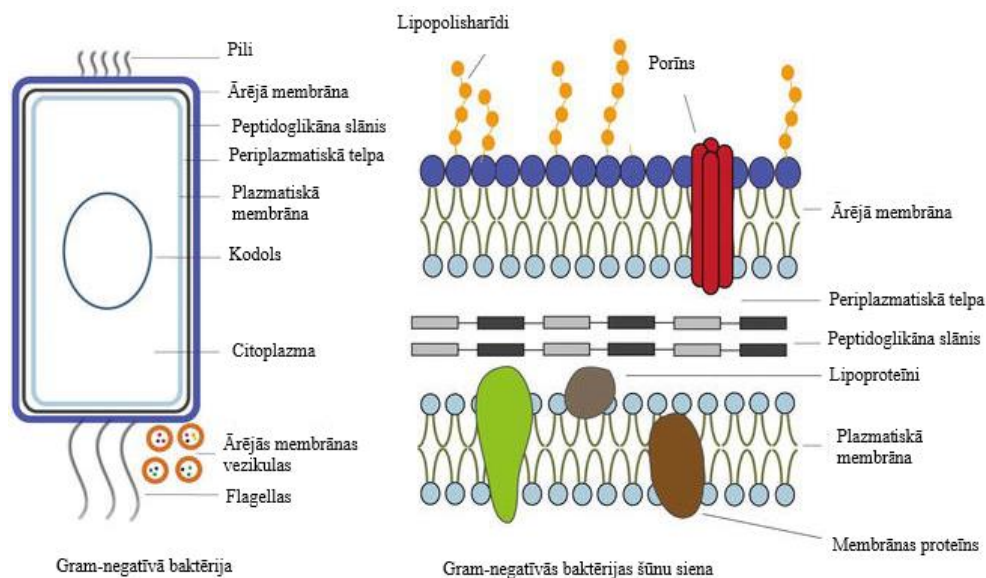
1.1. Gram pozitīvo un Gram negatīvo baktēriju raksturojums

1.1.1. Baktēriju krāsošana pēc Grama metodes

Viena no vissvarīgākajām diferencējamajām krāsošanas metodēm mikrobioloģijā ir Grama krāsošanas metode. Pēc šīs metodes baktērijas ir iespējams iedalīt divās grupās – Gram-pozitīvās un Gram-negatīvās baktērijas. Pielietojot šo metodi galā ir iegūstamas baktērijas divās atšķirīgās krāsās. Gram-pozitīvās baktērijas iekrāsojas violetas, bet gram-negatīvās baktērijas – sarkanas (Martinko, 2006). No šī iedalījuma ir atkarīgs, uz kādām antibakteriālām vielām baktērija būs jutīga un ar kādiem preparātiem ārstēs attiecīgo baktēriju izraisīto infekciju.

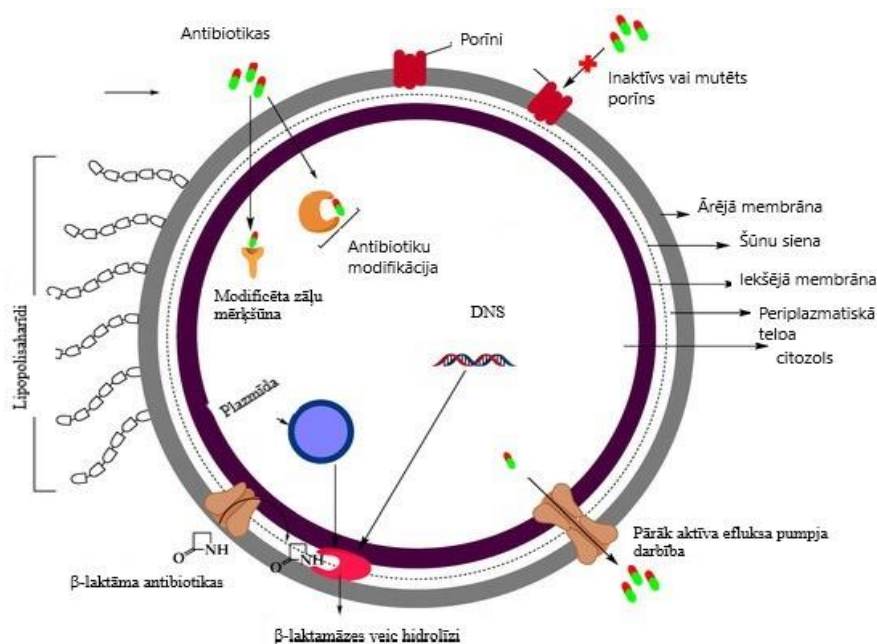
1.1.2. Gram-negatīvās baktērijas

Gram-negatīvās baktērijas ir prokariotiskas šūnas, kuru šūnu siena satur nelielu peptidoglikāna slāni un ārējo membrānu, kura satur lipopolisaharīdus (LPS), lipoproteīnus un citas kompleksās makromolekulas (Martinko, 2006). Atšķirībā no Gram-pozitīvajām baktērijām, Gram-negatīvās baktērijas pēc uzbūves ir sarežģītākas (skatīt *1.1.att.*). Gram-negatīvajām baktērijām šūnu sienas peptidoglikāna slānis ir plānāks nekā Gram- pozitīvajām baktērijām, tāpat šīm baktērijām ir periplazmatiskā telpa, kura iesaistās enzīmu transportā, degradācijā un sintēzē. Šūnai ir arī ārējā membrāna, kura sastāv no fosfolipīdiem un piesātinātajām taukskābēm, proteīni – porīni, lipoproteīni, transportproteīni, un lipopolisaharīds – lipīds A, polisaharīds, “O” antigēns, baktērijai ir arī kapsula, kura sastāv no disaharīdiem un trisaharīdiem. Gram- negatīvajām baktērijām ir izteikti arī pili, viciņas un proteīni (Murray, 2005). Raksturīgākās iezīmes starp Gram-pozitīvajām baktērijām un Gram-negatīvajām baktērijām ir tā, ka Gram-negatīvajām baktērijām ir periplazmatiskā telpa, kura atrodas starp ārējo un iekšējo membrānu. Tajā atrodas mureīns, nedaudz proteīnu un oligosaharīdi. Tāpat arī baktērijām ir izteikti plānāks peptidoglikāna slānis (5 – 10 nm) un tas ir arī savādāk būvēts. Tajā nav teihonskābes, L-lizīna vietā tetrapeptīdķēdēs ir diaminopimelīnskābe, kas uzskatāma par lizīna priekštecī. Iekšējai membrānai ir bilipīdu slānis, bet šie slāņi nav vienādi. Iekšējam slānim ir fosfolipīdi starp kuriem atrodas proteīni (5-8 galvenie proteīni un 50-100 citu proteīnu). Ārējās kārtas lipīdi ir unikāli, tos sauc par A-lipīdiem, un tie satur piesātinātas taukskābes un diglikozamīnfosfātu. Jāpiemin, ka A – lipīdi ir toksiski. Pie šī lipīda ir piesaistītas polisaharīdu ķēdes, tādējādi kopā veidojot LPS. LPS ir īpaši svarīgs Gram-negatīvajās baktērijās, jo tas pilda gan baktērijas endotoksīna funkciju, gan ir galvenais somatiskais antigēns – “O” antigēns. Gram-negatīvās baktērijas ir daudz rezistentākas pret dažādu vielu iedarbībām, jo šūnas ārējai membrānai cauri tiek tikai mazmolekulāras vielas, ar molekulsvaru mazāku par 600000 Da (Žilēviča, 2014).



1.1. att. Gram-negatīvo baktēriju un Gram-negatīvās baktērijas šūnu sienas shematisks attēlojums [tiešsaistes attēls ar korekcijām]. Pieejams - <https://www.intechopen.com/books/physiology-and-pathology-of-immunology/physiology-and-pathology-of-multidrug-resistant-bacteria-antibodies-and-vaccines-based-pathogen-spec>, skatīts – 27.03.2020

Gram-negatīvās baktērijas spēj izraisīt ļoti nopietnas slimības cilvēkiem, it īpaši, pacientiem ar imūnsupresiju. Veselības aprūpes speciālistu vidū liels izaicinājums ir nozokomiālo infekciju ārstēšana, ko izraisījuši Gram-negatīvie mikroorganismi, jo tie ļoti bieži ir rezistenti pret antibiotikām. Antimikrobiālā rezistence Gram-negatīvajām baktērijām ir saistāma ar antibiotiku inaktivējošu enzīmu ekspresiju un ir arī neenzimātiskie ceļi, kuri rezultējas rezistencē to hromosomālo gēnu mutācijas rezultātā (tādiem kā palielināta inaktivējošo enzīmu ekspresija, permeabilitātes vai mērķšūnu modifikācijā, arī efluksa pumpja modifikācija) vai iegūtas mobilo ģenētisko elementu pārnēsē, pārnēsot rezistences gēnus, tādus kā plazmīdu kodējošās β -laktamāzes, aminoglikozīdus modificējošais enzīms vai neenzimātiskie mehānismi, kā QNR (plazmīdu veidojošais hinolonu rezistences gēns), vai fluorhinolonu rezistence *Enterobacteriaceae* baktērijās (skatīt 1.2.att.) (Breijyeh, 2020).

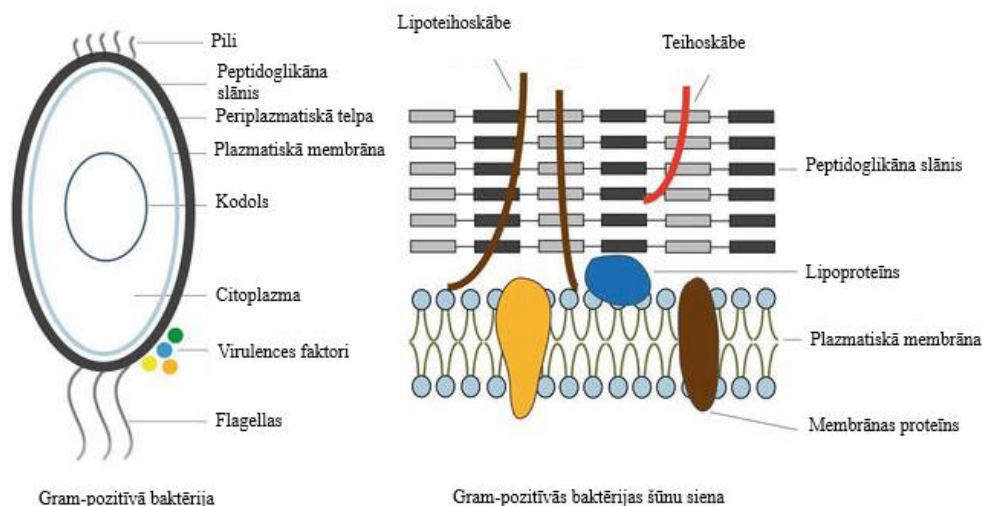


1.2.att. Gram-negatīvo baktēriju rezistences mehānismi. [Tiešsaiste attēls ar korekcijām], pieejams - <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/6/1340/htm>, skatīts – 27.03.2020

Enterobacteriaceae dzimta ir lielākā un dažādākā, kā arī klīniski nozīmīgākā Gram-negatīvo nūjiņu grupa. Kopumā šo dzimti pārstāv vairāk nekā 40 ģints un 150 sugas, apakšsugas. Šīs dzimtas pārstāvji ir ļoti izplatīti un sastopami, gan augsnē un ūdenī, kā arī ir daļa no dzīvnieku, arī cilvēku, intestinālās floras. Baktērijas izraisa dažādas slimības, ieskaitot septicēmijas, urīnceļu infekcijas, kā arī zarnu infekcijas. Dažas no šīs dzimtas baktērijām ir saistītas tikai ar slimībām (*Salmonella typhi*, *Shigella spp.*, *Yersinia pestis*), bet citas ir normālās mikrofloras pārstāvji, kuri var izraisīt oportūniskas infekcijas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) (Murray, 2005).

1.1.3. Gram-pozitīvās baktērijas

Gram-pozitīvās baktērijas šūnu sienas pamatelements ir peptidoglikāns jeb mureīns (skatīt *1.3.att.*). Tas ir heteropolimērs, kuram ir divas daļas – cukuru daļa un peptīdu daļa. Glikāni ir polisaharīdu ķēdes, kas veidotas no disaharīdiem, kuri atkārtojas. To sastāvā ir divi aminocukuri, heksozes – N-acetilglikozamīns (NAG) un N-acetilmurāmskābe (NAM) (Žileviča, 2014). Peptidoglikāna slānis ir nozīmīgs baktērijas struktūras elements, tas ir nepieciešams arī baktēriju replikācijai, kā arī, lai baktērija ir spējīga izdzīvot normālos baktērijas augšanas apstākļos. Tas var traucēt fagocitozi un izsaukt aizsargreakcijas saimnieka organismā, piemēram drudzi (Murray, 2005). Heksozes saista glikozīdu saite, kas ir jutīga pret fermentu – lizocīma iedarbību. Lizocīms ir sastopams dažādos cilvēka intracelulārajos šķidrumos – asinīs, asarās, siekalās un tiek uzskatīts par vienu no svarīgākajiem organisma nespecifiskās aizsardzības faktoriem. Peptidoglikāna polisaharīdu ķēdēs var izvietoties 10 – 65 disaharīdi. NAM pievienota sānu ķēde, kuras sastāvā ir četras aminoskābes un ar kuras palīdzību polisaharīdu ķēdes saistās savā starpā. Tos sauc par peptīdu jeb tetrapeptīdu tiltiņiem/saitēm. Šo tiltiņu struktūra dažādos mikroorganismos ir dažāda, tā pat var mainīties sugas ietvaros. Gram-negatīvajās baktērijās lizīna vietā ir diaminopimelīnskābe (lizīna priekštecis), kas raksturīga tikai un vienīgi baktēriju pasaulē. Dažādu polisaharīdu ķēžu tetrapeptīdi saistās savā starpā vai nu tieši, vai netieši, tādējādi veidodami stabilu struktūru jeb mureīna režģi. Gram-pozitīvās baktērijas šūnu sienas biezums ir no 20 – 80 nm un tā satur 30 – 200 peptidoglikāna kārtu. Peptidoglikāna slāni penetrē teihoskābe, kurš ir skābs polisaharīds. Tam ir savas noteiktas funkcijas – tas piedalās sienas autolīzes procesos un ir spējīgs saistīt magnija jonus, krāsas, u.c. Brīvie teihoskābju gali, kuri iziet šūnas virsmā, var darboties kā receptori. Ja šīs teihoskābes iziet cauri visam mureīna slānim un saistās ar citoplazmatisko membrānu, tad tās sauc par lipoteihoskābēm (Žileviča, 2014). Šīs molekulas parasti ir virsmas antigēni, kuri izšķir baktēriju serotipus un veicina baktēriju piesaistīšanos citām baktērijām, kā arī piesaistīšanos pie specifiskiem receptoriem uz zīdītāju šūnu virsmas. Teihoskābes ir svarīgi virulences faktori. Lipoteihoskābes var izraisīt endotoksīnam līdzīgas atbildes reakcijas (Murray, 2005). Pēc ķīmiskā sastāva Gram-pozitīvās baktērijas sienas sastāv no: mureīna – 60 – 90%, olbaltumvielām – 1%, lipīdiem – 1%, teihoskābes – līdz 40%. Uz Gram-pozitīvo baktēriju šūnu sienu iedarbojas lizocīms un antibiotiskās vielas – β -laktāmi, glikopeptīdi – vankomicīns, bacitracīns, cikloserīns, u.c. (Žileviča, 2014).



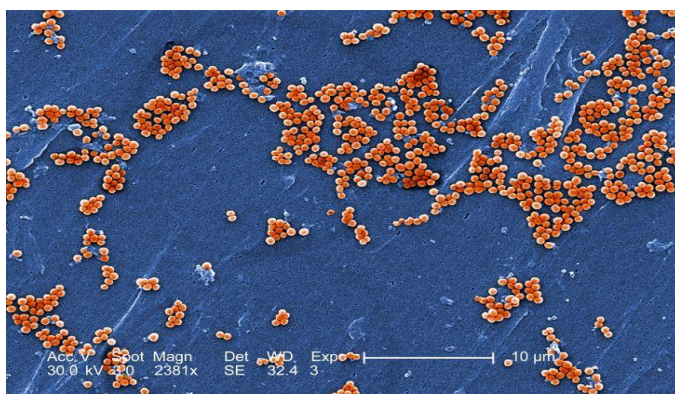
1.3.att. Gram-positīvās baktērijas un Gram-positīvās baktērijas šūnu sienas shematisks attēlojums [tiešsaistes attēls ar korekcijām]. Pieejams - <https://www.intechopen.com/books/physiology-and-pathology-of-immunology/physiology-and-pathology-of-multidrug-resistant-bacteria-antibodies-and-vaccines-based-pathogen-spec>, skatīts – 27.03.2020

Gram-positīvie koki ir heterogēna baktēriju grupa. Pie tiem pieder *Staphylococcus spp.* un tiem līdzīgie mikroorganismi. Šie mikroorganismi ir atbildīgi par ļoti daudzām klīniski nozīmīgām slimībām, piemēram, endokardītu, ādas problēmām, pneimonijām, stafilokoku izraisīta saindēšanās ar ēdienu, katetru infekcijas, toksisko šoka sindromu, impetigo, folikulītu, furunkuliem, karbunkuļiem, arī septisko artrītu. Tāpat pie Gram-positīvajiem kokiem pieder arī *Streptococcus spp.*, kuri var izraisīt skarlatīnu, faringītu, streptokoku toksisko šoku, sepses infekcijas, meningītu, pneimonijas, bakterēmijas, abscesus. u.c. infekcijas (Murray, 2005). Pasaules veselības organizācija vēl joprojām uzsver, ka pneimonija, kuru ir izraisījusi baktērija *Staphylococcus pneumoniae*, ir ļoti izplatīta arī mūsdienās. Tāpat arī citas infekcijas, ko ir izraisījuši streptokoki sagādā ne mazums problēmu mūsdienu medicīnā (Krzyściak, 2013). Katalāzes negatīvie Gram-positīvie organismi, pie kuriem pieder *Enterococcus spp.* un tam līdzīgie Gram-positīvie koki, no kuriem ir plaši zināmi tādi mikroorganismi kā *E. faecium*, *E. faecalis* un citi, kuri ir sastopami un izolējami no cilvēku un dzīvnieku kuņģu – zarnu trakta un fēcēm spēj izraisīt klīniski nozīmīgas slimības kā – endokardītu, bakterēmiju, dažādu brūču infekcijas, urīnceļu infekcijas, peritonītu. Tāpat pie Gram-positīvajiem kokiem pieder *Lactococcus spp.*, *Abiotrophia spp.*, *Granulicatella spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.*, *Aerococcus spp.*, kuri ir oportūniskie patogēni. Kā viena no nozīmīgākajām Gram-positīvajām baktērijām no *Bacillus spp.* ir jāmin baktērija – *Bacillus anthracis*. Plašākai sabiedrībai tā ir zināma kā Sibīrijas mēra izraisītāja. Īsumā tā ir sporu veidojoša Gram-positīva nūjiņa. Pie sporu neveidojošām Gram-positīvajām baktērijām ir pieskaitāma *Listeria spp.* un *Erysipelothrix spp.*

Tāpat pie Gram-pozitīvajām baktērijām ir pieskaitāmi *Corynebacterium spp.*, *Neocardia spp.*, *Clostridium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* un citas (Murray, 2005).

1.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus pieder pie Gram-pozitīvajiem kokiem, kuru izmērs ir no 0,5 – 1,5 μm diametrā, kurš var saturēt vai arī nesaturēt polisaharīdu kapsulu (skatīt 1.4. att.). Tie ir nekustīgi, sporu neformējoši fakultatīvie anaerobi, kuri producē katalāzi un koagulāzes enzīmus (Akanbi, 2017). Šie mikroorganismi parasti ir sfēriskas formas, kuri aug kopās, kuri atgādina vīnogu ķekarus, ja tie tiek aplūkoti gaismas mikroskopā pēc Grama krāsošanas metodes. Nosaukums “*Staphylococcus*” ir atvasināts no grieķu valodas, un tas nozīmē vīnogu ķekars (*staphyle*) un ogas (*kokkos*). Elektronmikroskopā var saskatīt, ka šo baktēriju forma ir sfēriska ar gludu virsmu (skatīt 1.4. att.). Transmisijas elektronmikroskops parāda šūnas biežās sienas, atšķirīgu citoplazmatisko membrānu un amorfu citoplazmu. *S. aureus* veido lielas, dzeltenas kolonijas uzturvielā bagātā agara barotnē (Gnanamani, 2017). *Staphylococcus aureus* savu nosaukumu ir ieguvis dēļ savas zeltainās krāsas. Savukārt citas stafilokoku sugas, iespējams var veidot dzeltenu vai baltu pigmentu (Žileviča, 2014). Vārds “aureus” ir iegūts no latīņu vārda, kurš norāda uz zelta krāsu. Šo krāsu rada pats mikroorganisms, kurš producē karotenoīdus. Gandrīz visi *S. aureus* izolāti producē koagulāzes enzīmu, virulences faktoru, kurš palīdz mikroorganismu identifikācijai. Mikroorganisms ir izturīgs pret sāls šķīdumiem. Tas ir katalāzes pozitīvs un oksidāzes negatīvs (Gnanamani, 2017).



1.4. att. *Staphylococcus aureus* elektronmikroskopā. Tiešsaistes attēls. Pieejams - <https://pixnio.com/science/microscopy-images/staphylococcus-aureus/electron-micrograph-depicted-numerous-clumps-of-methicillin-resistant-staphylococcus-aureus-bacteria>, skatīts – 27.04.2020

Staphylococcus aureus ir viens no galvenajiem cilvēku patogēniem, kurš ir spējīgs izraisīt daudzas klīniski nozīmīgas infekcijas. Tas ir viens no galvenajiem bakterēmijas izraisītājiem, tāpat arī infekcioza endokardīta izraisītājs, ādas un mīksto audu, pleiropulmonāro un invazīvo procedūru infekciju izraisītājs. *S. aureus* ir gan komenciālā baktērija, gan arī cilvēka patogēns. Aptuveni 30% cilvēku populācijas ir kolonizēta ar *S. aureus* (Tong, 2015). Tiek izdalīti trīs veidu patogēnu nēsātāji: patstāvīgie nēsātāji, daļējie pārnēsātāji (spējīgi pārnēsāt patogēnu gadījuma kārtā), un indivīdi, kuri nekad nepārnēsā patogēnu. Patstāvīgie nēsātāji ir tie inficētie

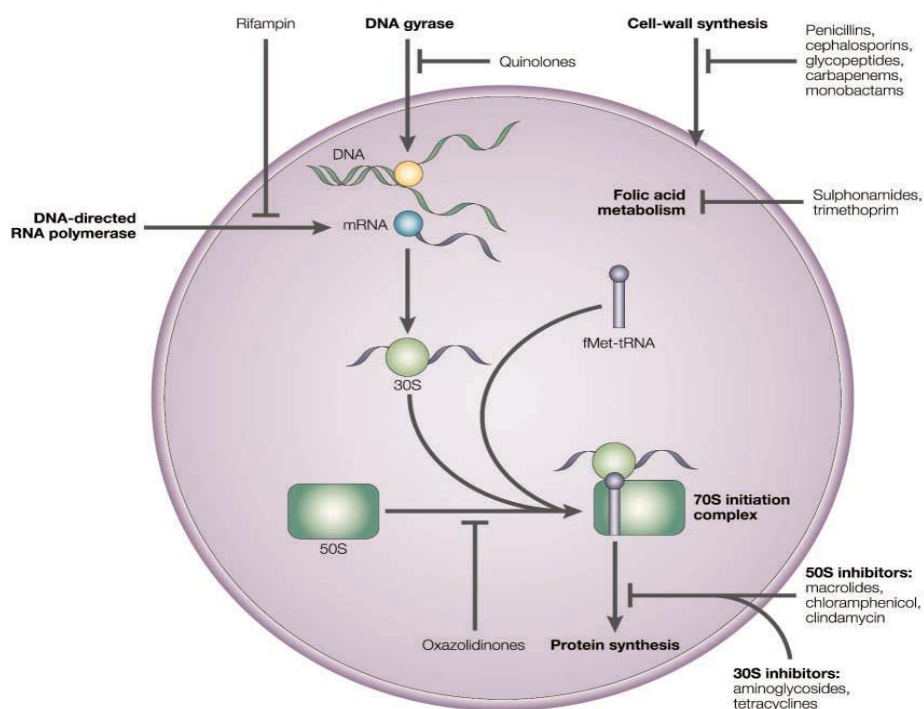
pacienti, kuri vienu un to pašu stafilokoku celmu pārnēsā mēnešiem, pat gadiem ilgi. Ir ziņojumi, kuri norāda uz to, ka 20 – 35 % ir patstāvīgie patogēna nēsātāji, daļējie nēsātāji ir 40 – 70 %, bet patogēna nepārnēsātāji, tādi, kuri nav inficēti sastāda 10 – 40 % no populācijas (Al-Bahry, 2014). Tā kā *S. aureus* ir komensiāla baktērija, var teikt ka tā ir arī oportūniska. Tā ir invazīva brūcēs. Šo brūču infekciju invāzija var novest pie dziļākām un nopietnākām slimībām, kā apdedzinātas ādas sindroma, abscesiem, septicēmijas, pneimonijas, saindēšanās ar ēdienu, toksiskā šoka sindroma (Akanbi, 2017). *S. aureus* sekretē vairākus virulences faktoros un proteīnu izcelsmes ekstracelulāros toksīnus, kuri veicina baktērijas patogenitāti. Tā ir vienīgā suga, kura producē beta hemolizīnu, kurš lizē sarkanās asins šūnas zemās temperatūrās. Patogenitāti nosaka arī baktērijas spēja producēt virulences faktoros. Lielākā daļa no stafilokoku virulences faktoriem ir eksoproteīni, kuri iekļauj vairāku tipu superantigēnus un citolizīnus, tādus kā antibiotiskos rezistences faktoros, kā piemēram β – laktamāzes (Al-Bahry, 2014). *S. aureus* ir potenciāli toksisks cilvēku patogēns, kuru var sasaistīt gan ar nozokomiālajām, gan sabiedrībā iegūtām infekcijām un tā ļoti strauji paliek rezistentu antibiotikām (Akanbi, 2017). Superantigēni aktivizē vairākas imūnās sistēmas šūnas – dendrītiskās šūnas, T limfocītus, antigēnu-prezentējošās šūnas un makrofāgus. Pārāk neapdomīgas un nevajadzīga antibiotiku lietošana tiek uzskatīta par galveno faktoru antibiotiku rezistentu baktēriju veidošanās gadījumā, kuras ietekmē gan cilvēku veselību, gan vidi. Antibiotikas tiek izmantotas, lai ārstētu gan cilvēku, gan dzīvnieku saslimšanas, kā arī tās izmanto profilaktiski dzīvnieku audzēšanai. Ir pētījumi par *S. aureus* antibakteriālo rezistenci pret karbapenēmiem, cefalosporīniem, linoglikozīdiem, makrolīdiem, penicilīniem, streptogramīniem. Rezistentu *S. aureus* celmu, pret penicilīniem, streptomcīnu, eritromcīnu un tetraciklīnu, skaits pēdējās dekādes laikā ir ievērojami pieaudzis (Al-Bahry, 2014).

Meticilīna rezistentais *Staphylococcus aureus* (MRSA) pirmo reizi tika aprakstīts 1961. gadā Anglijā, neilgi pēc tam, kad klīniskajā praksē tika ieviests meticilīns. Sākumā šo antibiotiku ļoti plaši izmantoja, bet tās toksicitātes dēļ mūsdienās to vairs neizmanto cilvēku ārstēšanā un tas tika aizstāts ar līdzīgiem, bet stabilākiem penicilīniem, tādiem kā oksaciklīns. Bet termins – meticilīna rezistentais *Staphylococcus aureus* vēlprojām tiek izmantots (Goncalves, 2019). Mūsdienās MRSA celmu izraisītas infekcijas izraisa lielāku pacientu mirstību nekā MSSA celmi. Tāpat MRSA celmi ir saistāmi ar garāku hospitalizācijas laiku un lielākām veselības aprūpes izmaksām. MRSA celmi producē izmainītu PBP, kurš ir saistīts ar samazinātu saistīšanos ar lielāko daļu pussintētiskajiem penicilīniem. Šie proteīni tiek kodēti ar iegūtu gēnu *mecA*. Šo gēnu pārnēs mobilais ģenētiskais elements (MGE), kurš ir stafilokokālajā kasešu hromasomā *mec* (*SCCmec*). Līdz ar to, MRSA rodas tāpēc, ka MSSA hromasomās tiek ievietoti un pārnesti jeb iegūti šie MGE. Šī antimikrobiālās rezistences iegūšana ir galvenais

izaicinājums medicīnas pasaulē, runājot par stafilokoku radīto infekciju ārstēšanu un kontroli. MRSA ir lielākā problēma slimnīcu infekciju praksē, jo sastāda aptuveni 25 – 50% no visām *S. aureus* infekcijām. Vislielāko izaicinājumu rada fakts, ka MRSA izraisa lielu mirstību un saslimstību, kā arī tas, ka šie celmi ir rezistenti pret pieejamajiem penicilīniem un citiem β – laktāmiem, izņemot ceftoralīnu un ceftobiprolu. Iepriekš uzskatīja, ka šis patogēns ir saistīts tikai ar veselības aprūpi slimnīcās un citās veselības aprūpes iestādēs, bet mūsdienās arvien vairāk un vairāk tiek runāts arī par sabiedrībā iegūtām infekcijām, kuras izraisa MRSA. Tātad šobrīd tas vairs nav uzskatāms tikai par nozokomiālo patogēnu, līdz ar to MRSA epidemioloģija globāli ir mainījusies (Lakhundi, 2018).

1.3. Biežāk lietoto antibakteriālo vielu klases

Galvenokārt ir zināmi pieci antibakteriālo zāļu vielu mērķi baktēriju šūnās (skatīt 1.5.att.)– šūnu sienas sintēze, DNS girāze, metaboliskie enzīmi, RNS polimerāze un proteīnu sintēze. Proteīnu sintēzes ceļu ietekmē aminoglikozīdi, tetraciklīni, makrolīdi, hloramfenikoli, klindamicīns. Folskābes metabolismu ietekmē sulfonamīdi, trimetoprims. DNS girāzi ietekmē – hinoloni un β -laktāmi (penicilīni, cefalosporīni, glikopeptīdi, karbapenēmi, monobaktāmi) ietekmē šūnas sienas sintēzes mehānismu (Coates, 2002).



1.5.Att. Antibakteriālo zāļu mērķi baktēriju šūnās. Tiešsaistes attēls. Pieejams - <https://www.researchgate.net/publication/11050644> Coates A Hu Y Bax R Page C The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs Nature Rev Drug Discov 1 895-910, skatīts – 16.03.2020

1.4. β -laktāmi

β -laktāmi ir viena no vislielākajām antibiotiku grupām, kā arī vien no visvairāk izmantotajiem antibakteriālo līdzekļu pārstāvjiem visā pasaulē. (Llarrull,2010). Šīs grupas pārstāvju molekulārajā struktūrā ir β -laktāma gredzens. Izmanto medikamentos, lai ārstētu dažādu baktēriju izraisītas infekcijas (Sanz, 2019). β -laktāmi ir baktericīdas antibiotikas, kuras bloķē ekstracelulāro enzīmu aktivitāti, tādu kā, penicilīnu saistošos proteīnus (PBPs), tādējādi inhibējot šūnas sienas sintēzi (Léger, 2019). PBP baktērijām ir nepieciešams transpeptidāzes pēdējā stadijā peptidoglikāna slāņa biosintēzē. Peptidoglikāna slānis piešķir prokariotu šūnu sienai stabilitāti. Samazināts pentaglicīnu ķēžu daudzums proteīnos, PBP inaktivitātes dēļ, sarauj šūnu sienas un izsauc baktēriju bojāeju (Sanz, 2019). Pie β -laktāmiem pieder tādi

antibakteriālie līdzekļi kā – penicilīni, cefalosporīni, karbapenēmi, karbacefēmi, monobaktāmi, kā arī β -laktamāzes inhibitori (Žilēviča, 2014).

1.4.1. β -laktāmu antibiotiku darbības mehānisms

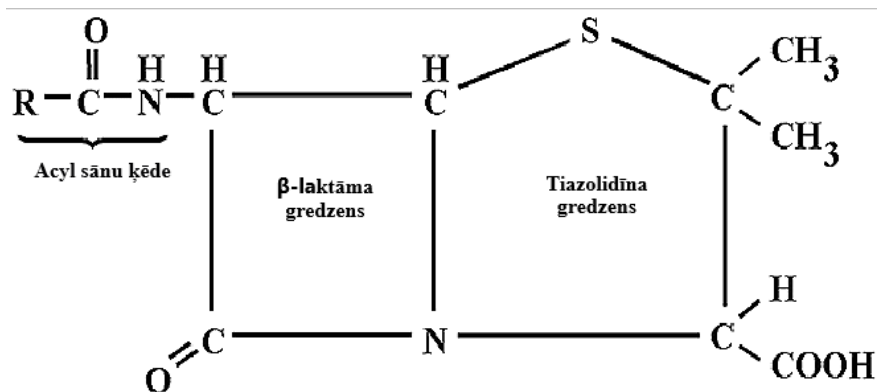
β -laktāmu antibiotikas darbojas uz baktēriju šūnu sienas sintēzi, precīzāk, darbojas uz baktērijas šūnas sienas peptidoglikāna slāni (skatīt 1.5.att.). β -laktāmi saistās pie baktēriju PBP (baktērijām tie var būt sākot no septiņiem un vairāk) tādā veidā inhibējot transpeptidāzes enzīmu, kurš baktērijās ir atbildīgs par peptīdu ķēžu krustenisko saistīšanos pie peptidoglikāna gala. Dažiem mikroorganismiem, tolerantiem organismiem, ir defektīvi autolītiskie enzīmi, kuri nenoved pie baktēriju līzes jeb nāves, kā atbildes reakcijas uz zāļu vielu. Tāpēc pēdējais process, lai panāktu baktericīdu efektu ir šo autolītisko enzīmu inaktivācija baktēriju šūnu sienās (Ritter, 2020). Gadu gaitā ir ļoti daudz pētījumi par β -laktāmu efektivitāti uz baktērijām, bet praktiski nav pētījumu uz protozojiem un to rezistenci uz β -laktāmu antibiotikām (Chen, 2020).

1.4.2. Penicilīni

Pirmie penicilīni tika atklāti 1928. gada vasaras beigū, rudens sākuma periodā. Skotu bakteriologs Aleksandrs Flemings pētīja sakarību starp *Staphylococcus* koloniju morfoloģiju un to virulenci. Pirms došanās atvaļinājumā Flemings kultivēja *Staphylococcus* kolonijas uz platēm, un atstāja tās savā laboratorijā. Atgriežoties Flemings atklāja, ka daudzas no atstātajām platēm ir kontaminētas ar pelējumu (Kong, 2010). Nākošajā dienā Flemings aprakstīja savu eksperimentu kolēģiem un saprata, ka šīs plātes ir jāizpēta. Reeksaminējot šīs *Staphylococcus* plātes Flemings atklāja, ka šīs kolonijas ir pakļautas baktēriju līzei, ko viņš iepriekšējos pētījums bija novērojis ar lizozīmu. Tieši tobrīd Flemings saprata, ka pelējumam plātēs, kuras tika kontaminētas, piemīt mikrobioloģisks antagonisms (Kong, 2010).

1.4.3. Penicilīnu iedalījums un aktivitāte

Penicilīnu klases pārstāvjiem kopīgais ir beta laktāmu struktūra formulā, kā arī pārstāvjiem piemīt tā pati antibakteriālā aktivitāte kā benzilpenicilīnam (Penicilīnam G) – oriģinālajai molekulai, kas tika iegūta no *Penicillium notatum* (Lobanovska, 2020). Penicilīnu galvenais kodols ir 6-amino-penicilīnskābe jeb 6-APA, ko pirmais izolēja un atklāja Kato 1959.gadā, līdz ar to šis atklājums sekmēja jaunu penicilīnu klašu atklāšanu (Kardos, 2011). Tātad penicilīnu struktūras pamatā ir tiazolidīna gredzens, β -laktāma gredzens un sānu ķēde (skatīt 1.6.att.). β -laktāma gredzens ir būtisks penicilīnu antibakteriālās aktivitātes uzrādīšanai. Sānu ķēdes nosaka galvenokārt antibakteriālo spektru un farmakoloģiskās īpašības katram penicilīnu grupas pārstāvim (Bennett, 2020).



1.6.att. **Penicilīnu antibiotiku pamata struktūra.** R-pozīcijā tiek pievienota sānu ķēde, kas nosaka antibakteriālās aktivitātes spektru. Tiešsaistes attēls ar korekcijām. Pieejams - https://www.researchgate.net/figure/General-structure-of-penicillins-However-another-beta-lactam-antibiotic-Cephalosporin_fig1_324872638, skatīts – 25.03.2020

Penicilīnu klasifikācija ir atkarīga no ķīmiskās sānu ķēdes, kura tiek pievienota beta laktāma gredzenam. No tās arī atkarīga ir antibakteriāla aktivitāte. Kā piemēru var minēt benzilpenicilīnu. Tas ir uzrādījis lielu aktivitāti pret Gram-pozitīvajām baktērijām – kokiem, tādiem kā stafilokokiem, pneimokokiem, un streptokokiem. Kā arī bacilli, kā piemēram, *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens* un *Corynebacterium diphtheriae*, bet mazāk efektīvs pret Gram-negatīvajām baktērijām. Plašās dabīgo jeb naturālo penicilīnu izmantošanas dēļ, pavisam drīz zinātniekiem bija jāveic penicilīnu darbības spektra palielināšana. Jo rezistences dēļ arī Gram-pozitīvajām baktērijām sāka parādīties penicilināzes producējušie celmi. Tas noveda pie pussintētisko penicilīnu sintēzes. Vēl šos penicilīnus var saukt par beta-laktamāžu rezistentajiem penicilīniem jeb otrās paaudzes penicilīniem, pie tiem pieder - oksacilīns, meticilīns un dikloksacilīns (Lobanovska, 2017). Šīs klases penicilīni ir indicēti ārstēšanai tādām infekcijām, kuras izraisa meticilīna jutīgie stafilokoku celmi, dažādus streptokoku celmus, *S. pyogenes* un citi hemolītiskie streptokoki, penicilīnu jutīgajiem *S. Pneumoniae* celmiem, anaerobajām Gram-pozitīvajiem kokiem un anaerobajiem Gram-pozitīvajiem bacilli baktērijām, bet penicilīns tiek uzskatīts kā aktīvāks pret šiem mikroorganismiem. Bet šīs klases aktīvās vielas ir inaktīvas pret *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus spp.*, un meticilīna rezistentajiem stafilokoku celmiem (Bennett, 2020). 20 gadsimta 60. gados tika atklāta trešā penicilīnu paaudze – aminopenicilīni. Pie šīs paaudzes pieder amoksicilīns un ampicilīns. Šī paaudze jau uzrādīja efektivitāti pret lielāku skaitu Gram-negatīvajām baktērijām (ieskaitot *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* un *Shigella spp.*), pateicoties lielākai stabilitātei pret penicilināzēm (Lobanovska, 2017). Amoksicilīns ir uzskatāms par vienu no biežāk lietotajiem penicilīniem mūsdienās, iemesls ir plašā antibakteriālā aktivitāte (Ahmed, 2017). Aminopenicilīni ir indicēti augšējo elpceļu

infekcijas gadījumos un arī apakšējo elpceļu infekciju gadījumos. Ampicilīnu izmanto arī bakteriālā gastroenterīta gadījumā. Tāpat šo klasi izmanto, lai ārstētu infekcijas, ko izraisa beta laktamāžu neproducējoši mikroorganismi, piemēram, bakteriālo endokardītu, meningītu un urīnceļu infekcijas. Amoksicilīnam ir augsta biopieejamība, tāpēc tam tiek dota priekšroka daudzos gadījumos. Amoksicilīns tiek rekomendēts lietošanai arī pie *Helicobacter pylori* infekcijām (Bennett, 2020). Pēdējā penicilīnu paaudze, iekļaujot karboksipenicilīnus un ureidopenicilīnus, kas tiek uzskatīti par plašāka spektra penicilīniem, kuri ir efektīvi arī pret Gram-negatīvajām baktērijām un uzrādīja potenciālu aktivitāti pret *Pseudomonas aeruginosa* (Lobanovska, 2017). Šīs penicilīnu grupas mēdz izdalīt arī atsevišķi. Antipseidomonālie penicilīni ir indicēti pret infekcijām ko izraisījuši Gram-negatīvie bacilli, it īpaši – *Pseudomonas aeruginosa*. Ureidopenicilīni, galvenokārt piperacilīns, ir aktīvs pret daudziem celmiem no *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia marscens* un *Providencia spp.* Piperacilīns bieži tiek lietots kombinācijā ar tazobaktāmu, jo starp mikroorganismiem pastāv arī beta laktamāžu producējoši celmi (Bennett, 2020).

1.4.4. β -laktamāzes

Kā vienu no svarīgākajiem rezistences mehānismiem β -laktāmu antibiotiku darbībā tiek uzskatīts baktēriju spēja producēt specifiskus enzīmus (β -laktamāzes). Šie enzīmi ir spējīgi saistīties ar β -laktāma antibiotikām pie cikliskajām amīdu saitēm β -laktāmu gredzenā un hidrolizēt tās (skatīt *1.6.att.*). Tiklīdz β -laktāma gredzens ir atvērtā formā, antibiotikas nav spējīgas saistīties pie mērķa šūnām baktēriju šūnu sienās, līdz ar to šīs antibiotikas zaudē savu antimikrobiālo aktivitāti (Denis, 2010). β -laktamāzes ir enzīmi, kurus producē rezistentās baktērijas. Tās tiek iedalītas divās grupās. Pirmā grupa ir serīna β -laktamāzes, kurām serīna nukleofilā daļa kovalenti saistās ar hidrolizēto β -laktāmu, šī grupa tiek iedalīta Amblera apakškategorijs – A, C un D klasēs, kuras var inhibēt gan klavulānskābe, gan sulbaktāms, gan tazobaktāms. Otrā grupa ir Metallo β -laktamāzes, kura ir Amblera B klase un tām ir aktīvi saiti ar vienu vai diviem cinka joniem, kuri nukleofili ietekmē β -laktāmus ar polarizētu ūdens molekulu. Metallo β -laktamāzes tiek iedalītas trijās apakšgrupās – B₁, B₂ un B₃, tas atkarīgs no saišu skaita ar cinka joniem un sekvenču identitātes. Izņemot monobaktāmus, metallo β -laktamāzes ir aktīvas pret visām β -laktāmu antibiotikām un pagaidām nav vēl apstiprināti B klases metallo β -laktamāžu inhibitori (Breijeh, 2020).

1.4.5. β -laktamāzes inhibitori

Kā pirmais β -laktamāzes inhibitors klīniskajā praksē tika izmantota klavulānskābe, kura tika izolēta no *Streptomyces clavuligerus* 1970-ajos gados, vairāk nekā 30 gadus atpakaļ. Klavulānskābe (tās sāls forma) uzrādīja nenozīmīgi antimikrobiālu aktivitāti individuāli, bet kombinējot to kopā ar amoksicilīnu, klavulanāts ievērojami palielināja antimikrobiālo aktivitāti pret *S.aureus*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis* un *E. coli*. Sulbaktāms un tazobaktāms farmaceitiskajā industrijā tika atklāti nedaudz vēlāk, 1978. un 1980. gadā (Drawz, 2010). Iemesls kāpēc β -laktamāžu inhibitoru atklāšana bija ļoti sekmīga ir tas, ka gram-negatīvās baktērijas producēja β -laktamāzes, kuras hidrolizē β -laktāmu antibiotikas (Papp-Wallace, 2016). β -laktamāzes inhibitori tiek iedalīti divās lielās grupās - β -laktāmu saturošie (klavulānskābe, sulbaktāms un tazobaktāms) un β -laktāmu nesaturošie (avibaktāms un vaborbaktāms). Šīs aktīvās vielas tiek izmantotas, lai pastiprinātu β -laktāmu antibiotiku grupas pārstāvju aktivitāti (Bennett, 2020). Mehānisms β -laktamāžu inhibitoru un β -laktāmu kombinācijai ir salīdzinoši vienkāršs. β -laktamāžu inhibitori darbojas uz β -laktamāzēm baktērijas šūnās inaktivējot to. Līdz ar to β -laktāmu antibiotikas var inaktivēt penicilīnu saistošo proteīnu mērķi, kas tad arī noved pie baktēriju iznīcināšanas (Papp-Wallace, 2016). Avibaktāms un vaborbaktāms no pārējiem grupas pārstāvjiem atšķiras galvenokārt ar to, ka šie ir atgriezeniski inhibitori ar unikālu struktūru (Bennett, 2020).

Klavulānskābe nereti tiek izmantots kombinācijā ar amoksicilīnu (Bennett, 2020). Jāpiemin arī tas, ka klavulānskābe klīniski ir neefektīva pret B, C un D klases β -laktamāzēm (Breijyeh, 2020). Tā darbojas sinerģiski ar penicilīniem un cefalosporīniem pret β -laktamāžu producējošiem mikroorganismiem, šī kombinācija ļauj β -laktāmu antibiotikām iznīcināt baktērijas. Tāpat arī klavulānskābe tiek kombinēta ar tikarcilīnu, lai ārstētu nozokomiālās infekcijas, ieskaitot *Pseudomonas aeruginosa* izraisītas infekcijas. Kombinācijā ar amoksicilīnu izmanto terapeitiski, it īpaši pediatrikajai populācijai (Bush, 2016).

Sulbaktāms un tazobaktāms ir penicilīnam līdzīgie sulfoni, kuriem piemīt līdzīga β -laktamāžu inhibīcija kāda tā ir klavulānskābei. Bet šie pārstāvji ir spējīgi atvērt gredzenu pēc serīna katalīzes kā rezultātā veidojas sulfonātu grupa. Palielinātas aktīvā saita elektrostatiskās mijiedarbības un jaunu stabilu funkcionālo grupu veidošanās pieclocekļu gredzenā veicina klavulānskābes, sulbaktāma un tazobaktāma spēju neatgriezeniski inhibēt A klases β -laktamāzes. Šobrīd klīniskajā praksē visvairāk tiek izmantoti tieši šie trīs pārstāvji – klavulānskābe, sulbaktāms un tazobaktāms. Pieejamās kombinācijas β -laktāmiem ar β -laktamāžu inhibitoriem: amoksicilīn-klavulanāts, tikarcilīns-klavulanāts, ampicilīns-sulbaktāms, piperacilīns-tazobaktāms un cefāperazons-sulbaktāms. Pēdējais savienojums ir pieejams tikai dažās Eiropas valstīs, Japānā un Indijā (Breijyeh, 2020).

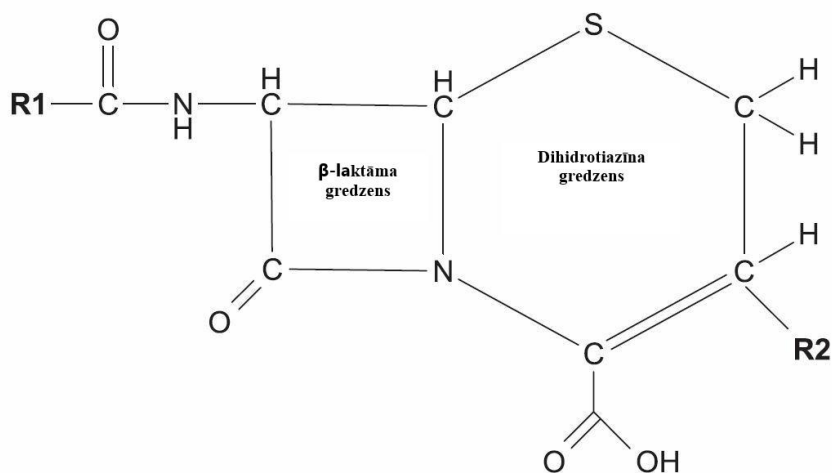
Avibaktāms ir pussintētiska zāļu viela, ko 2014. gada ir apstiprinājusi Amerikas pārtikas un zāļu pārvalde (FDA) kombināciju terapijai ar cefazidīmu, lai ārstētu komplikētu vēdera dobuma un urīnceļu infekcijas. Tam piemīt teicama inhibitorā aktivitāte pret Ambera β-laktamāžu A un C klases, kā arī pret dažām D klases β-laktamāžēm, bet ne pret *A. baumannii* karbapenēmu rezistences veidojošajiem enzīmiem. Vēl divas kombinācijas šobrīd ir klīnisko pētījumu stadijā. Tās ir avibaktāms un aztreonāms, lai ārstētu komplikētu vēdera dobuma infekcijas, un arī avibaktāma kombinācija ar ceftarolīna fosamilu, lai ārstētu multi-rezistentās bakteriālās infekcijas (Breijeh, 2020).

1.4.6. Cefalosporīni

Cefalosporīni ir pieskaitāmi pie pussintētisko β-laktāmu antibiotiku klases, kuras tiek plaši lietotas gan veterinārajā medicīnā, gan ārstēšanai cilvēku populācijā. Pasaulē veselības organizācija klasificēja hinolonu, makrolīdu, glikopeptīdu un cefalosporīnu antibakteriālos līdzekļus kā kritiski svarīgus un nepieciešamus cilvēku medicīnā. Pirmo reizi cefalosporīnu struktūra tika izolēta 1945. gadā no *Cephalosporium acremonium* sēnes. Tāpat kā citi β-laktāmu antibiotikas, cefalosporīni inhibē baktēriju šūnu sienu sintēzi saistoties ar penicilīna saistošajiem proteīniem (PBP) mikrobiālajā membrānā, kas noved pie baktēriju šūnu līzes un nāves. Šīs antibiotikas ir mazāk alergiskas un mazāk β-laktamāžu uzņēmīgas nekā penicilīni. Cefalosporīni ir plaša spektra antibiotikas un tiek lietotas gan Gram-negatīvajām, gan Gram-pozitīvajām antibiotikām, efektīvi traucējot mikrobiālo augšanu (Ribeiro, 2018). Mūsdienās cefalosporīni vairāk tiek ieteikti lietot gan profilaktiski, gan bakteriālu infekciju ārstēšanai. To efektivitāte pieaug mainoties paaudzēm, piemēram, pirmās paaudzes cefalosporīni ir efektīvi pret Gram-pozitīvajām baktērijās, bet jaunākām paaudzēm aktivitāte pieaug, un tās ir efektīvākas pret Gram-negatīvajām baktērijām (Gaurav, 2012).

1.4.7. Cefalosporīnu struktūra un iedalījums

Pēc ķīmiskās struktūras cefalosporīni ir iegūti modificējot 7-aminocefalosporiskābi un tie ir gan strukturāli, gan funkcionāli līdzīgi penicilīniem, jo tie arī satur β-laktāmu gredzenu. Struktūras pamatā ir oglekļa atomu sešlocekļu gredzens, kuram ar sēra atomu pievienots β-laktāmu gredzens (skatīt *1.7.att.*)(Shahbaz, 2017).



1.7.att. Cefalosporīnu antibiotiku pamata struktūra. Struktūras centrā ir β-laktāma gredzens un dihidrotiazīna gredzens, R₁ pozīcijā tiek piesaistīta funkcionālā grupa, kura atbild par β-laktamāzi un ietekmē antibakteriālo aktivitāti, R₂ pozīcijā tiek piesaistīta funkcionālā grupa, kura ietekmē ķīmisko un metabolisko aktivitāti. Tiešsaistes attēls ar korekcijām. Pieejams - <https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/cephalosporin-allergy-label-is-misleading>, skatīts – 12.03.2020

Cefalosporīns C, kurš ir pamata aktīvā viela cefalosporīna klasei un pēc struktūras ir ļoti līdzīgs penicilīnu antibiotikām. Gan penicilīnam, gan cefalosporīnam-C ir gan β-laktāma gredzens, bet cefalosporīna gadījumā ir sešlocekļu dihidrotiazīna gredzens. Cefalosporīnu kodolā atrodas 7-aminocefalosporīnskābe (7-ACA), kas ir atvasināta no cefalosporīna – C. Modifikācijas pie 7-ACA sānu ķēdes noveda pie jaunu noderīgu antibiotiku paaudžu atklāšanas, kas tad arī bija galvenais iemesls cefalosporīnu paaudžu atklāšanai. Jaunu cefalosporīnu paaudžu sintēze ir iespējama tikai divos veidos – mikrobiālai ceļš vai enzimatiski pārvērsts cefalosporīnu – C (Gaurav, 2012).

Zemākās paaudzes cefalosporīni ir galvenokārt aktīvi pret gram-pozitīvajām baktērijām, bet jaunākās paaudzes ir aktīvākas arī pret Gram-negatīvajām baktērijām.

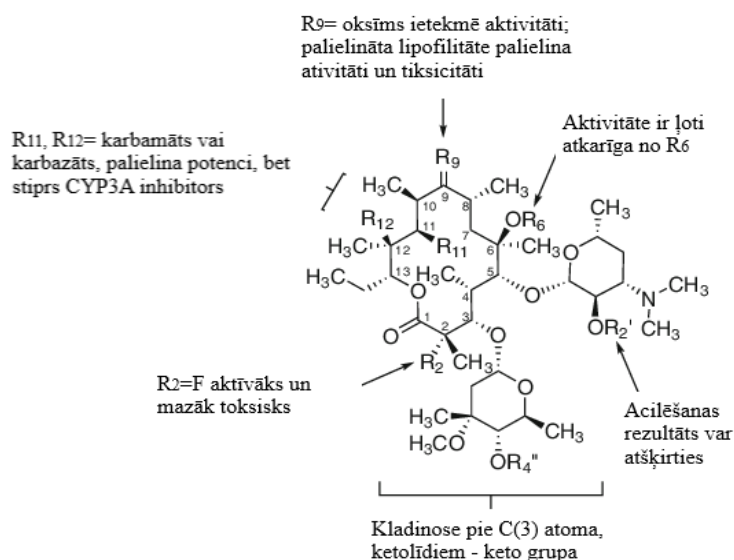
Pirmās paaudzes cefalosporīniem – cefazolinam, cefadroksilam, cefapirīnam, cefaleksīnam - ir samērā šaurs aktivitātes spektrs, šī paaudzes pārstāvji ir efektīvi pārsvarā tikai pret gram-pozitīvajiem kokiem, piemēram, *Streptococci*, *Staphylococci*, *Enterococci*. Otrās paaudzes cefalosporīniem – cefuroksīmam, cefoksitīnam, cefmetazolam, cefprozilam, cefoksitīnam - ir jau plašāks aktivitātes spektrs, šīs paaudzes pārstāvji jau ir efektīvi pret dažiem Gram-negatīvajiem mikroorganismiem, izņemot anaerobos organismus. Tie ir efektīvāki pret *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Neisseria gonorrhoeae*. Trešās paaudzes cefalosporīni ir efektīvi pret lielāko daļu no Gram-negatīvajām baktērijām, bet šie pārstāvji ir arī vainojami pie Gram-negatīvo bacillus

pārstāvju rezistences veidošanās. Ceftriaksonam, cefotaksīmam, ceftizoksīmam, atšķirībā no pirmās un otrās paaudzes pārstāvjiem, piemīt lielāka aktivitāte pret Gram-pozitīvajām baktērijām, tie ir efektīvi arī pret meticilīna rezistentajiem celmiem. Ceftazidīms un ceforperazons ir tie trešās cefalosporīnu paaudzes pārstāvji kurus dēvē arī par antipseidomonu cefalosporīniem, jo tie ir efektīvi pret *Pseudomonas aeruginosa*. Ceturtās paaudzes pārstāvjiem piemīt visplašākais aktivitātes spektrs, pret Gram-pozitīvajām baktērijām šīs paaudzes pārstāvji izrāda līdzīgu aktivitāti kā pirmās paaudzes cefalosporīni, bet piemīt lielāka rezistence pret β – laktamāzēm nekā trešās paaudzes pārstāvjiem. Cefepīms un cefpiroms ir aktīvi pret daudziem rezistentajiem mikroorganismu celmiem, kuru izraisītās infekcijas ir ļoti grūti kontrolēt un ārstēt. Piektās cefalosporīnu paaudzes pārstāvim ceftarolīnam piemīt unikāla aktivitāte pret multizāļu rezistentajiem *Staphylococcus aureus* celmiem (Mehta, 2016).

1.5. Makrolīdi

Termins – *makrolīdi*, tiek izmantots, lai aprakstītu medikamentus ar makrociklisku laktona gredzenu ar vismaz 12 vai vairāk elementiem. Šī klase sevī ietver dažādus bioaktīvos savienojumus, ieskaitot antibiotikas, pretsēnīšu medikamentus un imunosupresantus. 14-locekļu, 15-locekļu un 16-locekļu makrolīdi ir mūsdienās jau plaši lietotas antibiotikas. Tie teicami penetrē audos un tiem piemīt spēcīga antimikrobiālā aktivitāte, galvenokārt pret Gram-pozitīvajiem kokiem un atipiskiem patogēniem. Pirms vairāk kā 50 gadiem tika izolēta pirmā 14-locekļu makrolīdu antibiotika – eritromicīns A. Tas tika izolēts no *Streptomyces* baktēriju kultūrām (Kanoh, 2010). Ir arī dažas 16 – locekļu makrolīdi, kuri arī ir dabīgi iegūti no *Streptomyces ambofaciens* (spiramicīns), *Streptomyces narbonensis* var. *Josamyceticus* (josamicīns), *Streptomyces fradiae* (tilosīns) un *Streptomyces mycarofaciens* (midecamicīns). Šīs aktīvās vielas plašāk izmanto Eiropā (Wierzbowski, 2006). Atkarībā no eliminācijas puslaika plazmā makrolīdu antibiotikas var iedalīt trīs grupās: īsas darbības – eritromicīns, spiramicīns, miocamicīns, rokitamicīns; vidējas darbības makrolīdi – roksitromicīns, josamicīns, klaritromicīns, telitromicīns; garas darbības makrolīdi – azitromicīns (Holstiege, 2015).

Šobrīd aktīvi tiek radītas jaunas makrolīdu grupas antibiotikas, kuras tiek sauktas par ketolīdiem. Tie arī ir pussintētiskie atvasinājumi no eritromicīna A (Roberts, 2004). Ketolīdiem pie kladinozes (cladinose) funkcionālās grupas C₃ pozīcijā ir aizvietota ar keto grupu (skatīt 1.8.att.). Ketolīdiem ir lielāka afinitāte saistīties ar ribosomām nekā makrolīdiem un tie potenciāli inhibē proteīnu sintēzi darbojoties uz baktērijas peptidiltransferāzes saiti 50S ribosomālajā subvienībā (Kanoh, 2010). Pie ketolīdiem ir pieskaitāmas trīs aktīvās vielas - telitromicīns, cetromicīns un solitromicīns. Bet šobrīd pasaulē komerciāli tirgū pieejams ir tikai viens ketolīds – telitromicīns. Otrs ketolīds – ceritromicīnu Amerikas Savienotās Valstis neapstiprināja lietošanai 2009. gadā. Tomēr šobrīd tiek klīniski pārbaudīts solitromicīns III fāzes klīniskajos pētījumos, un šī brīža rezultāti uzrāda, ka solitromicīns varētu būt viens no daudzsološākajiem ketolīdu pārstāvjiem (Dinos, 2017).



1.8.att. Makrolīdu antibiotiku pamata struktūra. Attēlota makrolīdu antibiotiku pamata struktūra ar atzīmētām vietām, kur pievienotas funkcionālās grupas, kā arī aprakstīta funkcionālo grupu nozīme. Tiešsaistes attēls ar korekcijām. Pieejams - https://www.researchgate.net/publication/225985911_The_Medicinal_Chemistry_of_Tuberculosis_Chemotherapy, skatīts – 26.03.2020

1.5.1. Makrolīdu darbības mehānisms

Makrolīdu antibakteriālās darbības pamatā ir baktēriju proteīnu sintēzes inhibēšana. Zāļu aktīvās vielas saistās ar to pašu 50S ribosomālo subvienību kā hloramfenikoli un linkozamīdi (skatīt 1.5.att.). Tāpēc lietojot tos kopā var veidoties konkurēšana uz šīs subvienības inaktivēšanu (Ritter, 2020). Neatkarīgi no tā vai tā ir makrolīdu pirmā, otrā vai trešā paaudze, visas makrolīdu grupas antibiotikas saistās ar ribosomālām subvienībām, piesaistoties pie topošā peptīda izejas tuneļa (NPET), kuri atrodas blakus peptidiltransferāzes centram (PTC) (Dinos, 2017). Makrolīdi traucē baktēriju augšanu inhibējot proteīnu sintēzi. Makrolīdu antibiotikas ir efektīvas pret dažādiem mikroorganismiem. Atkarībā no koncentrācijas makrolīdi var būt gan bakteriostātiski, apturot baktēriju augšanu vai baktericīdi, pilnībā nogalinot baktērijas (Fohner, 2017).

1.5.2. Makrolīdu aktivitāte

Pirmā makrolīdu antibiotika – eritromicīns ar samērā plaša spektra aktivitāti pret mikroorganismiem. To arī ir iespējams lietot orāli un tas ir relatīvi drošs lietošanai pacientiem, kā arī tas ir izmantojams kā laba alternatīva penicilīnu antibiotikām. Eritromicīnam piemīt laba aktivitāte pret dažādiem Gram-pozitīvajiem kokiem, *Neisseria*, *Bordatella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia* un viēšūnu parazītiem *Entamoeba histolytica*. Makrolīdiem arī ir zināma darbība uz imūno sistēmu un piemīt pretiekaisuma aktivitāte. Tie var vienlīdzīgi

ietekmēt gan citokīnus, gan pirmsiekaisuma mediatorus. 1980-jos gados tika atklāti pussintētiskie eritromicīna atvasinājumi – roksitromicīns, klaritromicīns, azitromicīns, diritromicīns. Šiem grupas pārstāvjiem piemīt plašāka spektra antibakteriāla aktivitāte nekā eritromicīnam. Tie ir izmantojami pret Gram-negatīvajām *Moraxella catarrhalis*, *Mycobacterium avium-intracellulare* un citām ātri augošajām *Mycobacterium*, *Borrelia burgdorferi* un parazītiem *Plasmodium spp.*, *Taxoplasma gondii*, un *Babesia microti*. Pussintētiskie atvasinājumi ir stabilāki, labāk uzsūcas, kā arī tiem piemīt labāka intracelulārā darbība un audu penetrācija. Tos jālieto mazākās devās, ja salīdzina ar eritromicīnu. Gan klaritromicīnam, gan azitromicīnam ir līdzīga antibakteriālā aktivitāte un tie tiek ļoti plaši lietoti cilvēku medicīnā, lai ārstētu dažādas infekcijas slimības. Piemēram, sabiedrībā iegūta pneimonijs, *Chlamydia* infekcijas un *Mycobacterium avium-intracellulare* slimībām (Roberts, 2004). Jaunākajiem makrolīdiem – ketolīdiem – telitromicīnam, cetromicīnam un solitromicīnam ir izteikti augsta aktivitāte pret Gram-pozitīvajiem aerobajiem patogēniem, ieskaitot arī makrolīdu rezistentos celmus no *Streptococcus pneumoniae*. Tāpat tie uzrāda lielu aktivitāti pret Gram-negatīvajiem aerobiem, tādiem kā, *Moraxella catarrhalis* un *H. Influenzae*, un atipiskajiem/intracelulārajiem sadzīves pneimonijs patogēniem, tādiem kā *C. pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* un *Legionella pneumophila* (Dinos, 2017).

Klaritromicīns ir 14-locekļu pussintētisks eritromicīna atvasinājums. Tas ir atvasināts metilējot eritromicīnu A pie C₆ hidroksilgrupas (6-O-metileritromicīns). Šīs struktūras modifikācijas ir iemesls, kāpēc klaritromicīnam ir mazāk izteiktas gastrointestinālās blaknes, jo tas ir izturīgāks pret skābi. Klaritromicīnam ir arī augstāka antibakteriālā aktivitāte pret *H. influenzae*. Azitromicīns ir pussintētisks 15 – locekļu atvasinājums, tam metilgrupa ir aizvietota ar slāpekli C₉ pozīcijā. Otra slāpekļa atoma pievienošana veido azalīda stuktūru, kura ir stabila arī kuņģa zemajā pH un arī tam ir palielināta aktivitāte pret *H. influenzae*, citām Gram-negatīvajām baktērijām un atipiskajiem patogēniem. Šīs aktivitātes dēļ azitromicīnu izmanto respiratorā trakta infekcijas gadījumos (Wierzbowski, 2006). Uzmanību akcentē tas, ka makrolīdi ir spēcīgi CYP3A4 inhibitori (Marriner, 2011).

1.6. Tetraciklīni

Pirmo reizi tetraciklīni tika izolēti 20. gadsimta 40.gados kā fermentācijas produkts no neparastām zeltainas krāsas baktērijām *Streptomyces aureofaciens* (Fuoco, 2012). Bet tāpēc, ka šīs antibakteriālo līdzekļu grupas pārstāvjiem piemīt nozīmīgas blakusparādības, to izmantošana terapeitiskos nolūkos tika aizsaktā tikai 20. gs. 50. gados. Tomēr pastāvēja arī daži ierobežojumi, tās nenozīmēja bērniem un grūtniecēm. Tieši šajā pašā laikā tika atklāts, ka tetraciklīni labvēlīgi darbojas uz augšanu, tie stimulē masas pieaugumu dzīvniekiem, tāpēc tie tika plaši lietoti lauksaimniecībā. Mūsdienās šo antibiotiku popularitāte samazinās. Tetraciklīni ir plaša spektra līdzekļi (Roberts, 2003). Šī ir antibiotiku klase, kura ir spējīga inhibēt proteīnu sintēzi Gram-pozitīvajās un Gram-negatīvajās baktērijās (Fuoco, 2012). Tiek izmantots arī pret intracelulārām *chlamydiae*, *mycoplasmas* un *rickettsiae*. Šobrīd tetraciklīni tiek izmantoti arī pret eikariotiskajiem protozoju parazītiem, arī neinfekciozo slimību ārstēšanai un arī ilgstošai terapijai, līdz pat 1 gadam garai terapijai (Roberts, 2003). Tetraciklīni saistās specifiski pie bakteriālajām ribosomām, bet nespecifiski pie eikariotiskām ribosomām (Fuoco, 2012). Šīs antibiotikas ir bakteriostātiskas (Ritter, 2020).

Neilgi pēc tetraciklīnu lietošanas uzsākšanas tika atklāti arī pirmie tetraciklīnu rezistentie bakteriālie patogēni. Kopš tā brīža arvien vairāk rezistentie patogēni tika atklāti, tas limitē tetraciklīnu efektivitāti bakteriālo slimību ārstēšanā. Pirmā tetraciklīnu rezistentā baktērija bija *Shigella dysenteriae*. Tā tika atklāta 1953. gadā, bet 1955. gadā tika izolēta pirmā multi zāļu rezistentā *Shigella*. Šis patogēns uzrādīja arī rezistenci pret streptomīcinu un hloramfenikolu. Mūsdienās jau lielākajā daļā no baktēriju sugām ir atrodami tetraciklīnu rezistenti izolāti. Šobrīd nav zināmi tetraciklīnu rezistenti protozoji, bet vadoties pēc tetraciklīnu lietošanas biežuma, lai ārstētu protozoju izraisītas slimības, ir iespējams izvirzīt hipotēzi, ka tuvāko gadu laikā parādīsies arī rezistenti protozoji (Roberts, 2003).

Vēsturiski tetraciklīni ir iedalāmi trijās paaudzēs. Pirmā paaudze ir iegūti biosintēzes ceļā – tetraciklīns, hlortetraciklīns, oksitetraciklīns, demeklociklīns. Otrā paaudze, kas ir pussintezēti derivāti – doksiciklīns, limeciklīns, meklociklīns, metaciklīns, minociklīns, rolitetraciklīns. Trešā paaudze – tigeciklīns, kas ir sintezēts, bet pastāv uzskats, ka tigeciklīnu pat varētu pieskaitīt kā pavisam jaunu antibiotiku grupu, jo tas ievērojami atšķiras no citiem tetraciklīnu grupas pārstāvjiem (Fuoco, 2012).

1.6.1. Tetraciklīnu darbības mehānisms

Tetraciklīni ir bakteriostatiski proteīnu sintēzes inhibitori (skatīt *1.5.att.*). Intracelulāri tetraciklīni uzkrājas un tiek transportēti izmantojot enerģijas atkarīgu transporta sistēmu, kura atrodas baktēriju membrānās. Tetraciklīnu uzņemšanas un intracelulārās zāļu vielas līmenis baktēriju šūnās ir atkarīgs no tā, cik daudz aktīvās vielas tiek transportētas cauri ārējai membrānai un tālāk sekojošā zāļu vielas transporta cauri iekšējai membrānai. Kad zāļu viela nonāk šūnas iekšienē, tas ir atgriezenisks process un tas nozīmē, ka zāļu transports var tikt veikts arī uz ārpusi, ja zāļu viela saistās pie šūnu organoīdām vai arī tiek ķīmiski modificēta un nenotiek ieplūšana tālāk. Kad tetraciklīns nonāk baktēriju šūnas iekšienē, tas saistās ar 30S ribosomālo subvienību, tādā veidā novēršot aminoaciltransferāzes RNS saistīšanos pie "A" receptora saita 30S mesendžera RNS-ribosomu kompleksā. Tādējādi proteīnu sintēzi nomāc proteīnu ķēdes pagarināšanās jeb elongācijas kavēšana (Weinberg, 1998).

1.7. Aminoglikozīdi

Aminoglikozīdi ir pieskaitāmi pie pussintētiskajām antibiotikām, kuras ir iegūtas no *Actinomyces* baktērijām. Vienas no pirmajām antibiotikām, kuras tika izmantotas klīniskajā praksē, bet 20. gs. 80. gados šīs aktīvās vielas pakāpeniski sāka nomainīt citas antibakteriālo līdzekļu grupas, tādas kā cefalosporīni, karbapenēmi, fluorhinoloni. Aminoglikozīdi ir uzrādījuši sinerģisku efektu ar citām antibakteriālo līdzekļu klasēm (Krause, 2016).

Aminoglikozīdi ir ļoti svarīga un īpaša antibakteriālo līdzekļu klase, tieši Gram-negatīvo baktēriju izraisītu infekciju ārstēšanai. Šie līdzekļi uzrāda plašu antimikrobiālo efektivitāti pret patogēnām baktērijām un saglabā arī ilgstošu darbību (Kumar, 2019).

Šīs grupas pārstāvji ir plaša spektra antibakteriālie līdzekļi, kuri darbojas uz proteīnu sintēzes inhibēšanu. Pirmais tika atklāts streptomicīns, kurš tika izolēts no *Streptomyces griseus* 1944. gadā un turpmākajos gados tika atklātas citas šīs klases vielas – neomicīns, kanamicīns, gentamicīns, netilmicīns, tobramicīns un amikacīns, respektīvi šādā secībā.

Aminoglikozīdi ir aktīvi pret vairākām Gram-pozitīvajām un Gram-negatīvajām baktērijām. Šīs antibakteriālo līdzekļu klases pārstāvji ir efektīvi pret *Enterobacteriaceae* pārstāvjiem, ieskaitot *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* un *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* un *Enterobacter aerogenes*, *Providencia* spp., *Proteus* spp., *Morganella* spp., *Serratia* spp. Aminoglikozīdi ir efektīvi pret *Yersinia pestis* un *Francisella tularensis*, tāpat arī tie ir aktīvi pret *Staphylococcus aureus*, ieskaitot meticilīna rezistentajiem un vankomicīna rezistentajiem *P. aeruginosa* un mazākā mērā pret *Acinetobacter baumannii*. Tāpat aminoglikozīdi ir aktīvi pret vairākām *Mycobacterium* spp., ieskaitot *Mycobacterium tuberculosis* (Krause, 2016).

Neskatoties uz universālo antibakteriālo pielietojumu pret vairums baktērijām jāpiemin lielais toksicitātes risks, tie spēj izraisīt ototoksicitāti un nefrotoksicitāti, tāpēc arī ir ierobežota aminoglikozīdu lietošana. Nefrotoksicitāti aminoglikozīdi izraisa, jo tiem ir tieksme atgrizeniski uzkrāties nieru garozā, bet ototoksicitātes mehānismi ir daudz sarežģītāki un tiek saistīti ar aminoglikozīdu saistīšanos pie mitohondriālā RNS (Chittapragada, 2009). Aminoglikozīdu izraisītā ototoksicitāte var novest pie vestibulotoksicitātes (līdzsvara izjūtas trūkums) un/vai kohleotoksicitāte (tinnīts un/vai dzirdes zudums).

1.7.1. Aminoglikozīdu darbības mehānisms

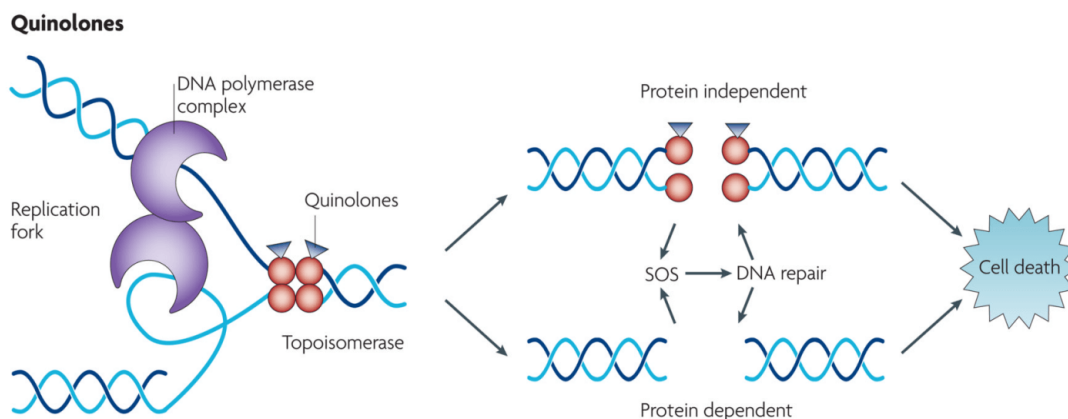
Aminoglikozīdu darbības mehānisms balstās uz baktēriju proteīnu sintēzes inhibēšanu. Nonākot baktēriju šūnas iekšienē, šie līdzekļi saistās ar 30S ribosomālo subvienību (skatīt *1.5.att.*). Ir vairāki iespējamie aktivitātes ceļi. Šo aktīvo zāļu vielu penetrācija cauri baktēriju šūnu membrānai ir daļēji atkarīga no skābekļa-atkarīgā aktīvā transporta caur poliamīnu pārneses sistēmas (kuru netiešu bloķē hloramfenikoli), un tiem piemīt minimāla darbība pret anaerobajiem mikroorganismiem. Aminoglikozīdu radītais efekts ir baktericīds attiecībā pret baktērijām un to var palielināt pievienojot vielas, kuras ietekmē baktēriju šūnu sienas sintēzi (piemēram, penicilīniem) (Ritter, 2020).

1.8. Hinoloni

Pirmais prototipiskais hinolonu grupas pārstāvis tika atklāts 20. gs. 60. gados un tā bija nalidiksīna skābe. Tehniski tā ir pieskaitāma pie naftiridonu grupas. Nalidiksskābe tika atklāta kā blakusprodukts sintezējot pretmalārijas hinīna sastāvdaļas. Pavisam drīz tika atklāts, ka šī skābe ir spējīga inhibēt baktēriju topoizomerāzes II enzīmu, inhibējot baktēriju replikāciju. 1967. gadā nalidiksskābe tika apstiprināta klīniskajai praksei urīntrakta infekciju ārstēšanai, ko izraisa Gram-negatīvās baktērijas. Bet tā izmantošana tika ierobežota dēļ niecīgā aktivitātes spektra līdz 20. gs. 80. gadu analoģu izveidošanai. Tajā laikā zinātniekiem bija nepieciešams atklāt jaunas antibakteriālās vielas, lai ārstētu diareju un urīntrakta infekcijas, ko izraisījušas rezistentās *Shigella* un *Escherichia coli* baktērijas. Tieši šīs rezistentās baktērijas noveda zinātniekus līdz hinolonu grupas antibakteriālās aktivitātes palielināšanai un toksicitātes samazināšanai (Pham, 2019). Šobrīd liels skaits slimību tiek ārstētas ar hinolonu grupas antibiotikām. Urīnceļu infekcijas, pielonefrīts, seksuāli transmisīvās slimības, prostatīts, āda un audu infekcijas, sieviešu reproduktīvo orgānu infekcijas, vēdera dobuma infekcijas, nozokomiālā pneimonija, sadzīvē iegūta pneimonija, hroniskais bronhīts. Hinolonu grupas antibiotikas izmanto arī, lai ārstētu tuberkulozi, kura ir uzskatāma kā viena no izplatītākajām, nāvīgākajām slimībām pasaulē (Aldred, 2014).

1.8.1. Hinolonu darbības mehānisms

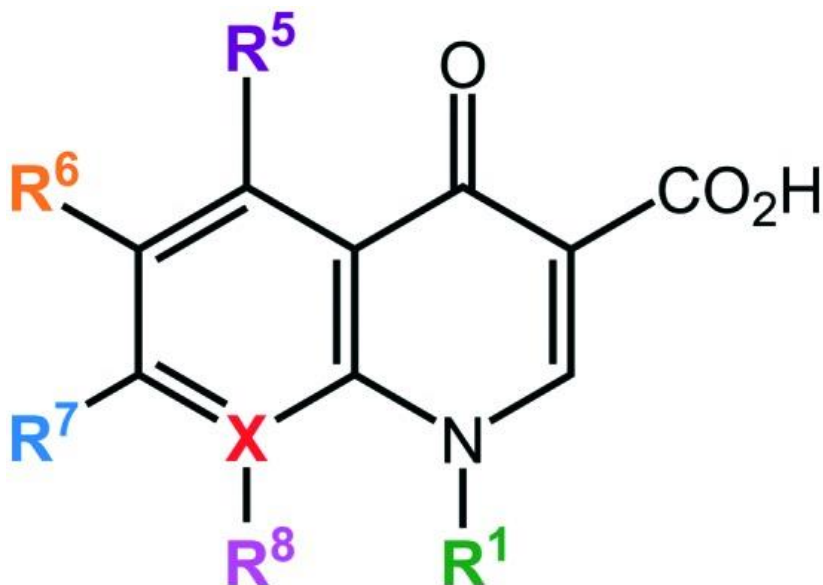
Hinolonu mērķis ir darboties intracelulāri baktēriju šūnās, iesaistot divas DNS topoizomerāzes – girāze un topoizomerāze IV (skatīt 1.9.att.). Girāze tiek uzskatīta par primāru mērķi gram-negatīvajās baktērijās, bet topoizomerāzi IV hinolonu grupas antibiotikas inhibē gram-pozitīvajās baktērijās. Šo abu enzīmu darbība bioķīmiski ir ļoti līdzīga, un saistīta ar DNS dubultspirāles veidošanu baktērijās, bet fizioloģiski starp šiem enzīmiem pastāv atšķirības, kas var ietekmēt hinolonu aktivitāti (Drlica, 2008). Tātad hinolonu grupas antibiotikas inhibē topoizomerāzi II (baktēriju DNS girāzi), šī inhibīcija neļauj veidot DNS dubultspirāli līdz ar to baktērija nav spējīga veikt transkripciju vai replikāciju (Ritter, 2020).



1.9.att. **Hinolonu antibiotiku darbības mehānisms.** Tiešsaiste. Pieejams - <https://www.creative-biolabs.com/drug-discovery/therapeutics/interference-with-nucleic-acid-synthesis.htm>, skatīts – 10.03.2020

1.8.2. Hinolonu struktūra un aktivitāte

Hinolonu grupa no naftiridoniem atšķiras ar oglekļa molekulu un slāpekļa molekulu struktūrā, bet aktivitāti nosaka funkcionālo grupu esamība vai neesamība struktūrā. Pamatā ir 5 pozīcijas, kurās ir iespējams pievienot funkcionālo grupu (skatīt 1.10.att.) (Pham, 2019)



1.10.att. **Hinolonu antibiotiku pamata struktūra.** X pozīcijā hinolonu gadījumā ir oglekļa (C) atoms, bet naftiridonu gadījumā – slāpeklis (N). Pozīcijās R₁, R₅, R₆, R₇, R₈ pievienojamas funkcionālās grupas no kā atkarīga ir vielu aktivitāte. Pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6836748/>, skatīts – 10.03.2020

I paaudzes hinolonu antibiotika ir nalidiksābe, kura teorētiski ir pieskaitāma pie naftiridonu klases, jo X pozīcijā ir slāpekļa atoms. Šī aktīvā viela ir aktīva pret Gram-negatīvajām baktērijām, izņemot *Pseudomonas* sugas baktērijas. Pie otrās paaudzes pieskaitāms enoksacīns, norfloksacīns un ciprofloksacīns (Pham, 2019). Norfloksacīns tika uzskatīts par pirmo plaša spektra hinolonu grupas antibiotiku, kura bija paredzēta lielākam infekciju ārstēšanas lokam nekā nalidiksābe. Tomēr dēļ zemā seruma līmeņa un sliktās penetrācijas audos, norfloksacīns tika izmantots lielākoties urīnceļu infekciju un seksuāli transmisīvo slimību ārstēšanai (Aldred, 2014). Otrās paaudze hinolonu grupas aktīvās vielas ir aktīvas pret Gram-negatīvajiem patogēniem un dažiem atipiskiem patogēniem, ieskaitot *Mycoplasma pneumoniae* un *Chlamydia pneumoniae*. No šīs paaudzes vispēcīgākais ir ciprofloksacīns un tāpēc ir ļoti bieži izmantojams un izmanto kā pirmo izvēli pret *Pseudomonas aeruginosa* (Pham, 2019). Ciprofloksacīns arī ir uzskatāms par pirmo no hinolonu grupas pārstāvjiem, kurš ir uzrādījis efektivitāti ārpus urīnceļu infekcijām. Vairāk nekā pēc 20 gadu izmantošanas klīniskajā praksē, tas ir viens no biežāk izrakstītajiem antibakteriāliem medikamentiem un to izmanto plašā spektrā, lai ārstētu Gram-negatīvo baktēriju, kā arī Gram-positīvo baktēriju izraisītas infekcijas (Aldred, 2014). Otrās paaudzes hinoloni ir iedalīti divās daļās, iepriekšējie paaudzes pārstāvji ir a klase, bet ofloksacīns, tā L-izomērs – levofloksacīns un lomefloksacīns ir pieskaitāms pie 2b klases. Šīs baktērijas ir efektīvas pret visiem Gram-negatīvajiem patogēniem un dažiem Gram-positīvajām baktērijām, ieskaitot *Staphylococcus aureus*, izņemot *Streptococcus pneumoniae*, un dažiem atipiskiem organismiem. Sparfloksacīns, grepafloksacīns, klinafloksacīns, gatifloksacīns pieder pie trešās paaudzes. Šīs vielas ir aktīvas pret tiem pašiem organismiem kā otrās paaudze hinoloni, ieskaitot penicilīna jutīgo un penicilīna rezistentu *S. pneumoniae* un lielāku aktivitāti pret atipiskajiem patogēniem. Pie ceturtais paaudzes pieder – moksifloksacīns, gemifloksacīns, trovafloksacīns, garenoksacīns. Šīs aktīvās vielas ir ar visplašāko antibakteriālo spektru. Tās ir aktīvas pret visiem mikroorganismiem pret ko efektīvas ir trešās paaudze hinolonu aktīvās vielas un šai paaudzei piemīt arī aktivitāte pret anaerobajiem organismiem (Pham, 2019).

1.9. Augu sastāvdaļas ar antibakteriālu darbību.

Šobrīd visa pasaule ir tendēta uz antibakteriālās rezistences novēršanu. Daudziem slimnīcu pacientiem, it īpaši, pacientiem ar imūnsupresiju, ik dienas tiek atklāti jauni patogēni, jauni baktēriju celmi, kuri ir multi-rezistenti pret dažādiem medikamentiem. Šo infekciju izraisītāji, jaunie baktēriju celmi ir vainojami pie palielinātas mirstības slimnīcu pacientiem. Tātad var teikt, ka antibiotiku atklāšana, un to nepareiza lietošana, ir viens no galvenajiem iemesliem mikrobiālai rezistencei. Ar katru jaunu, rezistentu mikroorganismu pastāv iespēja, ka nav iespējams to izārstēt un nepieciešami arvien jauni antibakteriālie līdzekļi (Chanda, 2011).

Fitoterapija ir viens no potenciālajiem virzieniem kurā raudzīties runājot par mikroorganismu rezistenci. Iepriekš ir aprakstīts un pēdējos gados daudz pētīts sinerģiskais efekts antibakteriāliem līdzekļiem kombinācijās ar dažādiem augu ekstraktiem. Šo aktīvo vielu savienojums var sniegt dažādus papildus ieguvumus, piemēram, palielinātu zāļu efektivitāti, nevēlamo blakusparādību samazināšanu, lielāku vielu stabilitāti un biopieejamību, kā arī panākt piemērotu terapeitisko efektu ar relatīvi mazām aktīvo vielu devām. Augiem, kuri rada sinerģisko efektu, individuāli var arī nebūt antimikrobiālais efekts, bet lietojot kombinācijās ar standarta medikamentiem, tie var pastiprināt medikamentu efektivitāti (Chanda, 2011).

Ājurvēda jeb Indiešu tradicionālā medicīna ir balstīta uz tradicionālu medicīnisko sistēmu, līdzīgi kā ķīniešu medicīna, abas ir atklātas un veidotas ģeogrāfiskajos reģionos. Ājurvēdas prakse ir ap 3000 gadu veca, ar senu vēsturi slimību ārstēšanā. Ājurvēdas princips sākotnēji ir diagnosticēt pacientu pirms preparātu nozīmēšanas, kā arī profilaktiski ieteikt diētas un ieradumu maiņu, lai novērstu slimības rašanos vai iedarboties uz slimības cēloņiem jau pašā slimības sākumā, nevis vēlīnajā stadijā. Šo sauc par holistisku pieeju pacientu veselībai. No augiem atvasinātu, arī minerālvielu preparāti ir galvenie preparāti ājurvēdas praksē. Pamata doma ājurvēdā – pasaulē nav substanču, kuras nav iespējams izmantot kā potenciālos medikamentus. Tradicionālie raksti brīdina par neizpētītu substanču lietošanu, jo tā nav adekvāta, bet liek arī uzsvāru uz to, ka pat indēm piemīt medicīnisks efekts, ja tās tiek lietotas apdomīgi. Pirms augu aprakstīšanas ājurvēdas farmakopejā, tas tiek rūpīgi pārbaudīts. Parasti ājurvēdas preparāti sastāv no 3 līdz pat 30 dažādām augu kombinācijām jeb poliherbālas kombinācijas. Parasti šajās kombinācijās viens vai divi augi ir aktīvās sastāvdaļas, bet pārējie ir kā palīgvielas, kuras darbojas kā katalizētāji, lai uzlabotu absorbciju, samazinātu toksicitāti un veicinātu vielu transportu.

AFI jeb Ājurvēdiskais Indijas Farmakopejas preparāts

Kā jau iepriekš minēju, tad Ājurvēda ir indiešu tradicionālā medicīna un preparāts AFI (*Ayurvedic formulation of India*) ir aprakstīts šīs medicīnas farmakopejā. AFI ir 11 augu komponentu preparāts – augu ekstraktu maisījums, kuru izmanto ārīgi, dažādu brūču ārstēšanai, it īpaši hronisku brūču ārstēšanai, kara medicīnā, kā arī papildterapijā diabētiskās pēdas ārstēšanai. Indiešu farmakopejā šis preparāts ir nodēvēts par – *Jathyadi gritam* (skatīt 1.11.att.). Bez augiem sastāvā ietilpst arī medus bišu vasks, kurš sanskritā ir *Sikthaka* (*Madhūcchista*), vara sulfāts (*Tuttha*), Gī (Ghee) sviests (*Sarpi* vai *Goghrta*) un ūdens, kā arī 11 augu ekstrakti (skatīt 1.1.tabulu) (AFI, 2003).

6 : 11 JĀTYĀDI GHṚTA synonym Vraṇa Śodhanādi Ghṛta
(Aṣṭāṅgahrdaya, Uttarasthāna, Adhyāya25 : 67)

जातीनिम्बपटोलपत्रकटकादार्वीनिशासारिवा-
मञ्जिष्ठाऽभयसिक्थतुत्थमधुकेर्नक्ताह्वबीजाचितैः ।
सर्पिः साध्यमनेन सूक्ष्मवदना मर्माश्रिताः क्लेदिनो
गम्भीराः सरुजो व्रणाः सगतयः शुद्ध्यन्ति रोहन्ति च ॥६७॥
(अष्टाङ्गहृदय, उत्तरस्थान, अध्याय २५; ६७)

1.	Jāti patra (jāti)	(Lf.)	14.76 g
2.	Nimba patra	(Lf.)	14.76 g
3.	Paṭola patra	(Lf.)	14.76 g
4.	Kaṭukā	(Rt./Rz.)	14.76 g
5.	Dārvī (Dāruharidrā)	(St.)	14.76 g
6.	Niṣā (Haridrā)	(Rz.)	14.76 g
7.	Sāriṇa (Śveta Sāriṇā)	(Rt.)	14.76 g
8.	Mañjiṣṭhā	(Rt.)	14.76 g
9.	Abhayā (Uśīra)	(Rt.)	14.76 g
10.	Sikthaka (Madhūcchista)		14.76 g
11.	Tuttha		14.76 g
12.	Madhūka (Yaṣṭī)	(Rt.)	14.76 g
13.	Naktāhva (Karañja)	(Sd.)	14.76 g
14.	Sarpi (Goghrta)		768 g
15.	Water		3.072 l

1.11.att. AFI preparāta sastāvs Indijas farmakopejā. Tiešsaistes attēls ar korekcijām, pieejams - <https://vdocuments.mx/afi-part-i-part-a-formulations.html>, skatīts – 15.04.2020

AFI preparāta sastāvs		
Nosaukums sanskritā	Nosaukums latīniski	Nosaukums latviski
<i>Jāti patra (jāti)</i>	<i>Jasminum grandiflorum</i> Linn.	Lielziedu jasmīns
<i>Nimba patra</i>	<i>Azadirachta indica</i> A.Juss	Nīms jeb Indijas ceriņi
<i>Patola patra</i>	<i>Trichosanthes dioica</i>	
<i>Katukā</i>	<i>Picrorhiza kurroa</i> Royle ex Benth	Pikroriza
<i>Dārvi (Dāruharidrā)</i>	<i>Berberis aristata</i> DC	Aktozobainā bārbele
<i>Nisā (Haridrā)</i>	<i>Curcuma longa</i> Linn.	Kurkuma
<i>Sāriva (Sveta Sārivā)</i>	<i>Hemidesmus indicus</i>	Indijas sarsaparilla
<i>Manjisthā</i>	<i>Rubia cordifolia</i> Linn.	Indijas rubija
<i>Abhayā (Ušira)</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i> Linn.	Vetivērija (Vetivērs)
<i>Madhūka (Yasti)</i>	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linn.	Kailā lakrica
<i>Naktāhva (Karanja)</i>	<i>Pongamia pinnata</i> Linn.	Indijas dižskabārdis

Aplūkojot fitoķīmiski šī preparāta augu ekstraktus, var saprast, ka tas ir bagāts ar augu aktīvajām vielām. *Pongamia pinnata* Linn ir piesātināts ar alkoīdiem, karbohidrātiem, steroīdiem, saponīniem, tanīniem, flavonoīdiem, fenoliem, kumarīniem, triterpenoīdiem, hinoniem (Deepthi, 2016). Viens no fitoķīmiski bagātīgākajiem augiem preparāta sastāvā viennozīmīgi ir *Glycyrrhiza glabra* Linn jeb Kailā lakrica. Jāpiemin, ka tā sastāvā ir saponīns – glicirizīns, kas ir ļoti salds, dažādas flavonoīdu frakcijas, tāpat ir izolētas dažādas kumarīņu aktīvās sastāvdaļas. Atrodami 4 jauni fenolu savienojumi, izoflavonu derivāti, pentanols, heksanols, linalola oksīds A un B, tetrametilpirazīns, terpinēns – 4 – ols, α – terpineols, geraniols, tāpat sastāvā ir skābes – propionskābe, benzoiskābe. Tāpat arī atrodami flavoni un asparagīns un daudz citu izomēru (Bayati Zadeh, 2013). *Vetiveria zizanioides* Linn sastāvā ir vetiverols, vetivenons, kusimols, terpēni, benzoskābe, tripēns – 4 – ols, β – humulēns (Snigdha, 2013). *Rubia cordifolia* Linn. sastāvā ietilpst hinoni, iridoīdi, triterpenoīdi, heksapeptīdi, antrahinoni (Patil, 2009). *Hemidesmus indicus*, kurš arī ir AFI preparāta sastāvā pēc dažādu datu fitoķīmiskā profila sastāvā ir atrasti gan steroīdi, terpenoīdi, flavonoīdi, fenolu

savienojumi, tannīni, lignīni, ogļūdeņraži un proteīni, bet netika atrasti alkaloīdi, saponīni, sirds glikozīdi. Šīs aktīvās vielas ir atrodamas gan ūdens ekstraktiem, gan etanola ekstraktiem (Rajan, 2011). *Curcuma longa* Linn. ir apstiprināts, ka tās sastāvā ir atrodamī alkaloīdi, ciete, kurkumīns un citi kurkuminoīdi, kurkuma ēteriskā eļļa un dažādas skābes, seskviterpēni, kampars, kā arī citas vielas mazākos daudzumos (Jain, 2007). *Berberis aristata* DC fitoķīmiskajā sastāvā ļoti bagātīgi ir pārstāvēta alkaloīdu grupa, piemēram berberīns un berbamīns, kā arī citi (Mazumder, 2011). Galvenās aktīvās sastāvdaļas *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth augam ir pikrozīds – I un pikrozīds – II, kuri pieskaitāmi pie glikozīdiem (Sharma, 2012). augam *Trichosanthes dioica* ir atklāts, ka sastāvā visvairāk ir atrodamī flavonoīdi un terpenoīdi, samērā daudz ir arī alkaloīdi, ogļhidrāti, glikolīdi, bet mazos jeb minimālos daudzumos ir atrodamī tannīni, tauki un saponīni (Mehta, 2015). Ekstrakti no *Azardirchta indica* ir pārbaudīti un pierādīta alkaloīdu, glikozīdu, flavonoīdu, saponīnu, tannīnu, fenolu klātbūtne (Ramadass, 2018). Bet *Jasminum grandiflorum* Linn. pārbaudē tika uzrādīta alkaloīdu, tannīnu, flavonoīdu, steroīdu, glikozīdu, terpēnu, rezīnu un salicilskābes klātbūtne (Patil, 2012).

Dažādi augu ekstrakti, un to sastāvs, ir pētīti, lai pierādītu un pārbaudītu to antimikrobiālo aktivitāti. Piemēram, vitamīni (A, E, K, C), karotenoīdi, terpenoīdi, flavonoīdi, polifenoli, alkaloīdi, tannīni, saponīni, pigmenti, enzīmi un minerālvielas ir pierādījušas savu antimikrobiālo un antioksidantu aktivitāti. Lielākoties augi satur vairāk vai mazāk līdzīgas aktīvās sastāvdaļas, tādas kā saponīni, triterpenoīdi, steroīdi, glikozīdi, antrahinoni, flavonoīdi, proteīni un aminoskābes. Tāpat arī ir pierādīts, ka augi, kuri ir piesātināti ar tannīniem un fenolu atvasinājumiem uzrāda antimikrobiālo aktivitāti pret vairākiem mikroorganismiem (Das, 2017). Fenolu savienojumi ietekmē baktēriju šūnu membrānu, tie ir spējīgi mijiedarboties ar membrānu proteīniem, izjaucot to struktūru. Flavonoīdi ne tikai ietekmē šūnu membrānu, bet arī inhibē nukleīnskābes sintēzi (topoizomerāzes inhibīcija) un enerģijas metabolismu. Hinoni ir spējīgi veidot neatgriezeniskus kompleksus ar nukleofīlajām aminoskābēm proteīnos. Kumarīni ir spējīgi izraisīt šūnas elpošanas nomākumu. Terpēni izraisa šūnas membrānas sabrukšanu. Alkaloīdi ir spējīgi darboties un DNS, ietekmējot enzīmu darbību (esterāžu, DNS un RNS polimerāžu), ietekmē arī šūnas elpošanas sistēmu (Stepanovic, 2018).

Sinergiskais efekts augu preparātiem ar antibakteriālajiem līdzekļiem

Antimikrobiālās rezistences problēma pasaulē ar katru dienu pieaug un tas arī ir viens no galvenajiem cēloņiem neizārstējamām infekciju slimībām nākotnē. Augu ekstraktu izmantošana pret antibiotiku rezistentiem mikroorganismiem ir alternatīvā terapija infekciju slimību ārstēšanai. Medikamenti, kurus iegūst no dabā sastopamām vielām ir nozīmīgi slimību ārstēšanai un profilaktiskai novēršanai. Ir ievērojams skaits augu ekstrakti, kuri uzrāda sinerģisku aktivitāti pret vairums mikroorganismu. Tāpat ir ļoti daudz ieguvumu no antibakteriālu augu ekstraktu lietošanas terapijā, tādi kā, mazāk blakņu, labāka panesamība, vairumam ir draudzīgāka cena, tāpat tie ir dabā viegli atjaunojami, kā arī tos var uzskatīt par jaunu antibiotiku prototipiem raugoties tālāk nākotnē. Bet tieši mikrobiālās rezistences pieaugums ir galvenais iemesls, lai mēģinātu atklāt arvien jaunākus un noderīgākus antibakteriālos līdzekļus, vai arī būs nepieciešams atklāt jaunus veidus kā cīnīties ar rezistentiem mikroorganismiem (Chanda, 2011).

Tā kā aizvien pieaug mikroorganismu rezistence, tad saprātīgi ir izmantot kombināciju terapiju, lai panāktu baktericīdo sinerģismu. Kombinācijas var būt dažādas, piemēram dažādu augu ekstraktu kombinācijas, tāpat var izmantot standarta antibiotiku kombināciju ar augu ekstraktiem, vai arī izmantot standarta antibiotikas ar dažādām ķīmiskajām vielām. Antibiotiku kombinācija ar augu ekstraktiem var novest pie jaunām izvēlēm infekciju slimību ārstēšanai. Kombināciju terapijas var tikt izmantotas, lai paplašinātu antibakteriālo līdzekļu aktivitātes spektru, lai novērstu rezistentu organismu veidošanos, lai samazinātu toksicitāti, vai arī, lai palielinātu antimikrobiālo aktivitāti jeb panākt to, lai aktivitāte kombinācijā būtu lielāka nekā tā būtu katrai antibakteriālai vielai atsevišķi (Chanda, 2011). Augu aktīvie komponenti darbojas uz baktēriju rezistences mehānismu bloķēšanu vai modificēšanu, tādējādi baktērijas kļūst jutīgākas pret antibiotikām, vai arī augu ekstrakts rada iespēju antibiotikas lietot mazākās koncentrācijās. Antibiotiku devu samazināšana atspoguļojas arī uz samazinātu antibiotiku blakņu izpausmēm (Stefanovic, 2018). Mijiedarbības starp divām vai vairākām vielām var izpausties četros veidos: sinerģismā, additīvā efektā, indiferentā efektā un antagonismā. Additīvs efekts ir novērojams, ja vielu radītais efekts kombinācijā ir tāds pats, kā tas būtu katrai vielai atsevišķi kopā summējot. Antagonisms ir novērojams, ja vielu radītais efekts, vienai vai visām vielām kombinācijā, ir zemāks nekā tas būtu izmantojot vielas atsevišķi monoterapijā. Indiferents efekts ir novērojams, ja kombinējot vielas nerodas mijiedarbības. Sinerģisms ir novērojams, ja vielu radītais efekts, izmantojot tās kombinācijā ir ievērojami lielāks nekā katrai vielai atsevišķi kopā summējot (Bassole, 2012). Sinerģisms ir pozitīvais efekts, pozitīvā mijiedarbība starp divām vielām, kuras kopā darbojoties palielina inhibitoro efektu uz mērķa organismu. Racionālā terapijā divu vai vairāku zāļu lietošana nereti ir būtiska un reizēm pat

obligāta, lai sasniegtu nepieciešamo terapeitisko mērķi, vai arī ārstētu vairākas vienlaikus esošas slimības (Chanda, 2011). Ir ļoti daudzi *in vitro* pētījumi, kuros ir apstiprināts sinerģiskais efekts augu ekstraktu un antibiotiku kombinācijām, kuros uzrādīts, ka šīs kombinācijas noved pie antibiotiku minimālās inhibējošās koncentrācijas (*MIC*) samazināšanās, kas nozīmē, ka nepieciešama mazāka antibiotiku deva, lai iegūtu to pašu efektu kā lielāka deva antibiotiku individuālajās terapijās (Stefanovic, 2018).

2. MATERIĀLI UN METODEDES

Maģistra darba eksperimentālā daļa tika izstrādāta Latvijas Universitātes Dabaszinātņu akadēmiskā centra Mikrobioloģiskajā laboratorijā. Darba ietvaros tika strādāts ar diviem MSSA celmiem, kas iegūti no LU Mikrobioloģijas kultūru kolekcijas.

Darbā tika izmantots jūtīgais *S. aureus ATCC2848* un klīniskais *S. aureus ATCC704* un 11 augu komponentu preparāts AFI (1st Batch heksāna ekstrakts), kurš tika iegūts Latvijas Universitātes un Arya Vaidya Chikitsalayam pētniecības institūta sadarbības projekta laikā 2016 – 2017. gadā, kura pārstāvniecība ir Rīgā - AVP *Baltics*. Darbam arī tiek izmantots hinolonu grupas pretmikrobu līdzeklis – ciprofloksacīns 10mg/ml un aminoglikozīdu pretmikrobu līdzeklis – gentamicīns 80mg/2ml.

Materiāli.

Izejmateriāli

Darba izstrādes gaitā tika izmantoti šādi trauki un vienreizlietojamie izejmateriāli:

- Sterilas mēģenes;
- Sterilas plastmasa cilpiņas;
- Sterilas polisterēna mikrotitru plates ar 96 iedobēm;
- Petri plates;
- Sterili pipešu uzgaļi;
- Gumijas cimdi;

Ķīmiskās vielas

Maģistra darba izstrādes gaitā tika izmantotas šādas vielas:

- Ciprofloksacīna 10mg/ml šķīdums injekcijām (Ciprinol 10 mg/ml);
- Gentamicīna 80mg/2ml šķīdums injekcijām (Gentamicin Krka 80 mg/2ml);
- Nātrija hlorīda šķīdums infūzijām (Braun) ;
- Cietā barotne – agars (Mueller - Hinton);
- Šķidrā barotne – buljons (Mueller - Hinton);
- Augu ekstraktu preparāts – AFI (1st Batch heksāna ekstrakts);
- Surfaktants - TWEEN 80,
- Dimetilsulfoksīds (DMSO) 99,7% (SIGMA)
- Destilēts ūdens;
- 70% etanols dezinfekcijai;

Aparatūra

Maģistra darba pētāmās daļas izstrādē tika izmantota šāda aparatūra:

- Termostats (BioSan, ES – 20/60);
- Autoklāvs;
- Laminārs (AURA 2000 B. S.);
- Automātiskās mikropipetes (BioHit);
- Elektroniskie svāri;
- Ledusskapis;
- Vortekss V – 1 plus (BioSan);
- Densitometrs (McFarland, LIAP);

2.1. Barotņu sagatavošana

2.2.1. Mueller-Hinton buljona pagatavošana

Izšķīdina 21 g buljona pulvera 1 L attīrīta/ destilēta ūdens. Autoklavē 121 °C temperatūrā 15 minūtes. Pagatavoto buljonu atdzesē līdz 45 – 50 °C. Uzglabāt pagatavoto šķīdumu cieši aizvērtā iepakojumā, temperatūrā ne augstākā par 25 °C.

2.2.2. Mueller-Hinton agara pagatavošana, Petri plašu sagatavošana

Izšķīdina 38 g Mueller-Hinton agara pulveri 1 L destilēta ūdens. Šo šķīdumu nepārtraukti maisot uzkaršē un vāra vienu minūti līdz barotne ir pilnībā izšķīdusi. Maisījumu ievieto autoklāvā 121 °C temperatūrā uz 15 minūtēm. Atdzesē līdz 25 °C. Atdzesēto agaru sapilda Petri platēs uz līdzenas, horizontālas virsmas, lai agars varētu izlīdzināties pa visu Petri plati. Atstāt Petri trauciņus, lai tie atdziest un apgriezti ar vāciņu uz leju. Plates var uzglabāt temperatūrā 2 – 8 °C.

2.2. Darba izstrādei nepieciešamo paraugu sagatavošana

2.3.1. AFI preparāta sagatavošana

AFI preparāts tiek gatavots ar sākuma koncentrāciju 250 µg/ml. Šķīduma pagatavošanai 2 ml sterilā plastmasa mēģenē tiek nosvērts 500 µg jau sagatavotā AFI preparāta 1st Batch heksāna ekstrakts. Tam ar mikropipetes palīdzību tiek pievienots 500 µL 99,7% DMSO. Šis šķīdums tiek atšķaidīts ar 500 µL destilēta ūdens, bet lai šis ekstrakts vienmērīgāk samaisītos tiek pievienots 1 µL surfaktants TWEEN 80. ņemot vērā to, ka AFI ekstrakts ir ļoti biezs, tad, lai iegūtu vienmērīgi izmaisītu AFI šķīdumu, šo mēģeni liek maisīties vorteksā līdz viss AFI preparāts ir izšķīdis.

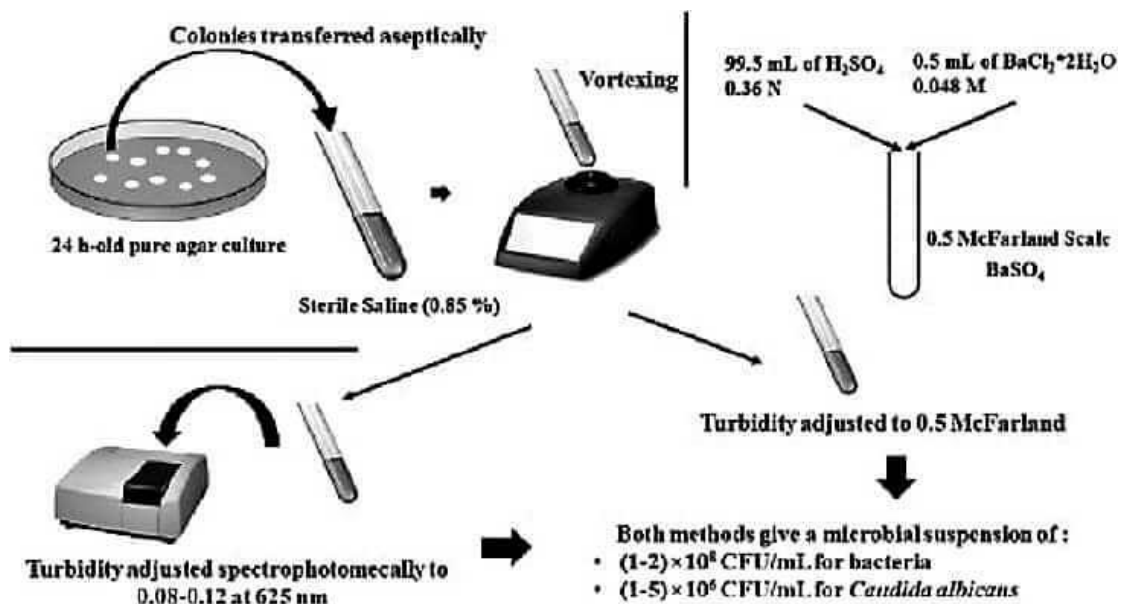
2.3.2. Pretmikrobu līdzekļu šķīdumu sagatavošana

Pasaulē ir izpētīti vēlamās ciprofloksacīna un gentamicīna minimālās inhibējošās koncentrācijas (*MIC*) pret stafilokokiem. Ciprofloksacīnam *MIC* variē no 0,06 mg/L līdz 128 mg/L. Gentamicīnam no 0,008 mg/L līdz 128 mg/L (Andrews, 2001). Darbam tika izvēlētas koncentrācijas 0,1 µg/mL ciprofloksacīnam un 0,4 µg/mL gentamicīnam.

Ciprofloksacīna šķīduma pagatavošanai tika izmantots jau rūpnieciski gatavots injekciju šķīdums ar ražotāja nosaukumu Ciprinol 10mg/mL. Nepieciešams pagatavot darbam nepieciešamo šķīdumu ar koncentrāciju 0,1 µg/mL. Sterilā 2ml plastmasas mēģenē ar mikropipetes palīdzību tiek pārnesti 10 µL rūpnieciski ražotā – Ciprinol 10mg/mL šķīdums, tas tiek atšķaidīts ar 990 µL destilēts ūdens un mēģene tiek aizvērta. Šķīdumu neilgi samaisa vorteksā. Gentamicīna šķīdums tiek gatavots pēc šī paša principa. Šķīduma pagatavošanai tiek izmantots jau rūpnieciski ražots injekciju šķīdums Gentamicin Krka 80mg/mL koncentrācijā. Nepieciešams pagatavot gentamicīna šķīdumu ar koncentrāciju 0,4 µg/mL. Sterilā 2 ml mēģenē ar mikropipetes palīdzību tiek pārnesti 10 µL Gentamicin Krka 80mg/2ml šķīdums, tas tiek atšķaidīts ar 990 µL destilēta ūdens. Šķīdums tiek samaisīts ar vorteksa palīdzību.

2.3. Mikroorganismu sagatavošana mikroatšķaidījumu metodei

Sākumā tiek pagatavota koncentrēta baktēriju suspensija ar turbiditātes ekvivalentu 0.5. Sterilā mēģenē pārnes 2 ml fizioloģisko šķīdumu un ievieto McFarland aparātā, lai nokalibrētu turbiditātes ekvivalentu uz 0,00. Nākošais solis ir baktēriju suspensijas gatavošana līdz turbiditātes ekvivalentam 0.5 izmantojot to pašu McFarland aparātu. Darbā tiek izmantota sterila cilpa un ievākts *S. aureus* paraugs no Petri plates, kurā pēc iepriekšējās baktēriju atdzīvināšanas izaudzējām *S. aureus*. Tad šo cilpu ar *S. aureus* paraugu ievieto mēģenē, kurā tika pārnesti 2ml fizioloģiskais šķīdums, un samaisa. Tad šo mēģeni atkārtoti ievieto McFarland aparātā. Darbību atkārti līdz McFarland aparāts veic mērījumu līdz turbiditātes ekvivalentam 0.5. Gadījumos, kad aparāts uzrāda ekvivalentu lielāku par 0.5, tad atkārtoti pievieno fizioloģisko šķīdumu līdz ekvivalents ir 0.5. Gadījumos, ja ekvivalents ir mazāks par 0.5, tad atkārtoti ar sterilo cilpiņu tiek ņemts *S. aureus* paraugs no Petri plates. Šajā darbā nepieciešams izmantot baktēriju suspensijas atšķaidījumu līdz $1 \cdot 10^{-2}$ KVV/ml (skatīt 2.1.attēlu). Lai pagatavotu šajā darbā izmantojamo *S. aureus* suspensiju ar elektroniskās mikropipetes palīdzību ņem 500 µl McFarland aparātā nomērītās suspensijas un pārnes to uz plastmasas 50ml mēģeni. Tad mēģenei pievieno destilētu ūdeni līdz 50ml atzīmei (Balouiri, 2016).

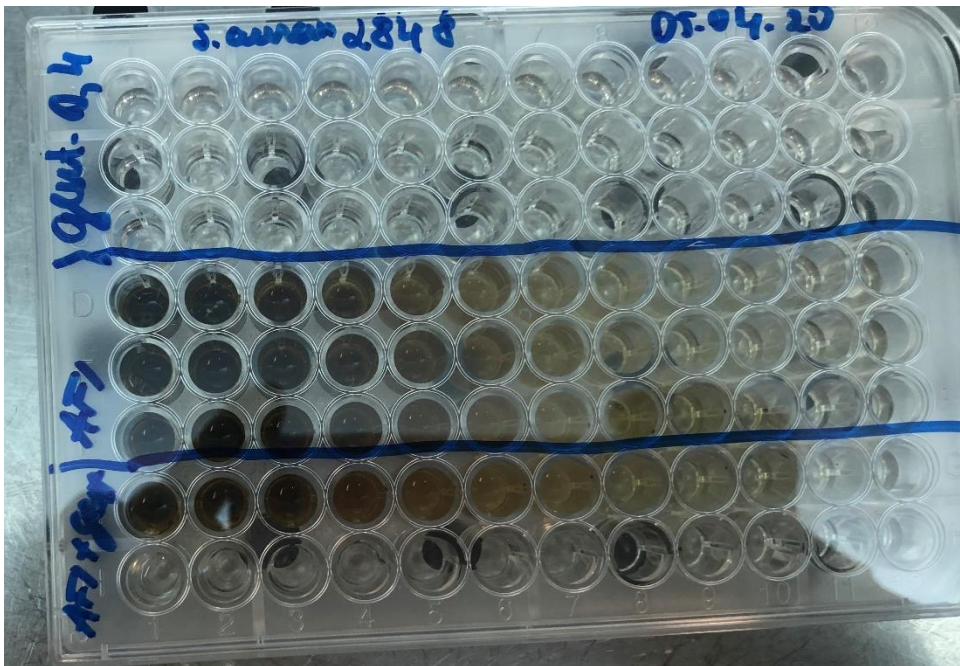


2.1.att. Densitometra (McFraland) baktēriju standartšķīduma pagatavošana. tiešsaistes attēls. pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762448/>, skatīts – 2020.03.05

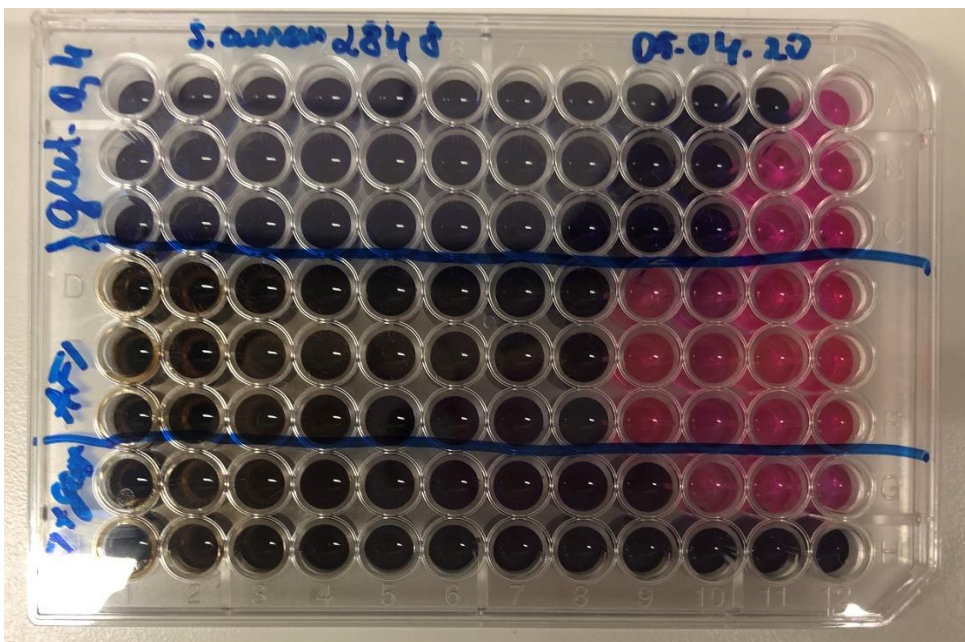
2.4. Metodes

2.5.1. Buljona mikroatšķaidījumu metode

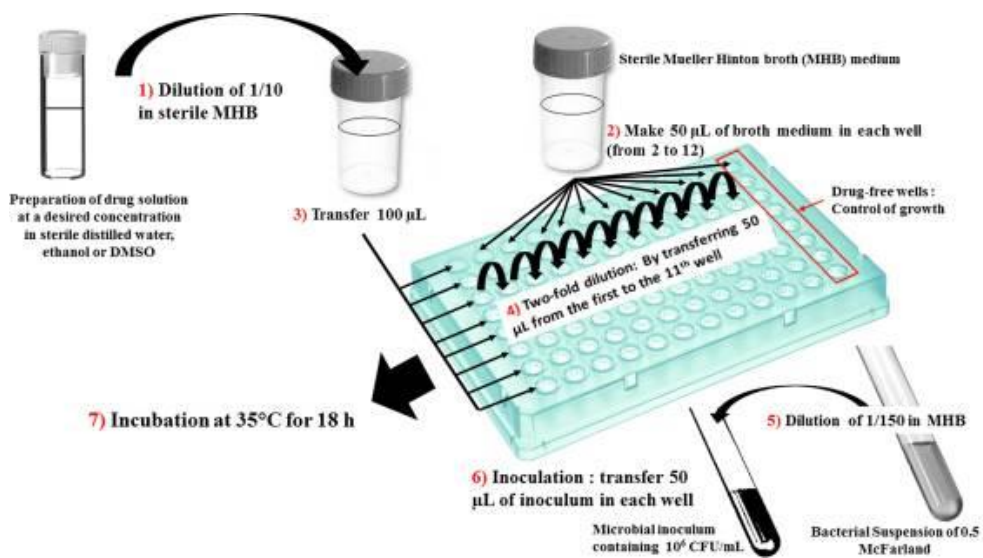
Buljona mikroatšķaidījuma metode ir viena no pamata baktēriju jutības noteikšanas metodēm. Šīs metodes ietvaros tiek izmantota 96 iedobju mikrotitrēšanas plate, un atšķaidījuma metode. Darba sākumā plate tiek papildīta ar buljonu, lai tas sekmētu baktēriju augšanu. Katrā iedobē ar elektroniskās mikropipetes palīdzību tiek iepildīts 100 μL buljona. Tad attiecīgi katrā rindā tiek pievienots antibiotiku šķīdums vai augu ekstrakts, vai arī to kombinācija. Šī maģistra darba ietvaros pirmajās trijās plates rindās, attiecīgi A, B un C tika iepildīts 100 μL antibiotiku šķīdums. Pirmajā gadījumā gentamicīna šķīdums (skatīt 2.2.att.), otrajā gadījumā ciprofloksacīna šķīdums. Mikrotitrēšanas plates 4., 5. un 6. rindā buljonam tika pievienots augu ekstraktu maisījums AFI (skatīt 2.2.att.), bet 7. – 8. rindā un nākošajā platē 1. rindā buljonam tika pievienots antibiotiku šķīdums un augu ekstraktu maisījums AFI (skatīt 2.2.att.). Pievienojot šķīdumu katrā iedobē tika šķīduma koncentrācija samazināta uz pusi. Attiecīgi pirmajā iedobē buljonam pievienoja 100 μL gentamicīna vai ciprofloksacīna šķīdumu, iedobē esošo šķīdumu samaisa ar mikropipetes palīdzību un paņem 100 μL no šīs iedobes un pārnes nākošajā iedobē, samaisa un pārnes 100 μL uz trešo iedobi (skatīt 2.4.att.). Šo darbību atkārti līdz iedobei A₁₂. Izmantojot šo pašu metodi iepilda plates iedobes ar augu ekstraktu preparātu AFI un arī kombināciju – AFI un antibiotiku šķīdumu, tikai šajā gadījumā pirmajā rindas iedobē, G rindā, buljonam pievieno gan 100 μL antibiotiku šķīdumu, gan 100 μL augu ekstraktu AFI šķīdumu, tad samaisa šķīdumu ar mikrotitrēšanas pipeti un pārnes 100 μL nākošajā iedobē, darbību atkārti līdz rindas galam. Apstrādātajai mikrotitrēšanas platei katrai iedobei pievieno 100 μL pēc McFarland standartizēto baktēriju šķīduma atšķaidījumu, uzliek platei vāku un ievieto termostatā uz 24 stundām 35 °C temperatūrā. Katrs gan antibiotiku, gan AFI, gan kombinācijas AFI un antibiotiku šķīdums tiek iepildīts trīs rindās, lai būtu trīs reizes atkārtojums. Lai nolasītu rezultātu un precīzāk noteiktu, kurā no iedobēm ir inhibēta baktēriju augšana un kurā baktērijas ir spējīgas augt, pēc 24 stundām mikrobioloģiskajās platēs tika pievienots 30 μl resazurīna šķīdums un plates tika ievietotas termostatā uz 4 stundām 35 °C. Resazurīna šķīdums dzīvo augošo baktēriju klātbūtnē kļūst aveņu sarkans, tādējādi var noteikt baktēriju augšanu (skatīt 2.3. att.).



2.2. att. Piepildīta mikrobioloģiskā plate izmantojot mikroašķaidījuma metodi. Attēls no autora personīgā arhīva.



2.3. att. Piepildīta mikrobioloģiskā plate izmantojot mikroašķaidījuma metodi ar resazurīna šķīdumu. Attēls no autora personīgā arhīva.



2.4.att. **Buljona mikroatšķaidījuma metodes shematisks attēlojums.** tiešsaistes attēls.
 pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762448/>, skatīts – 2020.03.05

3. REZULTĀTI

Rezultāti tika izteikti izmantojot *MIC* katram preparātam (gentamicīnam, ciprofloksacīnam un AFI) atsevišķi, bet lai noteiktu koncentrāciju preparātu kombinācijās, tas tika izteikts ar frakcionālo inhibējošo koncentrāciju (*FIC*). *FIC* raksturo zāļu/preparātu mijiedarbību. *FIC* indekss tiek izteikts kā *MIC* kombinācijā ($MIC_{\text{Avielai komb. A/B}} / MIC_{\text{vielai A}}$) pret šīs vielas $MIC_{\text{vielai A}}$ summējot šo dalījumu ar otras vielas kombinācijas $MIC_{\text{B vielas komb. A/B}}$ dalījumu ar $MIC_{\text{vielai B}}$. *FIC* formula izskatās šādi:

$$FIC = \frac{MIC_{\text{A vielai kombinācijā A/B}}}{MIC_{\text{A vielai}}} + \frac{MIC_{\text{B vielai kombinācijā A/B}}}{MIC_{\text{B vielai}}}$$

Sinergiskais efekts kombinācijā ir novērojams, ja *FIC* indekss $\leq 0,5$; ja *FIC* indekss ir robežās no 0,5 – 1,0, tad mijiedarbība uzrāda additīvu jeb pastiprinošu efektu; indierents efekts tiek uzrādīts, ja *FIC* indekss ir robežās no 1,0 – 4,0, bet ja $FIC > 4,0$, tad mijiedarbība uzrāda antagonismu (Sueke, 2010).

Abi baktēriju celmi, gan *S. aureus* ATCC 2848, gan *S. aureus* ATCC 704, tika ievietoti termostatā uz 24 stundām 35 °C un uzrādīja labu augšanas rezultātu zemākās vielu koncentrācijās. Visi iegūtie rezultāti ietilpst *MIC* references robežās. Visu darbā izmantoto preparātu iegūtie *MIC* rezultāti ietilpst robežās no 0,2930 – 0,8464 µg/ml.

Šī darba ietvaros tika izmantots preparāts gentamicīns, kuram attiecībā pret baktēriju *S. aureus* ATCC 2848 *MIC* ir pie vielas koncentrācijas 0,8464 µg/ml, bet attiecībā pret *S. aureus* ATCC 704 *MIC* ir koncentrācijā 0,5208 µg/ml. Ciprofloksacīnam *MIC* *S. aureus* ATCC 2848 ir pie koncentrācijas 0,2930 µg/ml, bet pret *S. aureus* ATCC 704 – 0,3255 µg/ml. AFI preparātam *MIC* pie baktērijas *S. aureus* ATCC 2848 iegūtais *MIC* ir 0,8138 µg/ml un *S. aureus* ATCC 704 *MIC* – 0,5289 µg/ml (skatīt 3.1.tabulu). Ar mikroatšķaidījuma metodi darba ietvaros tika pārbaudīti gentamicīns gala koncentrācijās no 0,2 mg/ml – 0,0977 µg/ml: - sākuma koncentrācija ir 0,4mg/ml. Ciprofloksacīns tika pārbaudīts gala koncentrāciju robežās no 0,05 mg/ml – 0,02441 µg/ml: - sākuma koncentrācija bija 0,1mg/ml. Preparāts AFI tika pārbaudīts koncentrācijās no 125 µg/ml – 0,06103 µg/ml, ar sākuma koncentrāciju 250 µg/ml.

3.1. tabula

Antibakteriālo līdzekļu un AFI preparāta MIC attiecībā pret <i>S. aureus</i> (µg/ml)			
	Gentamicīns	Ciprofloksacīns	AFI
<i>S. aureus</i> ATCC 2848	0,8464	0,2930	0,8138
<i>S. aureus</i> ATCC 704	0,5208	0,3255	0,5289

Preparātu kombinācijās, respektīvi gentamicīna un AFI kombinācijā un ciprofloksacīna kombinācijā ar AFI, tika noteikts *FIC* indekss, kurš parāda, vai vielu kombinācija uzrāda sinerģisku efektu, pastiprinošu jeb additīvu efektu, indiferentu efektu vai antagonismu. *FIC* indekss gentamicīnam mijiedarbojoties ar AFI pret baktēriju *S. aureus* ATCC 2848 un *S. aureus* ATCC 704, antibakteriālā līdzekļa kombinācija ar AFI uzrādīja additīvu jeb pastiprinošu efektu pret *S. aureus* ATCC 2848, *FIC* indekss ir 0,8885 un tas ietilpst robežās no 0,5 – 1,0, bet pret šī paša mikroorganisma citu celmu, klīnisko *S. aureus* ATCC 704 šī kombinācija uzrādīja indiferentu efektu, jo *FIC* = 1,6154 (skatīt 3.2.tabulu). Tā paša preparāta AFI kombinācija ar ciprofloksacīnu pret abiem baktēriju celmiem uzrādīja additīvu jeb pastiprinošu efektu. Ciprofloksacīns kombinācijā ar AFI pret *S. aureus* ATCC 2848 *FIC* indekss ir 0,6336, bet pret *S. aureus* ATCC 704 šis *FIC* indekss ir 0,7615 (skatīt 3.2.tabulu).

3.2. tabula

Antibakteriālo līdzekļu un preparāta AFI kombināciju <i>FIC</i> indekss attiecībā pret <i>S. aureus</i>		
	Gentamicīns ar AFI	Ciprofloksacīns ar AFI
<i>S. aureus</i> ATCC 2848	0,8885	0,6336
<i>S. aureus</i> ATCC 704	1,6154	0,7615

Aplūkojot rezultātus var secināt, ka šī preparāta AFI kombinācija ar antibakteriālajiem līdzekļiem sniedz pastiprinošu efektu, salīdzinot ar šo līdzekļu darbību individuālajā terapijā, bet ar hinolonu grupas antibakteriālo līdzekli - ciprofloksacīnu šie efekti ir labāki nekā ar aminoglikozīdu grupas pārstāvi - gentamicīnu.

4. DISKUSIJA

Šajā darbā tika pētīts augu ekstraktu preparāts AFI un antibakteriālo līdzekļu – gentamicīna un ciprofloksacīna mijiedarbība kombinācijā un salīdzināta ar to darbību atsevišķi, salīdzināšana tika veikta ar *FIC* indeksu, kurš izšķir četrus vielu mijiedarbību veidus – sinerģismu, additīvu jeb pastiprinošo efektu, indiferento efektu un antagonismu. Līdz ar to mazāks *FIC* indekss norāda uz lielāku papildinošo efektu, kas šajā gadījumā rezultētos ātrākā brūču dzīšanā.

Tika apskatītas divas kombinācijas: gentamicīns kombinācijā ar AFI preparātu un ciprofloksacīns kombinācijā ar AFI preparātu. Labāko rezultātu uzrādīja ciprofloksacīna kombinācija ar AFI preparātu pret baktēriju *S. aureus ATCC 2848*, šī kombinācija uzrādīja additīvu efektu aplūkojot *FIC* indeksa vērtības, jeb vielu kombinācija dod pastiprinošu efektu lielām mijiedarbojoties, kā arī šī kombinācija bija vistuvākā sinerģisma efektam. Tāpat arī labu efektivitāti uzrādīja ciprofloksacīna kombinācija ar AFI preparātu pret *S. aureus ATCC 704*, kurš ir klīniskais mikroorganisms, šis rezultāts bija nedaudz sliktāks kā pret *S. aureus ATCC 2848*, bet tāpat šī kombinācija dod pastiprinošu efektu arī pret šo baktēriju celmu. Šie rezultāti parāda, ka šī kombinācija iespējams sniegs papildus efektu izmantojot šo kombināciju medicīnā, piemēram, brūču ārstēšanai. Otra antibakteriālā līdzekļa, gentamicīna, kombinācija ar AFI preparātu uzrādīja nedaudz sliktākus rezultātus. Gentamicīna kombinācija pret baktēriju *S. aureus ATCC 2848* arī uzrādīja pastiprinošu efektu, bet pret šīs pašas baktērijas citu celmu, klīnisko *S. aureus ATCC 704*, kombinācija uzrādīja indiferentu efektu. Tas nozīmē, ka iespējams šī kombinācija, gentamicīns ar AFI preparātu, pret šo mikroorganismu lietojot medicīniskos nolūkos neuzrādītu labāku efektu nekā preparātu lietošana atsevišķi, vai arī uzlabojumi nebūtu tik ātri pamanāmi. Izvēloties no šīm kombinācijām medicīniskajā praksē, lai garantētu ātrāku brūču dzīšanas procesu vai lielāku efektu, ieteicamāka būtu kombinācija ciprofloksacīns ar AFI preparātu.

Vairāki zinātnieki ir pētījuši augu ekstraktu fitoķīmisko sastāvu un to aktīvo sastāvdaļu antimikrobiālo aktivitāti. Kā jau minēts iepriekš, šajā darbā tika izmantots augu ekstraktu preparāts AFI satur 11 dažādus augu ekstraktus, kuri ir atsevišķi pierādījuši savu antimikrobiālo aktivitāti.

Kādā pētījumā par augu bioaktīvo komponentu darbību auga, *Azadirachta indica*, etanola ekstrakts, kas iegūts no lapām un koka mizas, jāpiemin, ka šis augs arī ir AFI preparāta sastāvā, kombinācijā ar aminoglikozīdiem un karbapenēmiem uzrādīja antibakteriālo efektu pret *S. aureus*, *Escherichia coli* un *Pseudomonas aeruginosa*, jāpiemin, ka šis augs ir arī AFI preparāta sastāvā. Amikacīns kombinācijā ar augu *Azadirachta indica* uzrādīja sinerģisku efektu pret *Pseudomonas aeruginosa*, un sinerģisku efektu uzrādīja etanola ekstrakts arī ar

imipenēmu, amikacīnu vai gentamicīnu pret *Escherichia coli*, bet kombinācija ar imipenēmu šis mizas etanola ekstrakts uzrādīja sinerģisku efektu arī pret *S. aureus* celmiem (Stefanovic, 2018).

Viens no antimikrobiāliem augu kandidātiem, *Trianthema portulacastrum*, jauns augu valsts pārstāvis, kurš ir apstiprināts kā izcils antimikrobiāls līdzeklis. Ir apstiprināts, ka *Trianthema portulacastrum* lapas ir galvenā auga daļa, kura satur visvairāk fitoķīmiskos komponentus, kā arī visvairāk molekulas jaunu zāļu vielu izstrādē, kuras varētu nākotnē izmantot, lai ārstētu infekciju slimības. Šī auga lapas satur triantenolu, C – metilflavonus, leptomolu, triantemīns. Šajā pētījumā ir pierādīts, ka antimikrobiālo potenciālu uzrāda flavonoīdu frakcija auga lapās. Iepriekš nosauktās aktīvie komponenti pieder pie flavonoīdu grupas. Tomēr pastāv arī atšķirības starp dažādu šķīdinātāju pievienošanu ekstraktiem, šķīdinātāji atšķiras pēc polaritātes, tika izmantots ūdens, metanols un hlороforms. Antibakteriāls efekts tika pārbaudīts gan uz bakērijām, gan sēnīšu celmiem. Izmantoja sekojošas baktērijas – *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Proteus vulgaris* un *Klebsiella pneumoniae*, bet sēnītes – *Asperigillus niger*, *Asperigillus flavus*, *Asperigillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Mucor* un *Rhizopus*. Izmantojot agara difūzijas un disku metodes, rezultāti uzrādīja, ka visaugstāko antibakteriālo efektivitāti uzrādīja metanola ekstrakts. Ūdens ekstrakts uzrādīja viszemāko aktivitāti. Metanola ekstrakts bija visefektīvākais pret *Shigella flexneri* un *Escherichia coli*, un - vidēji efektīvs pret *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* un *Salmonella typhi*. *Klebsiella pneumonia* neuzrādīja jutību ekstraktiem, bet *Salmonella typhi* uzrādīja vienāu jutību pret visiem trīs ekstraktu veidiem. Izolētajām auga *Trianthema portulacastrum* fitoķīmiskajām frakcijām – alkaloīdiem, flavonoīdiem un fenoliem, tika veikta antibakteriālā un pretsēnīšu darbības analīze. Visefektīvāku antibakteriālo darbību uzrādīja flavonoīdu frakcija, tai sekoja alkaloīdi un fenoli. *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* un *Escherichia coli* bija jutīgāki flavonoīdu frakcijai. Flavonoīdu frakcija arī uzrādīja minimālo MIC un MBC (minimālo bakteriālo koncentrāciju) pret *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* un *Salmonella typhi*, uzrādot maksimālo antibakteriālo aktivitāti (Kavitha, 2014).

Cita pētījumā analizēja *in vitro* Ķīniešu tradicionālās medicīnas 4 augu ekstraktus: *M. officinalis*, *V. officinalis*, *M. charantia* un *D. genkwa*. MIC oksacilīnam un gentamicīnam pret meticilīna rezistentajiem *Staphylococcus aureus* celmiem bija, attiecīgi, 128 un 500 reizes augstāks nekā meticilīna jutīgajiem celmiem. Šis pētījums pavisam noteikti apstiprināja augsto antibakteriālo meticilīna rezistentajiem celmu rezistenci. Četri augu ekstrakti – *M. officinalis*, *V. officinalis*, *M. charantia* un *D. genkwa* uzrādīja anti – MRSA un anti – MSSA efektus. Visi tradicionālās ķīniešu medicīnas ekstrakti uzrādīja spēcīgāku inhibitoro efektu pret MRSA nekā

MSSA. Sinerģisma testēšanas rezultāti pastiprināja antibakteriālo efektu lietojot tos kombinācijās ar antibakteriālajiem līdzekļiem pret MRSA darbojoties uz tādiem augu ekstraktiem kā *M. officinalis*, *V. officinalis* un *D. genkwa*. (Kuok, 2017).

Interesanti, ka ir zinātniski pierādīta ne tikai augu ekstraktu efektivitāte papildterapijā vai kombinācijā ar antibiotikām, bet arī komponenti, kuri ir augu sastāvā, savā starpā lietojot kombinācijās ir uzrādījuši palielinātu antimikrobiālo aktivitāti. Monoterpēni un fenilpropanoīdi (kuri atrodami augu ekstraktos kā bioloģiski aktīvās vielas), kuri uzrāda augstu antimikrobiālo aktivitāti monoterapijā, kombinācijās ar citiem augu komponentiem uzrāda paaugstinātu ekstraktu bioaktivitāti. Šobrīd lielākā daļa no veiktajiem pētījumiem ir fokusēti tieši uz fenolu monoterpēnu (timola un karvakrola) un fenilpropanoīdu (piemēram, eugenola) mijiedarbību ar cietiem grupu komponentiem, pārsvarā ar citiem fenoliem, fenilpropanoīdiem, bet mazāk ar monoterpēniem un seskviterpēniem. Gan timols ar karvakrolu, gan šīs abas vielas kombinācijās ar eugenolu uzrādīja sinerģisku aktivitāti pret *Escherichia coli* celmiem. Mentols kombinācijā geraniolu un mentols kombinācijā ar timolu ir uzradījis sinerģismu arī pret *S.aureus*. Limonēns kombinācijā ar 1, 8 – cineolu arī uzradīja sinerģismu pret *S. aureus* un *Pseudomonas auruginosa*. Bet tāpat arī vairākas kombinācijas pret mikroorganismiem uzradīja vai nu additīvu vai antagonisma efektu (Bassole, 2012). Jāpiezīmē, ka mūsu preparātā ne velti pētījām augu kombināciju, nevis katru augu atsevišķi, jo ir zināms, ka dažādu augu kombinācija darbojas savādāk, nekā izmantojot tos atsevišķi, un šīs kombinācijas plaši izmanto tradicionālajā Indijas Ājurvēdas farmakopejā.

Šobrīd ļoti aktīvi tiek meklēta alternatīva antimikrobiālajiem medikamentiem vai arī dažādu vielu kombinācijas. Ļoti bieži pētījumos tiek pārbaudīti vienu komponentu vai arī vairāku komponentu augu ekstrakti kombinācijā ar antibiotikām. Vienā no pētījumiem, kura tika pārbaudīta neinhibējošo antibiotiku mijiedarbība ar trīskāršu augu ekstraktu maisījumu (*Rehum palmatum* (Ķīnas rabarbers), *Glycyrrhiza glabra* (Kailā lakrica), *Cassia angustifolia* (Smaillapu kasija)), šī kombinācija uzradīja sinerģisku efektu antibakteriālajā darbībā. Šajā pētījumā gentamicīns (10µg) inhibēja visus pētījumā izmantotos baktēriju izolātus, viszemāko sinerģismu uzradīja cefoperazons (75 µg), kurš inhibēja tikai vienu no *S. aureus* izolātiem un tikai tādā gadījumā, ja pētījuma gaitā tika pievienots ceftazidīns (30 µg), līdz ar to cefoperazons uzradīja sinerģismu tikai pievienojot ceftazidīnu. Pētījumā tika pārbaudīti 5 dažādi *S. aureus* izolāti (viens klīniskais un 4 izolāti ieguti no Ēģiptes slimnīcu notekūdeņiem) un *Alcaligenes xylosoxidans*. Spektomicīns (30 µg) inhibēja 3 no 5 izolātiem un tobramicīns (10 µg) tikai 1 izolātu. Tāpat arī šis trīskāršais augu ekstraktu maisījums uzradīja antibakteriālo aktivitāti pret visiem baktēriju izolātiem, bet ievērojami zemāku aktivitāti nekā kombinācijas ar antibiotikām (Dawoud, 2013).

Pārbaudot sinerģisko aktivitāti pētījumā, kura tika pārbaudīti *Camellia sinensis* (Zaļās tējas) un *Juglans regiae* (Īstais riekstkoka jeb valriekstkoka) ekstrakti divās dažādās kombinācijās uzrādīja spēcīgu sinerģismu. *Camellia sinensis* kombinācijā ar nalidikskābi inhibēja *S. typhi* sub – MIC. Tāpat tika panākta ievērojama MIC samazināšanās nalidikskābei, un tas arī iskaidro spēcīgo sinerģisko efektu (FIC = 0,37) šajā kombinācijā. *Juglans regia* gadījumā MIC koncentrācija samazinājās 10 reizes pret *S. aureus*, lietojot *Juglans regia* kombinācijā ar oksacilīnu. Šajā kombinācijā oksacilīns inhibēja MRSA celmu 0,312 µg/ml koncentrācijā, un tā ir 64 reizes zemāka nekā MIC oksacilīnam individuāli un tas indicē arī meticilīna rezistences reversiju, lietojot kopā ar *Juglans regia* (Farooqui, 2015).

Japiezīmē, ka būtu vērtīgi, ja mūsu pētījumā analizēto ekstraktu varētu izpētīt arī darbojoties uz MRSA, ne tikai uz MSSA, jo tieši šis mikroorganisms ir viens no bīstamākajiem bakteriālo infekciju izraisītājiem, tāpat arī vērtīgi būtu šajā darbā izmantotās metodes un aktīvo vielu darbību pārbaudīt pret Gram – negatīvajām baktērijām, jo pēc literatūras datiem, tad šo baktēriju izraisītās infekciju slimības ir izturīgākas pret dažādiem antibakteriālajiem līdzekļiem un šīs infekcijas ir sarežģītāk ārstējamas (Zanelja, 2014).

Pētījumā, kura tika apskatīti literatūras dati par diabētisko pēdu veidojošajiem patogēniem atklājās, ka īsti nav zināms vai diabētiskās pēdas infekcija, ko izraisa MRSA ir klīniski atšķirīga no infekcijas, kuru izraisījuši citi patogēni. Tomēr atklājās, ka diabētiskās pēdas infekcijas ārstēšanas procesā izvērtējot izvēlētos ārstēšanas līdzekļus dažādos pētījumos pret MRSA, rezultāti uzrādīja daudz vairāk neveiksmīgu ārstēšanas gadījumu nekā pret citiem infekciju izraisošiem patogēniem (Zanelaj, 2014).

Pēc autora domām jaunas metodes, kā arī jaunas vielas, kuras izmantot infekciju slimību ārstēšanā, arī tādas antibakteriālās vielas, kuras neveicina mikrobiālo rezistenci tiek un tiks meklētas nākotnē arvien vairāk, jo infekciju slimības ir viens no lielākajiem draudiem visai pasaulei. Mikroorganismi paliek arvien spējīgāki pielāgoties antibakteriāliem līdzekļiem, tāpēc arī jaunas metodes ir nepieciešamas, lai novērstu rezistences rašanos klīniski svarīgos baktēriju celmos.

SECINĀJUMI

1. Maģistra darba ietvaros ar buljona mikroatšķaidījuma metodi tika noteikta MIC gentamicīnam darbojoties uz *S. aureus* ATCC 2848 un *S. aureus* ATCC 704. Gentamicīna MIC noteikta, attiecīgi, 0,8464 µg/ml un 0,5208 µg/ml.
2. Darba ietvaros ar buljona mikroatšķaidījuma metodi tika noteikta arī ciprofloksacīna MIC darbojoties uz *S. aureus* ATCC 2848 un *S. aureus* ATCC 704. Ciprofloksacīna MIC noteikta, attiecīgi, 0,2930 µg/ml un 0,3255 µg/ml.
3. Darba ietvaros ar buljona mikroatšķaidījuma metodi tika noteikta arī augu preparāta AFI MIC darbojoties uz *S. aureus* ATCC 2848 un *S. aureus* ATCC 704. AFI preparāta MIC noteikta, attiecīgi, 0,8138 µg/ml un 0,5289 µg/ml.
4. Kombinācijas “gentamicīns ar AFI preparātu” rezultāti uzrādīja additīvu efektu pret *S.aureus* ATCC 2848, bet indiferentu efektu pret *S.aureus* ATCC 704, jo noteiktais FIC indekss, attiecīgi, 0, 8885 un 1,6154.
5. Kombinācijas “ciprofloksacīns ar AFI preparātu” rezultāti uzrādīja additīvu efektu pret abiem *S. aureus* celmiem, jo noteiktais FIC indekss, attiecīgi, 0,6336 un 0,7615.
6. No šīm abām antibakteriālo līdzekļu kombinācijām ar AFI preparātu labāk darbojās kombinācija “ciprofloksacīns ar AFI preparātu”, jo iegūtais rezultāts bija tuvāks sinerģiskajam efektam, pētījumā uzrādot additīvu efektu pret abiem *S. aureus* celmiem.

LITERATŪRAS SARAKSTS

1. Murray P.R., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover K.S., Medical Microbiology, Fifth edition, Elsevier Inc., Pensilvānija, 2005, 14 – 399 lpp, ISBN – 13: 978 – 323 – 03303 – 9
2. Žilēviča A., Mazjānis I., Medicīnas mikrobioloģija, I daļa, LU Akadēmiskajai apgāds, Rīga, 2014, 47 – 48 lpp, ISBN 978-9984-45-878-6
3. Loïc Léger, Aurélie Budin-Verneuil, Margherita Cacaci, Abdellah Benachour, Axel Hartke, Nicolas Verneuil, β -Lactam Exposure Triggers Reactive Oxygen Species Formation in *Enterococcus faecalis* via the Respiratory Chain Component DMK, Cell Reports, Volume 29, Issue 8, 2019, Pages 2184-2191.e3, ISSN 2211-1247, tiešsaiste, pieejams - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124719314020>, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.10.080>. skatīts – 2020.03.04
4. Caroline G. Sanz, Silvia H.P. Serrano, Christopher M.A. Brett, Electrochemical characterization of cefadroxil β -lactam antibiotic and Cu(II) complex formation, Journal of Electroanalytical Chemistry, Volume 844, 2019, Pages 124-131, ISSN 1572-6657, tiešsaiste – pieejams - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1572665719303418>, <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.04.077>. skatīts – 2020.03.04
5. Leticia I Llarull, Sebastian A Testero, Jed F Fisher, Shahriar Mobashery, The future of the β -lactams, Current Opinion in Microbiology, Volume 13, Issue 5, 2010, Pages 551-557, ISSN 1369-5274, tiešsaiste, pieejams - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527410001359>, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.09.008>. skatīts – 2020.03.04
6. Heinrich M., Barnes J., Gibbons S., Williamson E. M., Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy, Churchill Livingstone, Spānija, 2004, ISBN 0-443-07132-2
7. Kong K. F., Schnepfer L., Mathee K., Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. APMIS. 2010, 118(1):1-36. tiešsaiste, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2894812/>, doi: 10.1111/j.1600-0463.2009.02563.x. PMID: 20041868; PMCID: PMC2894812, skatīts – 08.03.2020
8. Fernandes R., Amador P., Prudêncio C., β -Lactams: chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance, Reviews in Medical Microbiology, 2013, 24:7–17, tiešsaiste, pieejams - https://journals.lww.com/revmedmicrobiol/Fulltext/2013/01000/Lactams_chemical_structure_mode_of_action_and.2.aspx, skatīts – 08.03.2020, doi: 10.1097/MRM.0b013e3283587727

9. Ribeiro A. R., Sures B., Schmidt T. C., Cephalosporin antibiotics in the aquatic environment: A critical review of occurrence, fate, ecotoxicity and removal technologies, *Environmental Pollution*, Volume 241, 2018, 1153-1166 lpp. ISSN 0269-7491, tiešsaite, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:2076/science/article/pii/S0269749118315483>, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.040>, skatīts – 08.03.2020
10. Fuoco D., Classification Framework and Chemical Biology of Tetracycline-Structure-Based Drugs, *Antibiotics*, Volume 1, 2012, 1 – 13 lpp. tiešsaite, pieejams - <https://www.mdpi.com/2079-6382/1/1/1/htm>, <https://doi.org/10.3390/antibiotics1010001>, skatīts – 08.03.2020
11. Pham T. D. M., Ziora Z. M., Blaskovich M. A. T., Quinolone antibiotics. *Medchemcomm*, 2019, Jun 28;10(10):1719-1739. tiešsaite, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6836748/>, doi: 10.1039/c9md00120d. PMID: 31803393; PMCID: PMC6836748. skatīts – 10.03.2020
12. Aldred K. J., Kerns R. J., Osheroff N., Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*. 2014, Mar 18;53(10):1565-74. tiešsaite, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3985860/>, doi: 10.1021/bi5000564. Epub 2014 Mar 7. PMID: 24576155; PMCID: PMC3985860, skatīts – 10.03.2020
13. Drlica K., Malik M., Kerns R. J., Zhao X., Quinolone-Mediated Bacterial Death, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 52, No.2, 2008, tiešsaite, pieejams - <https://aac.asm.org/content/aac/52/2/385.full.pdf>, doi:10.1128/AAC.01617-06, skatīts – 10.03.2020
14. Ritter J. M., Flower R., Hendersons G., Loke Y. K., MacEwan D., Rang H. P., *Pharmacology*, Ninth edition, Elsevier Ltd., China, 2020, 661 – 667 lpp., ISBN: 978-0-7020-7448-6
15. Thomas G., *Medicinal chemistry. An introduction*, second edition, John Wiley & Sons, Anglija, 2009, 234 – 241 lpp., ISBN: 978-0-470-02597-0, ISBN: 9798-0-470-02598-7
16. Shahbaz K., Cephalosporins: pharmacology and chemistry, *Pharmaceutical and Biological Evaluations*, Volume 4, Issue 6, 2017, 234 – 238 lpp, ISSN 2394-0859, tiešsaite, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/321537458_Cephalosporins_pharmacology_and_chemistry, DOI: [10.26510/2394-0859.pbe.2017.36](https://doi.org/10.26510/2394-0859.pbe.2017.36), skatīts – 11.03.2020
17. Chen C. H., Huang C. L., He M. S., Huang F. C., Lin W. C., Characterisation of the β -lactam resistance enzyme in *Acanthamoeba castellanii*, *International Journal of Antimicrobial Agents*, Volume 55, Issue 2, 2020, ISSN 0924-8579, tiešsaite, pieejams -

- <https://datubazes.lanet.lv:2076/science/article/pii/S092485791930278X>,
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.10.004>., skatīts – 16.03.2020
18. Gaurav K., Karmakar S., Kundu K., Kundu S., Design, Development and Synthesis of Novel Cephalosporin Group of Antibiotics, Antibiotic Resistant Bacteria - A Continuous Challenge in the New Millennium, 2012, 487-502 lpp., ISBN: 978-953-51-0472-8, tiešsaiste, pieejams - <https://api.intechopen.com/chapter/pdf-preview/34706>, skatīts – 16.03.2020
19. Lobanovska M, Pilla G., Penicillin's Discovery and Antibiotic Resistance: Lessons for the Future? ,Yale J Biol Med., 2017, 29;90(1):135-145. PMID: 28356901; PMCID: PMC5369031. tiešsaiste, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5369031/>, skatīts – 24.03.2020
20. Ahmed M. J., Adsorption of quinolone, tetracycline, and penicillin antibiotics from aqueous solution using activated carbons: Review, Environmental Toxicology and Pharmacology, Vol. 50, 2017, 1 – 10 lpp., ISSN 1382-6689, <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.01.004>., tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:2076/science/article/pii/S1382668917300042>, skatīts – 24.03.2020
21. Bennett J. E., Dolin R., Blaser M. J., Penicillins and β -Lactamase Inhibitors, Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 9th edition, Elsevier Inc., 2020, 251 – 267 lpp., tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:5250/#!/content/book/3-s2.0-B9780323482554000205?scrollTo=%23h10001973>, skatīts – 24.03.2020
22. Kardos, N., Demain, A.L., Penicillin: the medicine with the greatest impact on therapeutic outcomes, *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, **92**, 677–687, tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:4876/10.1007/s00253-011-3587-6> , skatīts – 25.03.2020
23. Bush K., Bradford, P., A., β -Lactams and β -Lactamase inhibitors: An Overview, Cold Spring Harb Perspect Med, 2016, tiešsaiste, pieejams - <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/6/8/a025247.full.pdf+html>, doi: 10.1101/cshperspect.a025247, skatīts – 25.03.2020
24. Papp-Wallace K. M., Bonomo R. A., New β -Lactamase Inhibitors in the Clinic, Infectious Disease Clinics of North America, Volume 30, Issue 2, 441-464 lpp, 2016, tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:5250/#!/content/journal/1-s2.0-S0891552016300137>, <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.007> , skatīts – 25.03.2020

25. Drawz S. M., Bonomo R. A., Three decades of beta-lactamase inhibitors, *Clinical microbiology reviews*, vol. 23, 2010, 160-201 lpp, tiešsaiste, doi: [10.1128/CMR.00037-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00037-09), PMID: 20065329; PMCID: PMC2806661, skatīts – 25.03.2020
26. Denis O., Rodriguez-Villalobos H., STruelens M. J., CHAPTER 3, The problem of resistance, Antibiotic and Chemotherapy, 9th edition, CHAPTER 3, 24-48 lpp, 2010, tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:5250/#!/content/book/3-s2.0-B9780702040641000038?scrollTo=%23hl0000266>, skatīts – 25.03.2020
27. Kanoh S., Rubin B. K., Mechanisms of Action and Clinical Application of Macrolides as Immunomodulatory Medications, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 23, No. 3., 2010, tiešsaiste, pieejams - <https://cmr.asm.org/content/cm/23/3/590.full.pdf>, doi:10.1128/CMR.00078-09, skatīts – 25.03.2020
28. Holstiege J., Enders D., Schink, T., Innocenti F., Oteri A., Bezemer I., Kaguelidou F., Molokhia M., Poluzzi E., Puccini A., Ulrichsen S. P., Sturkenboom M. C., Trifiro G., Garbe E., Trends in paediatric macrolide use in five European countries - a population-based study. *Eur J Clin Pharmacol*, **71**, 991–999 (2015). tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:4876/10.1007/s00228-015-1870-7> , skatīts – 26.03.2020
29. Roberts M. C., Resistance to macrolide, lincosamide, streptogramin, ketolide, and oxazolidinone antibiotics, *Molecular Biotechnology*, Volume 28, No. 47, 2004, tiešsaiste, pieejams- <https://datubazes.lanet.lv:4876/10.1385/MB:28:1:47>, skatīts – 26.03.2020
30. Dinos G. P., The macrolide antibiotic renaissance. *British journal of pharmacology* vol. 174 No. 18, 2017, 2967-2983 lpp, tiešsaiste, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5573421/>, doi:10.1111/bph.13936, skatīts – 26.03.2020
31. Wierzbowski A. K., Hoban D. J., Hisanaga T., DeCorby M., Zhanel G. G., The use of macrolides in treatment of upper respiratory tract infections, *Current Allergy and Asthma Reports* ,Volume 6, 171 – 181 lpp, 2006, tiešsaiste, pieejams - <https://datubazes.lanet.lv:4876/10.1007/s11882-006-0056-x>, skatīts – 26.03.2020
32. Fohner A. E., Sparreboom A., Altman R. B., Klein T.E., PharmGKB summary: Macrolide antibiotic pathway, pharmacokinetics/pharmacodynamics, Pharmacogenetics and genomics, 2017, tiešsaiste, pieejams - <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA166160731>, PMID: 28146011, PMCID: PMC5346035, DOI:10.1097/FPC.0000000000000270, skatīts – 26.03.2020
33. Marriner G., Nayyar A., Uh E., Wong S., Mukherjee T., Via L., Carroll M., Edwards R., Gruber T., Choi I., Lee J., Arora K., England K., Bosholl H., Barry C., The Medicinal Chemistry of Tuberculosis Chemotherapy, *Topics in Medicinal Chemistry*, Vol. 7. 47-

- 124lpp, 2011, tiešsaiste, pieejams -
<https://www.researchgate.net/publication/225985911> The Medicinal Chemistry of Tuberculosis Chemotherapy, DOI: 10.1007/7355_2011_13, skatīts – 26.03.2020
34. Breijyeh Z., Jubeh B., Karaman R., Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It, *Molecules*, Vol. 25, No. 6 (1340), 2020, tiešsaiste, pieejams - <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/6/1340>, PMID:32187986, DOI: 10.3390/molecules25061340, skatīts – 27.03.2020
35. Kilgore P. E., Salim A. M., Zervos M. J., Schmitt H. J., Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention, *Clinical microbiology reviews*, 2016, 29(3), 449–486 lpp., <https://doi.org/10.1128/CMR.00083-15>, tiešsaiste, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4861987/>, skatīts – 30.03.2020
36. Ashwini P., Sumana M. N., Shilpa U., Mamatha P., Manasa K., Dhananjaya B., L., Farhan Z., Nagendra P. M. N., A review on Helicobacter pylori: its biology, complications and management, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2015, Vol. 7, ISSN- 0975-1491, tiešsaiste, pieejams - <https://www.researchgate.net/publication/281631501> A review on Helicobacter pylori its biology complications and management, skatīts – 30.03.2020
37. Santos G. S., Solidonio E. G., Costa M. C. V. V., Melo R. O. A., Souza I. F. A. C., Silva-Lacerda G., Sena K. X. F. R., Study of the Enterobacteriaceae Group CESP (Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Providencia, Morganella and Hafnia): A Review, *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (A. Méndez-Vilas, Ed.), 2015, tiešsaiste, pieejams - <https://www.researchgate.net/publication/297730985> Study of the Enterobacteriaceae Group CESP Citrobacter Enterobacter Serratia Providencia Morganella and Hafnia A Review, skatīts – 30.03.2020
38. Jennison A. V., Verma N. K., Shigella flexneri infection: pathogenesis and vaccine development, *FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 28, Issue 1, 2004, Pages 43–58, <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2003.07.002>, tiešsaiste, pieejams - <https://academic.oup.com/femsre/article/28/1/43/635550>, skatīts – 30.03.2020
39. Krzysciak W., Pluskwa K., Jurczak A., Koscielniak D., The pathogenicity of the Streptococcus genus, *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 2013, tiešsaiste, DOI: 10.1007/s10096-013-1914-9, pieejams - <https://www.researchgate.net/publication/258061291> The pathogenicity of the Streptococcus genus, skatīts – 30.03.2020

40. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* 2016;6(2):71–79, tiešsaite, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762448/>, doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005
41. Tong S., Davis J., Eichenberger E., Holland T., Fowler V., Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 28, Nr. 3, 2015, doi:10.1128/CMR.00134-14, tiešsaite, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/277975362_Staphylococcus_aureus_Infections_Epidemiology_Pathophysiology_Clinical_Manifestations_and_Management, skatīts – 03.04.2020
42. Akanbi O. E., Njom H. A., Fri J., Otigbu A. C., Clarke A. M., Antimicrobial Susceptibility of Staphylococcus aureus Isolated from Recreational Waters and Beach Sand in Eastern Cape Province of South Africa, *International journal of environmental research and public health*, Vol. 14, nr. 1001, 2017, doi:10.3390/ijerph14091001, tiešsaite, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5615538/>, skatīts – 03.04.2020
43. Gnanamani A., Hariharan P., Paul-Satyaseela M., Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach, IntechOpen, 2017, <http://dx.doi.org/10.5772/67338>, tiešsaite, pieejams - <https://www.intechopen.com/books/frontiers-in-i-staphylococcus-aureus-i-staphylococcus-aureus-overview-of-bacteriology-clinical-diseases-epidemiology-antibiotic-resistance->, skatīts – 03.04.2020
44. Al-Bahry S.N., Mahmoud I.Y., Al-Musharafi S.K., Sivakumar N., Staphylococcus aureus Contamination during Food Preparation, Processing and Handling, *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 5, No. 5, 2014, DOI: 10.7763/IJCEA.2014.V5.415, tiešsaite, pieejams - <http://www.ijcea.org/papers/415-N0001.pdf>, skatīts – 03.04.2020
45. Goncalves E., Carvalhal R., Mesquita R., Azavedo J., Coelho M. J., Magalhaes R., Ferraz M. P., Manso M. C., Gavinha S., Pina C., Cardoso I. L., Detection of Staphylococcus aureus(MRSA/MSSA) in surfaces of dental medicine equipment, *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol. 27, 2019, 1003 – 1008p., <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.12.003>, tiešsaite, pieejams - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X1930289X?via%3Dihub>, skatīts – 03.04.2020

46. Coates A., Hu Y., Bax R., Page C., The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs, *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, Vol.1, p. 895 – 910, DOI: 10.1038/nrd940, tiešsaite, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/11050644_Coates_A_Hu_Y_Bax_R_Page_C_The_future_challenges_facing_the_development_of_new_antimicrobial_drugs_Nature_Review_Drug_Discov_1_895-910, skatīts – 16.03.2020
47. Chanda S., Rakholiya K., Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases, *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, Indija, 2011, tiešsaite, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/268064090_Combination_therapy_Synergism_between_natural_plant_extract_and_antibiotics_against_infectious_diseases, skatīts – 15.04.2020
48. Ayurvedic Formulary of India (AFI), 2003. Part I, 2nd edition, Government of India, Ministry of Health and Family Welfare, Department of Indian system of Medicines and Homeopathy, India, pages 246-247, pieejams - <https://vdocuments.mx/afi-part-i-part-a-formulations.html>
49. Deepthi V., Pradeep, Karanja Leaf –A pharmacognostical and phytochemical analysis, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2016; 5(5): 148-151, ISSN: 2278-4136, tiešsaite, pieejams - <http://www.phytojournal.com/archives/2016/vol5issue5/PartC/5-4-37-833.pdf>, skatīts – 20.04.2020
50. Bayati Zadex J., Kor Mohradi Z., Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn) As a Valuable Medicinal Plant, *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, Volume 1, Issue 10, 2013, pages 1281-1288, tiešsaite, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/268502890_Licorice_Glycyrrhiza_glabra_Linn_As_a_Valuable_Medicinal_Plant, skatīts – 20.04.2020
51. Snigdha M., Kumar S.S., Mohapatra S., Deepa C., An overview on *Vetiveria zizanioides*, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2013, Volume 4, Issue 3 ISSN: 0975-8585, tiešsaite, pieejams - [https://www.rjpbcs.com/pdf/2013_4\(3\)/\[81\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2013_4(3)/[81].pdf), skatīts – 20.04.2020
52. Patil R., Mohan M., Kasture V., Kasture S.,). *Rubia cordifolia*: a review. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 2009, 9(1), 1-13, DOI 10.3742/OPEM.2009.9.1.001, tiešsaite, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/244943682_Rubia_cordifolia_a_review, skatīts – 20.04.2020

53. Rajan S., Shalini R., Bharathi C., Aruna V., Elfin A., Brindha P., Pharmacognostical and Phytochemical Studies on Hemidesmus Indicus Root, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2011;3(3): 74-79, ISSN: 0975 4873, tiešsaiste, pieejams - <http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/3/IJPPR,Vol3,Issue3,Article7.pdf>, skatīts – 21.04.2020
54. Das S., Naik P., Panda P., Effect of Hemidesmus indicus R.Br. root extract on urinary tract infection causing bacteria, International Journal of Herbal Medicine 2017; 5(5): 160-168, tiešsaiste, pieejams - <http://www.florajournal.com/archives/2017/vol5issue5/PartC/6-5-16-103.pdf>, skatīts – 21.04.2020
55. Jain S., Shrivastava S., Nayak S., Sumbhate S., Recent trends in Curcuma Longa Linn., Pharmacognosy Reviews, Vol 1, Issue 1, 2007, tiešsaiste, pieejams - <http://www.phcogrev.com/article/2007/1/1-12>, skatīts – 21.04.2020
56. Mazumder P., Das S., Das S., Das M. K., PHYTO - PHARMACOLOGY OF BERBERIS ARISTATA DC: A REVIEW, Journal of Drug Delivery & Therapeutics; 2011, 1(2): 46, ISSN: 2250 -1177, tiešsaiste, pieejams - <http://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/34/21>, skatīts – 21.04.2020
57. Sharma N., Pathania V., Singh B., Gupta R. C., Intraspecific variability of main phytochemical compounds in *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. from North Indian higher altitude Himalayas using reversed-phase high-performance liquid chromatography, Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 6(16), pp. 3181-3187, 2012, DOI: 10.5897/JMPR11.1670, tiešsaiste, pieejams - http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380873129_Sharma%20et%20al.pdf, skatīts – 21.04.2020
58. Mehta D., Sharma A. K., Gastro-Protective Potential of *Trichosanthes Dioica* in Experimental Animals, American Journal of PharmTech Research, 2015; 5(6), ISSN: 2249-3387, tiešsaiste, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/230584805_TRICHOSANTHES_DIOICA_ROXB_A_REVIEW_ON_PHARMACOLOGICAL_UPDATE, skatīts – 21.04.2020
59. Ramadass N., Subramanian N., Study of phytochemical screening of neem (*Azadirachta indica*), International Journal of Zoology Studies, Vol. 3, I. 1, 2018, pages 209-212, ISSN: 2455-7269, tiešsaiste, pieejams - https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=4&ved=2ahUKEwjt4uuqi_joAhWQtYsKHQYbCw4QFjADegQIAhAB&url=http%3A%2F%2Fwww.zoologyjournals.com%2Fdownload%2F269%2F3-1-49-588.pdf&usg=AOvVaw0Wq6vxPPlnRPbiAnz3dixJ, skatīts – 21.04.2020

60. Patil S. M., Saini R., Anticonvulsant Activity of Methanolic Extract of *Jasminum grandiflorum* Linn in Experimental Animals, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, Vol. 3 I. 2, p. 43 – 49, ISSN: 0975-8585, tiešsaiste, pieejams - [https://www.rjpbcs.com/pdf/2012_3\(2\)/\[7\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2012_3(2)/[7].pdf), skatīts – 21.04.2020
61. Mehta D., Sharma A. K., Cephalosporins: A Review on Imperative Class of Antibiotics, *Inventi Rapid: Molecular Pharmacology* Vol. 2016, I. 1, ISSN 0976-3856, tiešsaiste, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/287294165_CEPHALOSPORINS_A_REVIEW_ON_IMPERATIVE_CLASS_OF_ANTIBIOTICS, skatīts – 21.04.2020
62. Krause K. M., Serio A. W., Kane T. R., Connolly L. E., Aminoglycosides: An Overview, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2016, June, pages 1 – 18, doi: 10.1101/cshperspect.a027029, tiešsaiste, pieejams - https://www.researchgate.net/publication/303743017_Aminoglycosides_An_Overview, skatīts – 21.04.2020
63. Kumar L., Brice J., Toberer L., Klein-Seetharaman J., Knauss D., Sarkar S. K., Antimicrobial biopolymer formation from sodium alginate and algae extract using aminoglycosides, *PLoS ONE*, 2019, Vol. 14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214411>, tiešsaiste, pieejams - https://pdfs.semanticscholar.org/4556/018556f6484821db8e8097e8a67dec05e3de.pdf?_ga=2.115125634.408779292.1587331323-181366227.1586899172, skatīts – 21.04.2020
64. Chittapragada M., Roberts S., Ham Y. W., Aminoglycosides: Molecular Insights on the Recognition of RNA and Aminoglycoside Mimics, *Perspectives in Medicinal Chemistry* 2009, Vol. 3, pages 21–37, tiešsaiste, pieejams - https://www.scienceopen.com/document_file/e65c4c73-4fc5-45a2-a107-505c79075431/PubMedCentral/e65c4c73-4fc5-45a2-a107-505c79075431.pdf, skatīts – 21.04.2020
65. Roberts M. C., George M. Eliopoulos, Tetracycline Therapy: Update, *Clinical Infectious Diseases*, 2003, Vol. 36, Issue 4, pages 462–467, tiešsaiste, pieejams - <https://academic.oup.com/cid/article/36/4/462/440053>, <https://doi.org/10.1086/367622>, skatīts – 22.04.2020
66. Weinberg M. A., Bral M., Tetracycline and Its Analogues: a Therapeutic Paradigm in Periodontal Diseases. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 1998, Vol. 9, Issue 3, pages 322–332, tiešsaiste, <https://doi.org/10.1177/10454411980090030501>, pieejams - <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/10454411980090030501#articleCitationDownloadContainer>, skatīts – 22.04.2020

67. Lakhundi S., Zhang K., Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 31, Issue 4, 2018, <https://doi.org/10.1128/CMR.00020-18>, tiešsaiste, pieejams - <https://cmr.asm.org/content/31/4/e00020-18.short>, skatīts – 27.04.2020
68. Stefanovic O. D., Synergistic Activity of Antibiotics and Bioactive Plant Extracts: A Study Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria, IntechOpen, 2018, DOI: 10.5772/intechopen.72026, tiešsaiste, pieejams - <https://www.intechopen.com/books/bacterial-pathogenesis-and-antibacterial-control/synergistic-activity-of-antibiotics-and-bioactive-plant-extracts-a-study-against-gram-positive-and-g>, skatīts – 27.04.2020
69. Andrews J. M., Determination of minimum inhibitory concentrations, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2001, Vol. 48, pages 5–16, https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5, tiešsaiste, pieejams - https://academic.oup.com/jac/article/48/suppl_1/5/2473513, skatīts – 28.04.2020
70. Sueke H., Kaye S. B., Neal T., Hall A., Tuft S., Parry C. M., An In Vitro Investigation of Synergy or Antagonism between Antimicrobial Combinations against Isolates from Bacterial Keratitis, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, August 2010, Vol. 51, No. 8, pages 4151 – 4155, doi: <https://doi.org/10.1167/iovs.09-4839>, tiešsaiste, pieejams - <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2126890>, skatīts – 05.05.2020
71. Bassole I. H. N., Juliani H. R., Essential oils in combination and their antimicrobial properties, *Molecules*, 2012, Vol. 17, pages 3989-4006, doi: [10.3390/molecules17043989](https://doi.org/10.3390/molecules17043989), PMID:22469594, tiešsaiste, pieejams - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6268925/>, skatīts – 06.05.2020
72. Dawoud M. E. A., Mawgoud Y. A., Dawoud M. G., Synergistic interactions between plant extracts, some antibiotics and/or their impact upon antibiotic-resistant bacterial isolates, *African Journal of Biotechnology*, 2013, Vol. 12, pages 3835 – 3846, DOI: 10.5897/AJB11.4168, ISSN 1684-5315, pieejams - <https://academicjournals.org/journal/AJB/article-stat/0C6DAF623789>, skatīts – 06.05.2020
73. Kavitha D., Parvatham R., Padma P. R., ASSESSMENT OF *TRIANTHEMA PORTULACASTRUM* FOR ITS ANTIMICROBIAL POTENTIAL AND INVESTIGATION OF THEIR PHYTOCHEMICALS USING HPTLC, GC-MS, AND IR, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 6, Issue 1, ISSN – 0975 - 1491

74. Kuok C. F., Hoi S. O., Hoi C. F., Chan C. H., Fong I. H., Ngok C. K., Meng L. R., Fong P., Synergistic antibacterial effects of herbal extracts and antibiotics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A computational and experimental study, *Experimental Biology and Medicine*, 2017, pages 731 – 743, DOI: 10.1177/1535370216689828
75. Zanelaj, B., Bouvet C., Lipsky B. A., Uckay I., Do Diabetic Foot Infections With Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Differ From Those With Other Pathogens?, *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 2014, Vol 13, Issue 4, pages 263 – 272, DOI: 10.1177/1534734614550311
76. Farooqui A., Khan A., Borghetto I., Kazmi S. U., Rubino S., Paglietti B., Synergistic antimicrobial activity of *Camellia sinensis* and *Juglans regia* against multidrug-resistant bacteria, *PLoS One*, 2015, Vol. 10, Issue 2, doi:10.1371/journal.pone.0118431

DOKUMENTĀRĀ LAPA

Maģistra darbs "AUGU PREPARĀTA UN ANTIBAKTERIĀLO VIELU SINERĢISKĀ DARBĪBA" izstrādāts LU Medicīnas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Ieva Taujēna _____
(paraksts) (datums)

Rekomendēju/nerekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītāja: _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Recenzents: _____
(amats, vārds, uzvārds, grāds) (paraksts) (datums)

Darbs iesniegts LU Medicīnas fakultātē _____
(datums)

Vecākā lietvede Juta Bārtule _____
(paraksts)

Maģistra darbs aizstāvēts maģistra studiju programmas „Farmācija” Maģistra gala pārbaudījuma komisijas sēdē _____ 2020., prot. Nr. _____.

Komisijas sekretāre: docente, Kristīne Saleniece, dr.pharm. _____
(paraksts)