

Antibakteriální látky

Prezentace pro obor:
Všeobecná sestra
Jan Smíšek © ÚLM 3. LF UK 2008

1

Paul von Ehrlich (1854 – 1915)

- Autor terminu *chemoterapie*
- *Teorie magické kulky*
- *Přípravek bude selektivně zacílen na mikroorganismus bez vedlejší toxicity pro léčený makroorganismus*
- Nobelova cena za medicínu 1908
- Salvarsan (1908)

2

Gerhard Domagk (1895 – 1964)

- Studie založené na práci P. Ehrlicha, užití chemických látek jako antibiotik
- Objevil sulfonamid Prontosil účinný proti streptokokům (1931)
- Nobelova cena za medicínu 1939

3

Alexander Fleming (1881 – 1955)

- V roce 1928 upozornil, že stafylokoky vytváří inhibiční zónu kolem plísně
- Izoloval extrakt z plísně *Penicillium* a přípravek pojmenoval penicilin
- Zjistil, že extrakt působí inhibičně na stafylokoky a všechny Gram pozitivní patogeny
- Výsledky publikoval v *British Journal of Experimental Pathology* v roce 1929

4

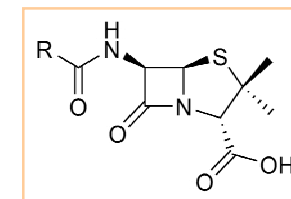
Alexander Fleming (1881 – 1955)

- Snažil se izolovat penicilin z plísně celkem 12 let až do roku 1940 a oslovoval ke spolupráci řadu chemiků, kteří by mu pomohli izolovat penicilin jako stabilní přípravek v účinné koncentraci
- Společně s chemiky Florey a Chainem obdržel Nobelovu cenu za medicínu v roce 1945
- Upozornil, že penicilin by se neměl používat pokud není jasně diagnostikována příčina choroby a neměl by se užívat v příliš malých dávkách nebo po příliš krátkou dobu

5

Penicilin

- V roce 1940 Howard Florey, Ernst Chain & Norman Heatley objevili metodu izolace, koncentrace a masové produkce penicilinu
- Struktura penicilinu byla popsána E. Chainem a potvrzena Dorothy Hodgkinovou už v roce 1940



Selman Waksman (1888 – 1973)

- První použil termín *antibiotic*
- V jeho laboratoři bylo objeveno přes 20 antibiotik
- Nobelova cena za medicínu 1952

7

Streptomycin

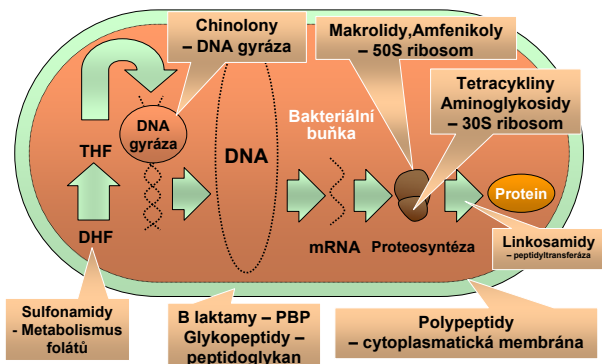
- První antituberkulotikum
- Izolováno v roce 1943 v laboratoři Selmana Waksmana Albertem Schatzem
- Získán z *Streptomyces griseus*

8

- Objevy významných anti-bakteriálních látek

Name	Date of discovery	Microbe
Penicillin	1929-40	<i>Penicillium notatum</i>
Tyrosin	1939	<i>Bacillus brevis</i>
Ginsedurim		
Streptomycin	1945	<i>Penicillium griseofuvarum</i> Dietz
Bacitracin	1945	<i>Streptomyces griseus</i>
Chlórampicilin	1947	<i>Bacillus licheniformis</i>
Polymyxin	1947	<i>Streptomyces verticillatus</i>
Famycetin	1947-53	<i>Bacillus polymyxa</i>
Chlórerythromycin	1948	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
Cephalosporin C, N and P	1948	<i>Cephalosporium</i> sp.
Neomycin	1948	<i>Streptomyces fradiae</i>
Oxytetracycline	1950	<i>Streptomyces rimosus</i>
Myristin	1950	<i>Streptomyces rimosus</i>
Ethionin	1952	<i>Streptomyces erythraeus</i>
Chlórdomycin	1954	<i>Streptomyces antibioticus</i>
Spiramycin	1955	<i>Streptomyces amarae</i>
Novobiocin	1955	<i>Streptomyces novobioideus</i>
Cycloserine	1955	<i>Streptomyces orchidaceus</i>
Vancomycin	1956	<i>Streptomyces glyoxyphilus</i>
Rifamycin	1957	<i>Streptomyces mediterraneus</i>
Kanamycin	1957	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>
Netilmicin	1958	<i>Streptomyces tendrorum</i>
Rifamycin	1959	<i>Streptomyces rimosus</i>
Fusidic acid	1960	<i>Fusarium cocciniferum</i>
Spectinomycin	1961-62	<i>Streptomyces fraxipenicus</i>
Lincosamin	1962	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
Gentamicin	1963	<i>Micromonospora purpurea</i>
Isbamycin	1964	<i>Streptomyces riveorum</i> var. <i>isbamyceticus</i>
Tobramycin	1968	<i>Streptomyces tenebrarius</i>
Riboflavin	1970	<i>Streptomyces riboflavus</i>
Biotin	1970	<i>Bacillus ovalis</i>
Sisomicin	1970	<i>Micromonospora myosensis</i>
Rosaramin	1972	<i>Micromonospora rosacea</i>

Mechanismy účinku



Vyšetření citlivosti

- Disková difuzní metoda v agaru
 - Inhibiční zóny
- Diluční metoda v bujónu
 - MIC
- Gradientová difuzní metoda v agaru
 - E test

11

Disková difuzní metoda

- Disková difuzní metoda v agaru



12

Zhotovení inokula



13

Zhotovení inokula



Kolonie se suspendují do bujónu a turbidita se upraví podle zákalového standardu, odpovídající koncentraci 10^8 bakterií / ml

14

Očkování



Vatový tampon se zvlhčí suspenzí bakterií, přebytečná tekutina se vytírá o hranu zkumavky a tamponem se naočkuje povrch Müller-Hintonova agaru

15

Disky s ATB



Citlivost se vyšetřuje disky nasycenými antibiotiky. Disky jsou v plastických zásobnících

16

Disky s ATB



6 zásobníků se vkládá do dispensoru

17

Disky s ATB



Dispenser se přiloží na agarovou plotnu, stisknutím středového hmatníku se disky uvolní, naráz se tak umístí na povrch plotny 6 disků

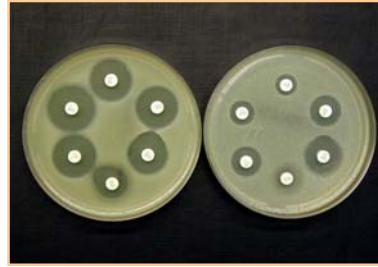
18

Disky s ATB



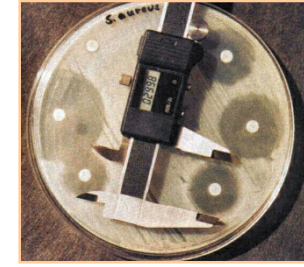
Dispenser se přiloží na agarovou plotnu, stisknutím středového hmatníku se disky uvolní, naráz se tak umístí na povrch plotny 6 disků

Výsledky



Po inkubaci se citlivost projeví inhibiční zónou růstu, její průměr se měří v celých mm posuvným měřidlem, zda je mikrob citlivý nebo rezistentní se rozhoduje podle standardních hodnot daných v tabulkách

Měření výsledků

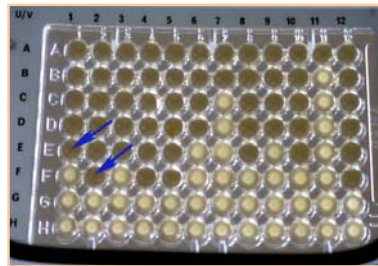


Po inkubaci se citlivost projeví inhibiční zónou růstu, její průměr se měří v celých mm posuvným měřidlem, zda je mikrob citlivý nebo rezistentní se rozhoduje podle standardních hodnot daných v tabulkách

Reprodukovatelnost

- Pro reprodukovatelnost a srovnatelnost výsledků je nutno přísně dodržovat standardní podmínky
 - Koncentraci inokula
 - Složení půdy
 - Tloušťky vrstvy agaru
 - Teplotu
 - Dobu inkubace
- Správné provedení se testují standardními testovacími kmeny

MIC



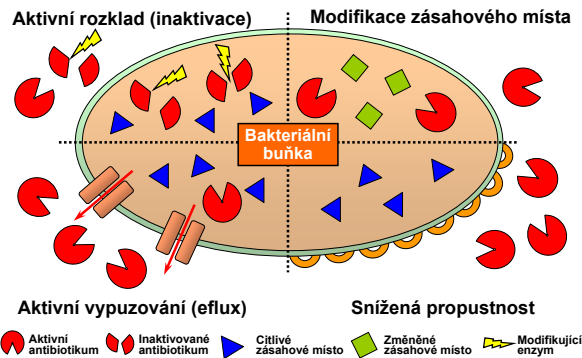
Roztoky antibiotik jsou ve stoupajících koncentracích v sloupcích (1 až 12). Po naočkování a inkubaci se stanoví minimální inhibiční koncentrace (MIC). Růst se projevuje základem. MIC je nejnižší koncentrace, která již zabraňuje růstu (šipky k E1 a F1, analogicky další)

E test



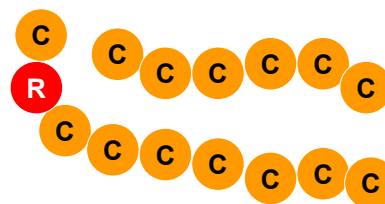
Primární měřenou hodnotou je kritická koncentrace antibiotika pro právě nulovou inhibiční zónu. Ta se pomocí vhodné umístěné stupnice převádí na přibližnou minimální inhibiční koncentraci - MIC. Etest je vynikajícím prediktorem MIC. Jeho širšímu používání brání vysoká cena.

Mechanismy rezistence



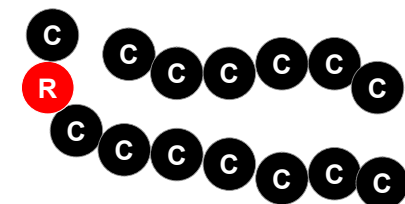
Vznik rezistence

Náhodná mutace



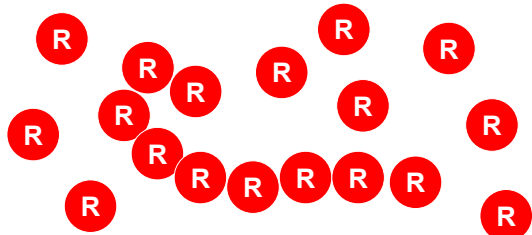
Vznik rezistence

Selekce antibiotikem



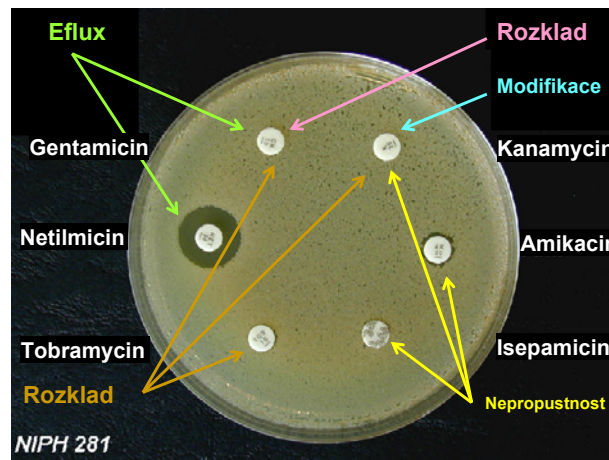
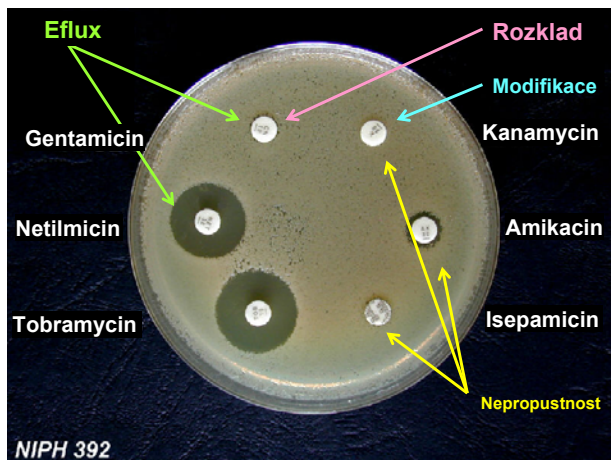
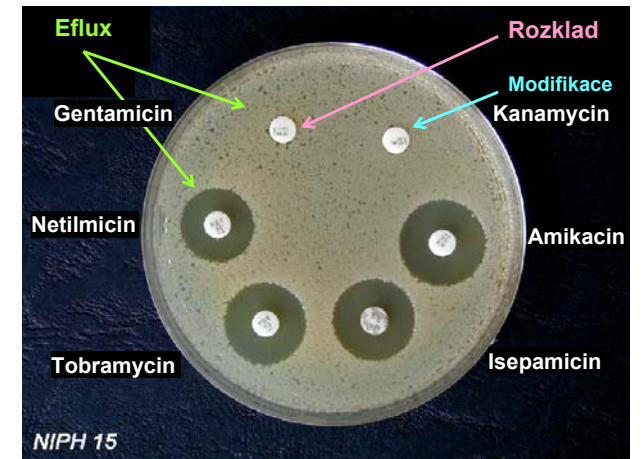
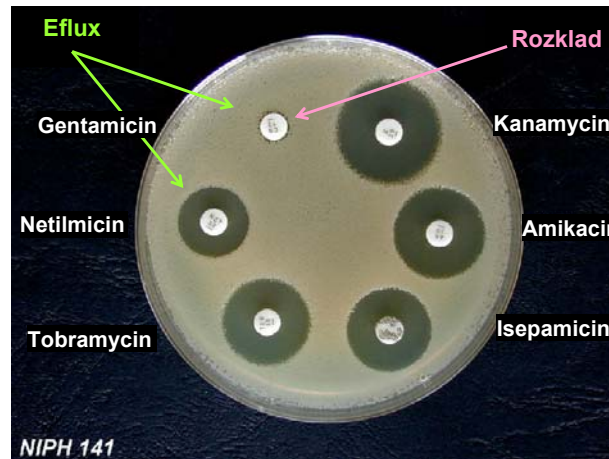
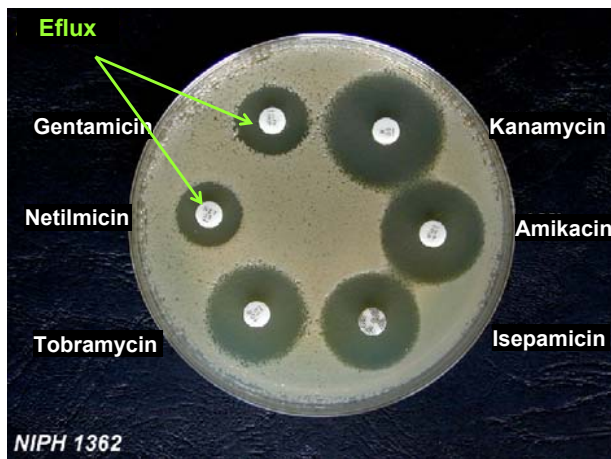
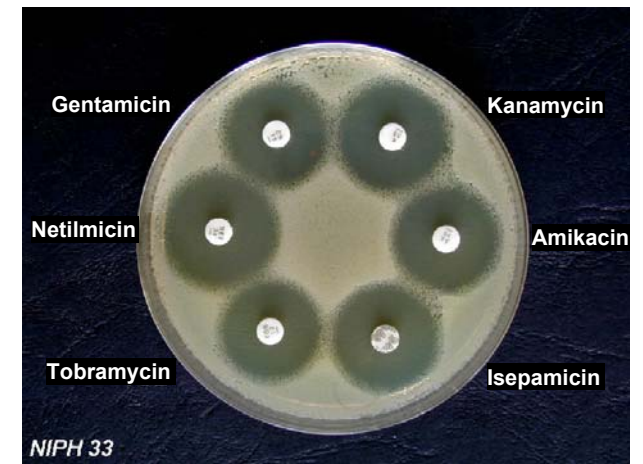
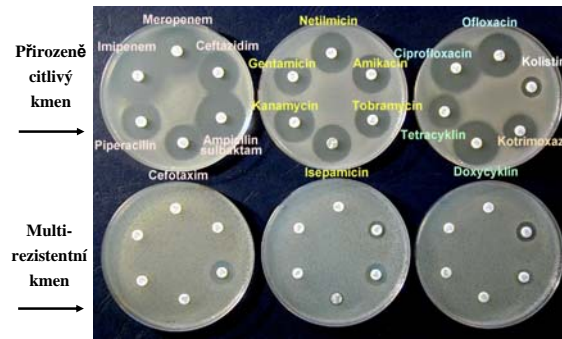
Vznik rezistence

Vzestup rezistentní populace



28

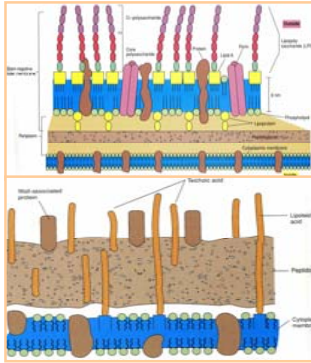
Multirezistence



Antibakteriální látky

- β -laktamová
 - Peniciliny
 - Cefalosporiny
 - Monobaktamy
 - Karbapenemy
- Glykopeptidy
- Polypeptidy
- Tetracykliny
- Makrolidy
- Linkosamidy
- Amfenikoly
- Aminoglykosidy
- Ansamyciny
- Chinolony
- Sulfonamidy
- Pyrimidin
- Nitroimidazoly
- Nitrofurany
- Ostatní chemoterapeutika

ATB versus stěna bakterie



27

β laktamová ATB

- **Struktura:** β laktamový kruh
- **Účinek:** Inhibice syntézy buněčné stěny
- Vazba na PBP (= transpeptidázy)
- → Inhibice transpeptidace peptidoglykanu
- → Aktivace autolytických enzymů
- Důsledek vazby dle typu bakterie a β laktamu
 - Lýza buňky (osmotická u G-, autolýza u G+)
 - Tvorba sféroplastů
 - Elongace buněk (ztráta schopnosti dělit se)

38

β laktamová ATB

- Baktericidní
- Nepenetrují do buňky
- Exkrece – ledviny
- Toxicita – nízká
- Vedlejší účinky – časté
- Rozvoj rezistence - pomalý, v několika krocích - tzv. penicilinový typ

39

β laktamová ATB

- Mechanismy vzniku rezistence
 - Produkce β -laktamáz
 - Strukturální změna PBP
 - Snížená propustnost vnější membrány (G-)
 - Zvýšená eliminace
 - Inhibice aktivace autolytických enzymů
 - Neschopnost syntetizovat peptidoglykany
 - Mykoplazmata, L formy, metabolicky inaktivní bakterie

40

β laktamová ATB

- Mezi β laktamová antibiotika patří:
 - Peniciliny
 - Cefalosporiny
 - Monobaktamy
 - Karbapenemy

41

PENICILINY

- Produkty
 - *Penicillium notatum*
 - *Penicillium chrysogenum*
 - A semisyntetické deriváty
 - Kyselina 6-aminopenicilánová – b-laktamový kruh + 5ti členný thiazolidinový kruh
- Spektrum účinku – dle struktury
- Toxicita zanedbatelná, mega dávky mohou být neurotoxické
- Vedlejší účinky – alergie (I-IV), zkřížená

42

PENICILINY

- S úzkým spektrem účinku
 - Základní (acidolabilní a acidostabilní)
 - Citlivé k účinku β - laktamáz
 - PNC G (benzylpenicilin)
 - PNC V (fenoxymetylpenicilin)
 - S prodlouženou dobou působení:
 - prokain-benzylpenicilin, benzathin-benzylpenicilin
- Účinné na G+ koky a tyčinky, G- diplokoky, anaerobní G- tyčinky s výjimkou *Bacteroides sp.*, spirochéty
- Isoxazolylpeniciliny
 - Odolné vůči β -laktamázám stafylokoků
 - Oxacilin, Meticilin

43

PENICILINY

- S širokým spektrem účinku
- Aminopeniciliny
 - Ampicilin a Amoxycilin – spektrum rozšířeno na některé Gram negativní tyčky
- Karboxypeniciliny
 - Carbacilin a Tikarcilin – slabě účinné i na pseudomonády a rezistentní enterobakterie
- Ureidopeniciliny – Piperacilin, Azocilin
 - Účinné i na pseudomonády a rez. enterobakterie
 - Kombinace s inhibitory β -laktamáz (kys. klavulanová, sulbaktam, tazobaktam)

44

Inhibitory β laktamáz

- Inhibují β laktamázy vazbou na účinné místo a následným rozpadem
 - Sulbaktam
 - Ampicilin-sulbaktam
 - Kyselina klavulanová
 - Amoxicilin - klavulanát
 - Tikarcilin - klavulanát
- Tazobaktam
 - Tikarcilin - tazobactam

45

CEFALOSPORINY

- Produkty *Cephalosporium sp.*
 - Dnes již semisyntetické a syntetické deriváty
- Kyselina 7-aminocefalosporanová
 - b-laktamový kruh + 6ti členný dihydrothiazid-nový kruh (u cefamycinů S nahrazena O)
- 4 generace – liší se spektrem účinku
- Zkřížená rezistence s peniciliny
- Vedlejší účinky
 - Alergie, toxicita – tromboflebitida
 - Indukce stafylokokových, enterokokových nebo houbových superinfekcí (hl. 3. generace)

46

CEFALOSPORINY I.Gen

- Úzké spektrum účinku
 - G+ koky s výjimkou enterokoků a MRSA
 - + některé G- tyčinky
- Nepenetrují do CNS
- Orální
 - cefalexin, cefadroxil, cefaklor
- Parenterální
 - cefalotin, cefazolin, cefapirin

47

CEFALOSPORINY II.Gen

- Spektrum rozšířeno na některé G- tyčky (s výjimkou pseudomonád) a anaeroby
- Odolné vůči cefalosporináze
- Perorální
 - cefaclor, cefuroxim axetyl, cefpodoxim proxetil
- Parenterální
 - cefamandol, cefuroxim, cefoxitin (účinný i na anaeroby, ale silný induktor β laktamáz)

48

CEFALOSPORINY III.Gen

- Nízká účinnost na G+ bakterie
- Rozšířené spektrum u G- tyčinek:
 - (pseudomonády, bakterie produkující cefalosporinázy inhibující cefalosporiny I. a II. generace)
- Pronikají do CNS
- Perorální
 - cefixim, cefpodoxim, ceftibuten – nepůsobí na pseudomonády
- Parenterální
 - ceftazidim, cefoperazon, cefotaxim, ceftriaxon, ceftizoxim, cefsulodin

49

CEFALOSPORINY IV.Gen

- Účinné na G- bakterie včetně pseudomonád a bakterií rezistentních k III. generaci CEF i G+ (hl. stafylokoky)
- Parenterální – cefpirom, cefepim

50

MONOBAKTAMY

- AZTREONAM
 - Monocyklický β -laktamový kruh, rezistentní k β -laktamázám
- Účinný na G- bakterie, ne na G+ a anaeroby
- Možnost indukce stafylokokových a enterokokových superinfekcí

51

KARBAPENEMY

- Rezistentní k většině β -laktamáz
- Pokrývají téměř celé spektrum bakterií
 - Imipenem, meropenem
- Léčení inf. vyvolaných multirezistentními kmeny, směsných inf. (aeroby + anaeroby), febrilní neutropénie
- **Meropenem - meningitidy**

52

GLYKOPEPTIDY

- *Streptomyces orientalis* (vankomycin) a semisyntetický derivát (teikoplanin)
 - Heptapeptidy s cukernou složkou
- Inhibice syntézy buněčné stěny – brání zesíťování peptidoglykanu
- Baktericidní
- G+ včetně MRSA, E. faecalis, C. difficile
- Nefro, oto a neurotoxické

53

GLYKOPEPTIDY

- Rezistence
 - Enterokoky
 - VanA – vysoká rez. k VAN i TEI
 - VanB – různě vysoká k VAN
 - VanC – nízká rez. k VAN i TEI
 - Stafylokoky
 - VRSA
 - VRSE

54

POLYPEPTIDY

- Rozvětvené cyklické polypeptidy
 - BACITRACIN
 - *Bacillus subtilis*
 - Inhibice syntézy buněčné stěny blokováním fosfolipidového nosiče peptidoglykanové subjednotky
 - Baktericidní
 - G+ bakterie včetně MRSA
 - Pouze lokálně (Framykoin)
 - Nefrotoxický

55

POLYPEPTIDY

- POLYMYXINY
 - *Bacillus polymyxa*
 - Působí jako kationické detergenty - porušení cytoplazmatické membrány
 - Baktericidní
 - G- tyčinky včetně pseudomonad
 - *Proteus, Morganella, Providentia, Serratia* - rezistentní
 - Nefrotoxické

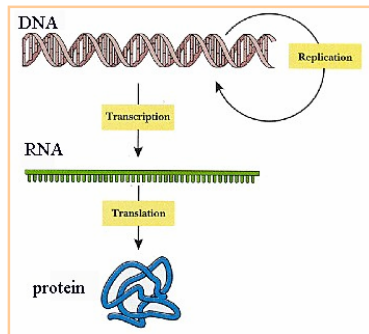
56

POLYPEPTIDY

- POLYMYXINY
- Colistin (polymyxin E)
 - Nevstřebává se ze střeva
 - Močové infekce způsobené rez. G- tyčinkami
- Polymyxin B
 - Pouze lokální použití

57

ATB a CHT versus exprese genetické informace



58

TETRACYKLINY

- Různé druhy *Streptomyces* a semisyntetické deriváty
 - Inhibice proteinové syntézy – inhibice vazby amino-acyl-tRNA na 30S subjednotku ribosomu, zastavení elongace
- Bakteriostatické
- Vstup pasivně difuzí nebo aktivně
 - Široká distribuce včetně kostí a zubů, do mléka, do plodu, nepronikají do CNS, exkrece žlučí

59

TETRACYKLINY

- Široké spektrum účinku
 - G+ i G-, některé anaeroby, rickettsie, chlamydie, mykoplazmata i někteří prvoci
- I. Generace:
 - tetracyklin, oxytetracyklin, rolitetracyklin
- II. generace
 - doxycyklin, minocyklin
- Rezistence zkřížená, penicilinový typ
- Mechanismus rezistence – změněná propustnost vnější membrány, aktivní vylučování, změna ribosom. proteinů

60

TETRACYKLINY

- Vedlejší účinky
 - Hlavně na GIT
 - Potlačení saprofytů → nedostatek vit.K,
 - Superinfekce (stafylokoky, klostridia, proteus, pseudomonas, kandidy)
 - Fotosenzibilizace
 - Diskolorizace zubů
 - Porucha růstu dlouhých kostí
- KI – děti, těhotné

61

MAKROLIDY

- *Streptomyces erythreus* a semisyntetické deriváty
 - 12 - 16 členné laktonové kruhy navázané glykosidickou vazbou na aminocukry
 - Inhibice syntézy proteinů interferencí s translokační reakcí na 50S subjednotce ribosomu – brání uvolnění tRNA
- Bakteriostatické

62

MAKROLIDY

- Distribuce mimo CNS, pronikají dobře do savčích buněk
- Exkrece hl. žlučí
- Vedlejší účinky
 - GIT
 - Alergie
 - Interakce s jinými léky (antagonismus s β laktamy a linkosamidy)

63

MAKROLIDY

- G+ bakterie, mykoplazmata, rickettsie, chlamydie, některé G- bakterie – Haemophilus sp., Legionella sp., Campylobacter sp., Helicobacter sp., někteří prvoci (améby, lamblie)
 - I. generace – Erytromycin, Spiramycin, Josepamycin
 - II. generace – Klaritromycin, Roxitromycin, Azitromycin
- Snadno vzniká rezistence
 - Metylace receptoru – zkřížená v rámci skupiny i s linkosamidy a streptograminy
 - Aktivní vylučování (Eflux)

64

LINKOSAMIDY

- Produkt *Streptomyces lincolnensis* linkomycin a semisyntetický derivát klindamycin
 - AK prolin substituovaná amidy a aminocukrem
 - Inhibice proteosyntézy – inhibice peptidyltransferázy
- Bakteriostatické
- Výborný průnik do MA a kostní tkáně

65

LINKOSAMIDY

- Spektrum účinku
 - Podobné jako u makrolidů, rozšířeno i na anaeroby a některé prvoky
 - Enterokoky a enterobakterie rezistentní
- Rezistence – u stafylokoků zkřížená s erytromycinem (ne všechny ERY rez. kmeny jsou zároveň LIN rez.)
- Linkomycin – stafylokokové osteomyelitidy
- Klindamycin – smíšené infekce břicha

66

AMFENIKOLY

- CHLORAMFENIKOL
 - *Streptomyces venezuelae*
 - Nitrobenzenové jádro
 - Inhibice proteinové syntézy interferencí s peptidyltransferázou – blokuje vznik peptidických vazeb na 50S subjednotce ribosomu, zastavení elongace
 - Bakteriostatický
 - Dobrý průnik do tkání včetně CNS
 - Široké spektrum účinku

67

AMFENIKOLY

- Rezistence – acetyltransferáza, snížená prostupnost u G-
 - Závažné vedlejší účinky
 - GIT
 - Poruchy fce kostní dřene
 - Aplastická anémie – 1: 25 000 – 40 000
 - Šedý syndrom u novorozenců
- Použití:
 - Tyfus
 - Meningitidy (H. influenzae, meningokoky, pneumokoky), CNS abscesy inf. vyvolané rickettsiemi, chlamydiemi a nebo mykoplazmaty

68

AMINOGLYKOSIDY

- *Streptomyces sp.*, *Actinomyces sp.*, *Micromonospora purpurea* (gentamicin) a semisyntetické deriváty (netilmicin, amikacin)
 - Bazické oligosacharidy obsahující speciální aminocukry - aminocyklitolový kruh
- Inhibice proteinové syntézy na 30S subjednotce ribosomu – interference s vazbou formylmethionyl - tRNA

69

AMINOGLYKOSIDY

- Baktericidní
- Výrazný post-antibiotický efekt (PAE)
- Nevstřebávají se z GIT
- Nepronikají do CNS
- Vylučování – močí
- Jsou nefrotoxické, ototoxické a neurotoxické
- Spektrum účinku – hlavně G- tyčinky, některé G+ koky (stafylokoky), anaeroby jsou rezistentní

70

AMINOGLYKOSIDY

- Rezistence
 - Změna receptoru
 - Změna permeability membrány
 - Enzymatická modifikace (acetyl- a adenyl-fosfotransferázy)

71

AMINOGLYKOSIDY

- I. streptomycin, neomycin, kanamycin, spektinomycin, paromomycin
- II. gentamicin, tobramycin, amikacin, netilmicin, isepamicin
- Septické stavy, nitrobřišní inf., pneumonie, endokarditida, komplikované IMC, infekce CNS (pouze amikacin)
- Kombinace s β laktamy (fyzikálně ale inkompatibilní!) – enterokoková endokarditida – Aminoglykosidy + Ampicilin

72

CHINOLONY

- Chemoterapeutika
 - Inhibice bakteriální gyrázy (topoisomeráza)
 - Baktericidní
- 4 generace
 - I. kys. nalidixová, oxolinová - G- tyčinky (enterobakterie)
 - II. norfloxacin
 - III. ciprofloxacin, pefloxacin, ofloxacin, lomefloxacin
 - IV. sparfloxacin, trovafloxacin
 - II.-IV. generace – fluorované chinolony – široké spektrum účinku

73

CHINOLONY

- Rezistence
 - Mutace genu *gyrA*
 - Snížený průnik do buňky (společně s TET a CLP)
- Vedlejší účinky
 - GIT obtíže
 - Inhibice růstu kloubní chrupavky
 - Interakce s léky
 - Možnost superinfekce – rezistentními stafylokoky nebo enterokoky

74

CHINOLONY

- Použití
 - I. a II. generace – infekce močových cest
 - III. a IV. generace – těžké infekce způsobené multirezistentními G- bakteriemi
- I.v. aplikace – inkompatibilita s β laktamy, antagonismus s nitrofurany
- K.I. – děti, gravidita

75

SULFONAMIDY a PYRIMIDINY

- Chemoterapeutika – antimetabolity
- Kompetitivní inhibice p-aminobenzoové kyseliny → inhibice syntézy kys. listové → inhibice syntézy purinových a pyrimidinových bazí → inhibice syntézy NK
- Sulfonamidy – inhibice kondenzace kys. dihydropteroové
- Pyrimidiny (trimethoprim, methotrexát) – inhibice dihydrofolát reduktázy

76

SULFONAMIDY a PYRIMIDINY

- Bakteriostatické
- Některé G+ a G- bakterie, chlamydie, nokardie, i některá protozoa
 - Infekce močových cest, nokardióza, trachom
- Kombinace trimethoprimu a sulfamethoxazolu – **co-trimoxazol** – synergický účinek, baktericidní, malá pravděpodobnost vzniku rezistence
- Vedlejší účinky – alergie, přímá toxicita

77

NITROIMIDAZOLY

- Chemoterapeutika – narušení struktury mikrobiální DNA
- Baktericidní
- Účinné na anaerobní bakterie, některé prvoky
- Metronidazol, ornidazol
 - Anaerobní infekce (v kombinaci s b-laktamy smíšené inf. břicha)
 - Eradikace *Helicobacter pylori*
 - Trichomonóza, giardióza, amébová dyzentérie

78

NITROFURANY

- Chemoterapeutika – inhibice proteosyntézy
 - blokuje zahájení translace
- Bakteriostatické
- Poměrně široké spektrum
- Časté vedlejší účinky
- Infekce močových cest

79