

ANTIBIOTIKUMOK

FOK

2010. szeptember 20.

Dobay Orsolya

Az előadás szerkezete

- Történeti áttekintés
- Az antibiotikum terápia alapelvei
- Antibiotikum hatásmechanizmusok
- Antibiotikum rezisztencia
- Az antibiotikum érzékenység laboratóriumi meghatározása

TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉS

Történeti áttekintés - 1

- XIX. század:
 - Louis Pasteur & Robert Koch:
- **Baktériumok kórokozó szerepe**
- **Felismerték a kóroki terápia szükségességét**

Történeti áttekintés - 2

Eleinte: növényi kivonatok

- **Santonin** (*Artemisia maritima*, vagy “tengeri féreggyökér”)
 - *Ascaris* és cérnagiliszta ellen (férgek)
 - mellékhatás: látászavarok
- **Kinin** (Cinchona fa kérgéből)
 - malária ellen (protozoon)
 - “cinchonizmus” (halláskárosodás, zavarodottság)
- **Ipecacuana gyökér**
 - (hánytató, pl. vérhasnál)



Történeti áttekintés - 3

Fémek

- **Higany**
 - syphilis ellen (bakteriális)
- **Arzén**
 - **Atoxyl**: bőrfertőzésre és *Trypanosoma* ellen (1905)
/ ERŐSEN toxikus ! (vakság)
 - Ehrlich: számos módosított származékot tesztelt antimikróbás aktivitásra:
 - no. 606 = **Salvarsan** (*Arsphenamine*) 1910-ben
 - *Trypanosoma* és syphilis ellen

Történeti áttekintés - 4

Festékek

- **Paul Ehrlich:**
 - felismerte, hogy a protozoonok szelektíven megfesthetők
 - Tripán-kék (a halott sejtek lesznek kékek) - *Trypanosoma* ellenes hatás
- **Gerhard Domagk:**
 - Prontosil (Sulphanilamide) - 1936
 - textiliparban használt azo-festék
 - első klinikumban használt **szintetikus** antibakteriális szer (**nem** antibiotikum!)



Történeti áttekintés - 5

Paul Ehrlich



- megalapította a kemoterápia tudományát
- szisztematikus kémiai módosítások (**“Magic Bullet”**)
- szelektív toxicitás !!
- leírta a **kemoterápiás indexet:**

$$\text{Kemoterápiás index} = \frac{\text{toxikus koncentráció}}{\text{hatásos koncentráció}}$$

Kemoterápiás index

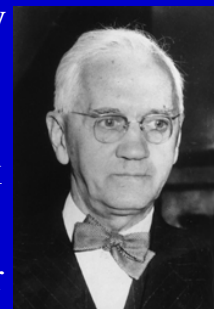
$$\frac{\text{DTM}}{\text{DCM}} \quad \text{minél nagyobb, annál jobb}$$

- **DTM** = dosis tolerata maxima (toxikus)
- **DCM** = dosis curativa minima (hatásos)
- széles vagy szűk alkalmazási koncentráció intervallum

Történeti áttekintés - 6

Penicillin- az első antibiotikum - 1928

- **Alexander Fleming** megfigyelte, ahogy egy gomba (*Penicillium notatum*) gátolta a staphylococcusokat
- mások is megfigyelték, de nem törődtek vele!
- Florey & Chain kristályosították először (1940) - **közös Nobel díj 1945**
- első klinikai alkalmazás: 1942
- II. világháború: 12-15% életet mentett



Történeti áttekintés - 7

- Selman Waksman - Streptomycin (1943)

- hatásos minden Gram-negatív ellen
- **első antibiotikum, ami hatásos *Mycobacterium tuberculosis* ellen**
- a legsúlyosabb fertőzéseket pont ezek okozzák
- *Streptomyces*-ből vonták ki
- 20 másik antibiotikum, pl. neomycin, actinomycin



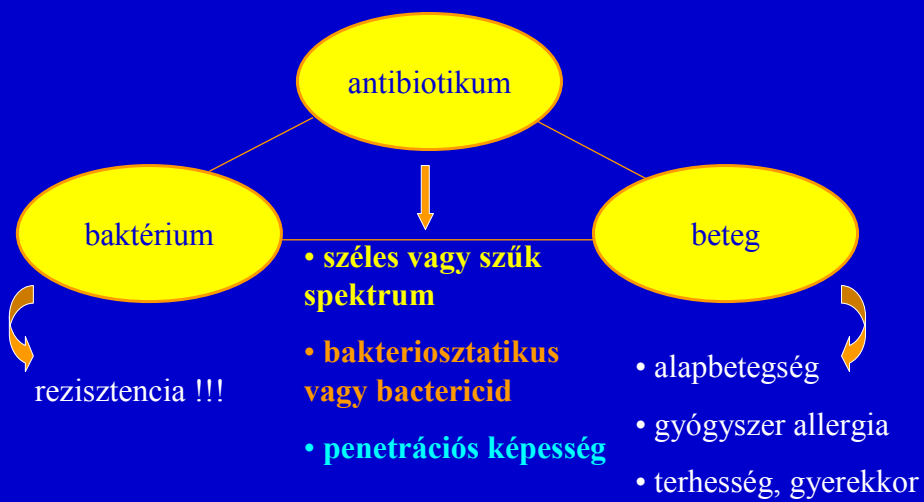
Nobel díj
1952

Az antibiotikumok aranykora

	Felfedezés	Előállítás
	1929 Penicillin	
1930	1932 Sulphonamides	
	1939 Gramicidin	
1940	1942 Streptomycin & Bacitracin	Penicillin
	1943 Cephalosporins	
	1945 Chloramphenicol & Chlorotetracycline	
	1947 Neomycin	
	1948 Trimethoprim	
1950	1948 Oxytetracycline	
	1949 Erythromycin	
	1952 Vancomycin	
	1956 Kanamycin	
1960	1957 Nalidixic acid	Methicillin Ampicillin
	1961 Gentamicin	
	1963 Clindamycin	Cephalosporins Doxycycline
	1964 Clindamycin	
	1966 Clindamycin	
	1967 Clindamycin	
1970	1968 Tobramycin	Trimethoprim
	1971 Cephamycins & Minocycline	
	1972 Cephamycins & Minocycline	

AZ ANTIBIOTIKUM TERÁPIA ALAPELVEI

Az antibiotikum terápia alapelvei



Az antibiotikum terápia fajtái

- **Célzott**
 - antibiotikum érzékenységi teszt alapján
- **Empírikus**
 - tünetek, ill. szokások alapján
 - epidemiológiai adatok ismerete!
- **Profilaktikus**
 - pl. bélműtétnél

Lehetséges mellékhatások

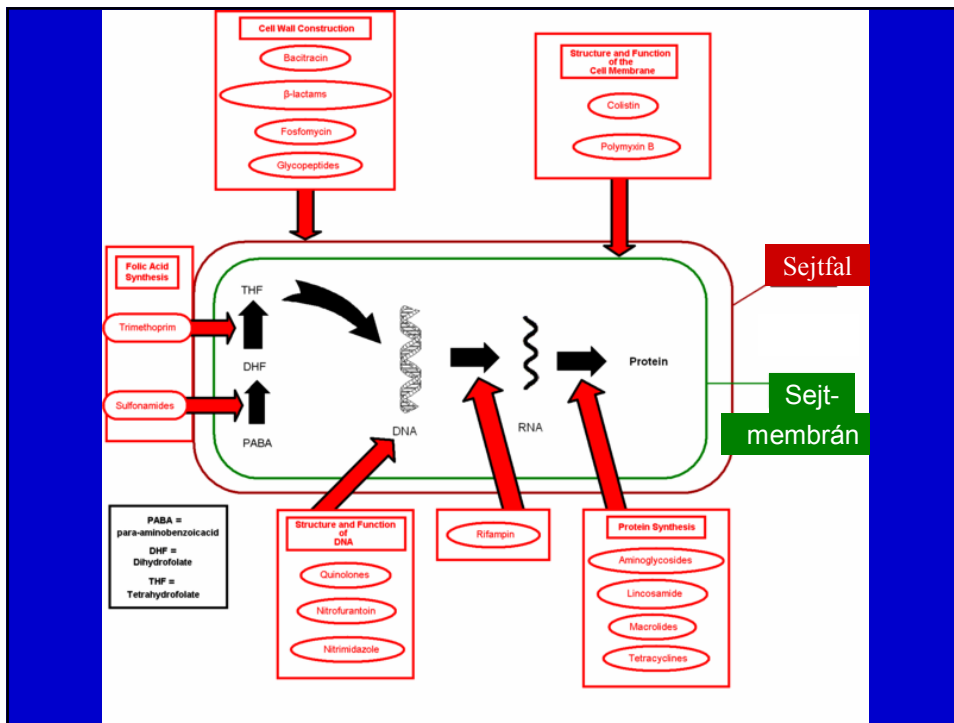
- **allergia**
 - penicillinek!
 - I típusú túlérzékenységi reakció (anaphylaxia)
- **toxikus hatás**
 - vese, máj (alkoholizmus!), csontvelő
 - halláskárosodás
 - csontok, fogak
- **diszbakteriózis**
 - = normál flóra kipusztulása

AZ ANTIBIOTIKUMOK HATÁSMECHANIZMUSAI

Lehetséges támadáspontok

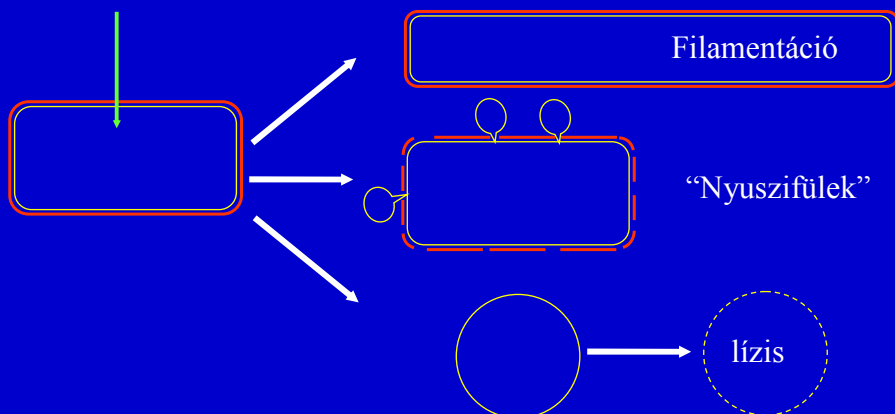
- Sejtfal (peptidoglikán) szintézis
 - Sejtmembrán funkció
- Fehérje szintézis
- Nukleinsav szintézis
 - Fólsav szintézis
 - DNS szintézis
 - RNS szintézis

SZELEKTÍV TOXICITÁS !!!



I. Sejtfalszintézis gátlása (bactericid)

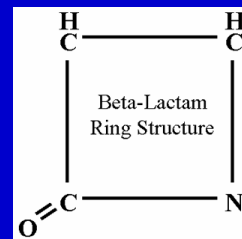
Sejtfal biztosítja az ozmotikus nyomást



I.1. β -laktámok

- A peptidoglikán láncok transzpeptidációját gátolja
- **Fontos kérdések:**
 - lehet *per os* adni? (sav stabilitás)
 - β -laktamáz (enzim-) stabilitás?
 - jó-e a Gram-negatívok ellen? (pl. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*!)

β -laktám gyűrű szerkezete:
(nagyon érzékeny!)



I.1.1. Penicillinek

β -laktám gyűrű
+ 5 tagú /=tiazolidin-/ gyűrű kénnel



- természetes penicillinek: *penicillin G, V*
- enzim stabil: *methicillin, oxacillin (MRSA!!)*
- amino-penicillinek: *ampicillin, amoxicillin* (*per os* adható, de nem enzim-stabil)
- ureido-penicillinek: *piperacillin, mezlocillin* (se sav-, se enzim-stabil, de jó *Pseudomonas* ellen)
- carboxi-penicillinek: *carbenicillin*

Penicillin + enzim inhibitor kombináció

- enzim inhibitor = β -laktám analóg

- ampicillin-sulbactam =

Unasyn

- amoxicillin-klavulánsav =

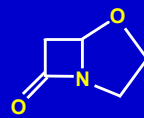
Augmentin

- piperacillin-tazobactam =

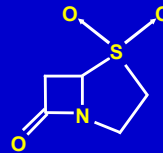
Tazocin



penicillin



klavulánsav

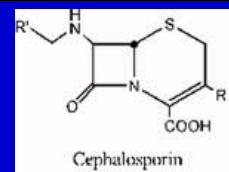


sulbactam

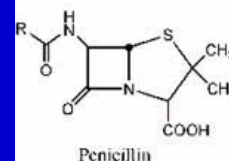
I.1.2. Cephalosporinok

β -laktám + 6 tagú /=cephem-/ gyűrű kénnel

- több szubsztitúciós lehetőség
- Gram-negatívok ellen is!
- I. gen.: *cefazolin, cephalixin, ...*
- II. gen.: *cefuroxim, cefaclor, cefoxitin, ...*
- III. gen.: *cefotaxim, ceftriaxon, ...*
- IV. gen.: *cefepim, cefpiron*



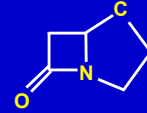
Cephalosporin



Penicillin

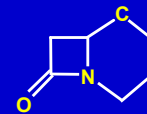
I.1.3. Carbapenemek

- legszélesebb spektrum!
- penicillinekből módosították
- *imipenem, meropenem, ertapenem*
- class B β -laktamáz = carbapenemáz



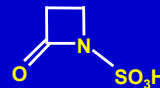
I.1.4. Carbacephemek

- cephalosporinokból módosították
- *loracarbef*



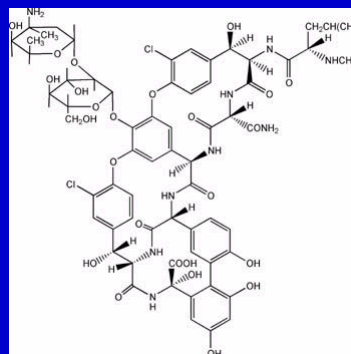
I.1.5. Monobactam

- *aztreonam*



I.2. Glycopeptidek

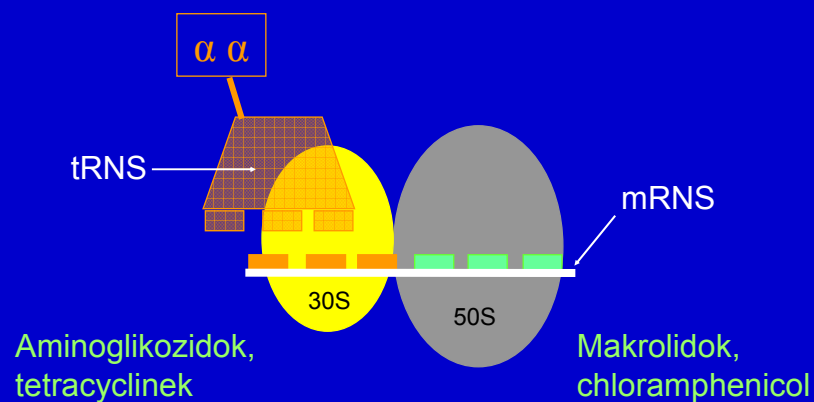
- *vancomycin, teicoplanin*
- óriás molekulák
- hármas hatás:
 - sejtfal szintézis
 - membrán permeabilitás
 - DNS szintézis (?)
- tartalék antibiotikumok!
- **VRE!!**



I.3. Polypeptidek

- *Bacitracin*:
 - főleg *S. aureus* és *Str. pyogenes* ellen, lokálisan (bőrfertőzések)
 - *Bacillus licheniformis* termeli
 - sejtfalszintézis gátlása
- *Polymixinek (pl. Colistin)*:
 - sejtmembrán dezintegrációja
 - Gram-negatívok ellen, lokálisan (égés, fül, szem - *Pseudomonas!*)
 - bactericid, szűk spektrum

II. Fehérjeszintézis gátlása (általában bakteriosztatikus)



II.1. Aminoglikozidok

- bactericid!
- a 30S riboszóma alegységen hat
- *streptomycin*: TBC ellen is (ma: csak itt)
- ma főleg:
 - *amikacin, netilmycin*: súlyos szisztémás fertőzések
 - *tobramycin, gentamycin*: parenterálisan vagy szemcsepp
 - *neomycin*: szemcsepp
- **gyakran toxikus** (süketség!, veseműködés)

II.2. Tetracyclinek

- *chlortetracyclin, doxycyclin, oxytetracyclin* (Tetran)
- a 30S riboszóma alegységen hat, az aminoacil-tRNS bekötődését gátolja
- nagyon széles spektrumú (állatoknak is adják!)
- aktív az **IC baktériumok** ellen!
 - *Chlamydia, Mycoplasma, Rickettsia*
- mellékhatások:
 - májkárosodás (terhesség!), vesekárosodás
 - felhalmozódás a csontokban (gyerekek foga!)
 - súlyos hasmenés, nyálkahártya gyulladása

II.3. Chloramphenicol

- az 50S riboszóma alegységen hat
- *Streptomyces venezuelae* (Ehrlich)
- széles spektrumú → diszbakteriózis !!
- ma főleg:
 - typhus abdominalis, amp^R *Haem. influenzae*
- de: a fejlődő országokban gyakran! (olcsó)
- *per os*, vagy szemcsepp / kenőcs (Chlorocid)
- toxikus hatások:
 - csontvelő károsodás
 - „*Grey baby syndrome*” újszülöttekben

II.4. Makrolidok

- az 50S riboszóma alegységen hatnak
- a peptidlánc elongációját gátolják
- nagyobb koncentrációban baktericiddé válik
- csoportok:
 - 14 tagú gyűrű: *erythromycin, clarithromycin*
 - 15 tagú gyűrű: *azithromycin*
 - 16 tagú gyűrű: *josamycin*
- különböző spektrum (*Streptococcusok; Bordetella, STD, RTI /Haemophilus, pneumo/, Helicobacter, Chlamydia*)
- keresztrezisztencia van!

II.5. Lincosamidok

- *clindamycin, lincomycin*

II.6. Streptograminok

- *quinupristin, dalfopristin*
- kombinációban = Synercid

II.7. Ketolidok

- *telithromycin*

II.8. Oxazolidinonok

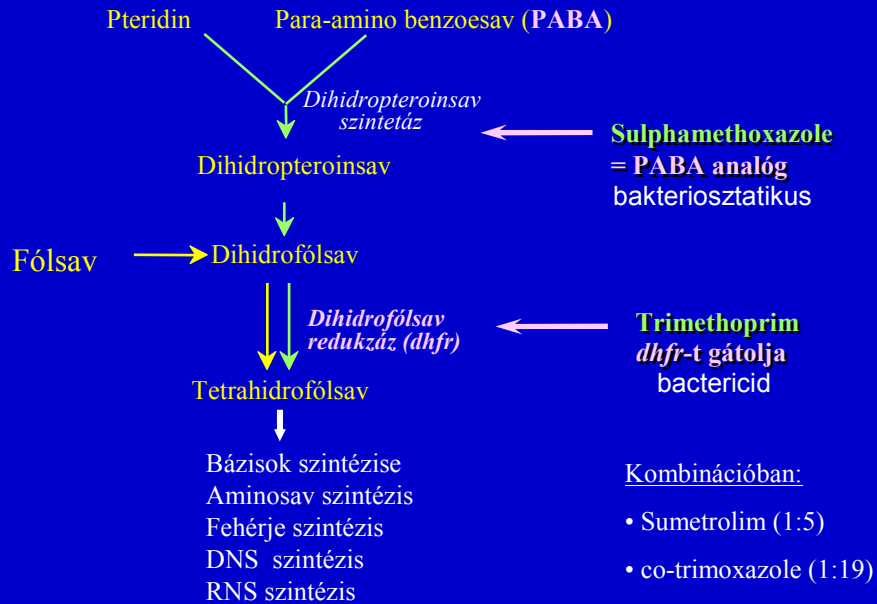
- *linezolid*

III. Nukleinsav szintézis gátlása

III.1. Quinolonok

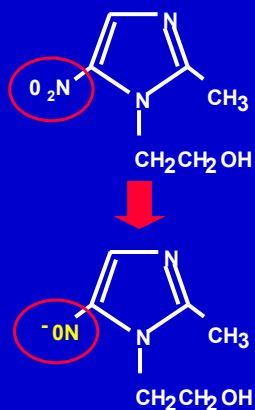
- DNS giráz gátlása
- eredeti vegyület: nalidixinsav
- **fluoroquinolonok (FQ):**
 - *ciprofloxacin, ofloxacin, norfloxacin, sparfloxacin*
- széles spektrumú (IC is!)
- újabb FQ-ok (szélesebb spektrum, jobb hatás) – főleg a **Gram-pozitív felső légúti** ellen :
 - *levofloxacin, moxifloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin*
- nem adható terhességben vagy kisgyerekeknek!

III.2. A folát szintézis gátlása



III.3. Metronidazol

- anaerobok + néhány protozoon ellen
- tönkreteszi a DNS-t



- gazdasejtben aktiválódik a nitrocsoport redukciójával alacsony redoxpotenciálnál (anaerobok!)

III.4. RNS szintézis gátlása Rifampi(ci)n

- DNS dependens RNS polimeráz gátlása (β alegységéhez kötődik)
- ha a polimerizáció már beindult, akkor hatástalan
- könnyet narancssárgára színezi



ANTIBIOTIKUM
REZISZTENCIA

A rezisztencia első megjelenése

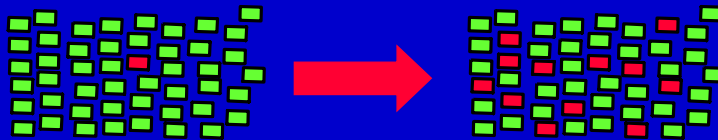
- 1928: penicillin felfedezése
- 1940: első β -laktamáz leírása
- 1945: 50%-os penicillin rezisztencia *Staphylococcus aureus*-ban

Természetes rezisztencia

- saját maguk által termelt antibiotikum ellen
- sejtfal barrier (Gram-negatívok), vagy sejtfal hiánya (*Mycoplasma*)
- transzport rendszer hiánya
- kötőhely hiánya

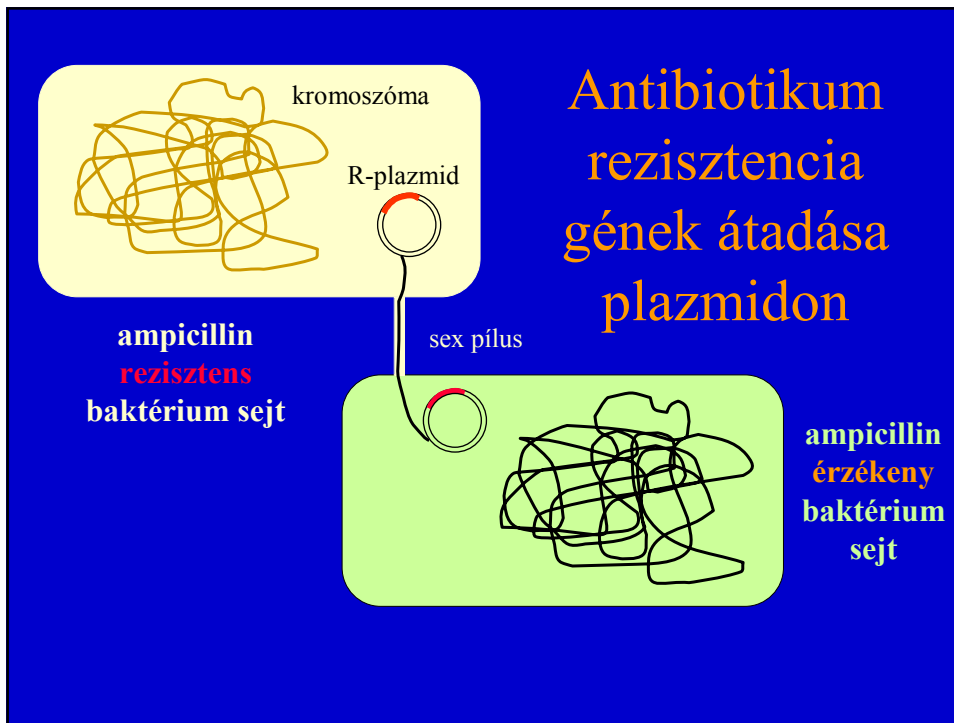
Szerzett rezisztencia - 1

- **vertikális**: spontán mutációval (evolúció, szelekció)
- normál mutációs ráta= $1 : 10^7$
- rezisztens mutánsok kisselektálódása:



Szerzett rezisztencia - 2

- **horizontális**: rezisztencia gének átadása más baktériumoknak
 - plazmid (konjugáció)
 - bakteriofág (transzdukció)
 - transzpozon (ugráló genetikai elemek)
 - transzformáció (csupasz DNS)



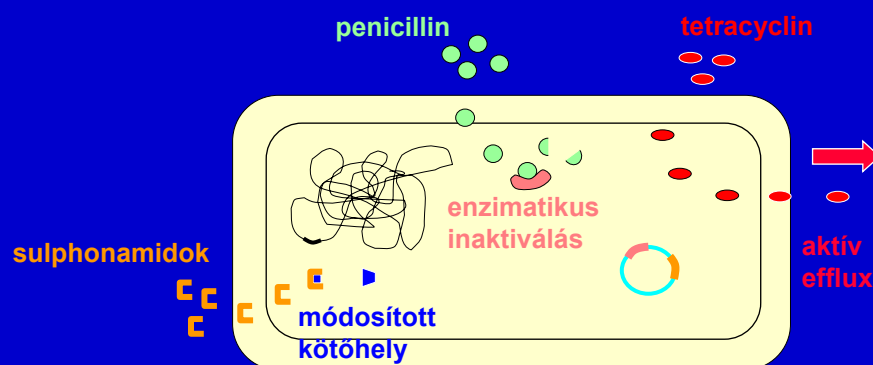
A rezisztencia kialakulásának humán okai

- antibiotikumok túl gyakori fölírása
- túl hosszú terápia, túl alacsony dózisban
- antibiotikum szedésének idő előtti abbahagyása
- antibiotikumok használata állattenyésztésben
- rezisztens törzsek kórházi terjedése (hygiéne!)

**MULTI DROG
REZISZTENCIA !!!**

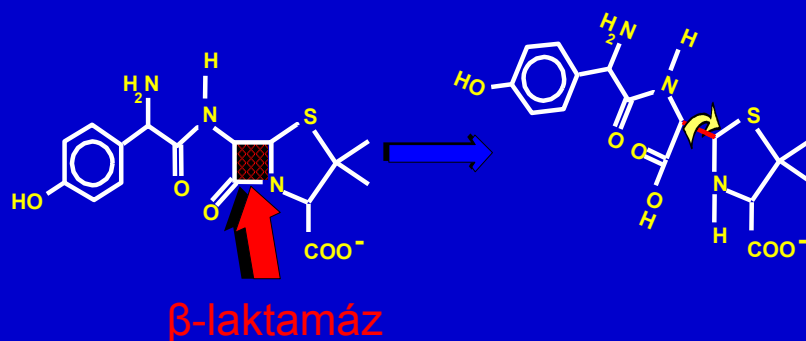
**REZISZTENCIA
MECHANIZMUSOK**

A három fő mechanizmus



1. Enzimatis inaktiválás - 1

- antibiotikum hasítása (hidrolízis)!!
– pl. β -laktamáz hatása *ampicillinre*:



β-laktamázok

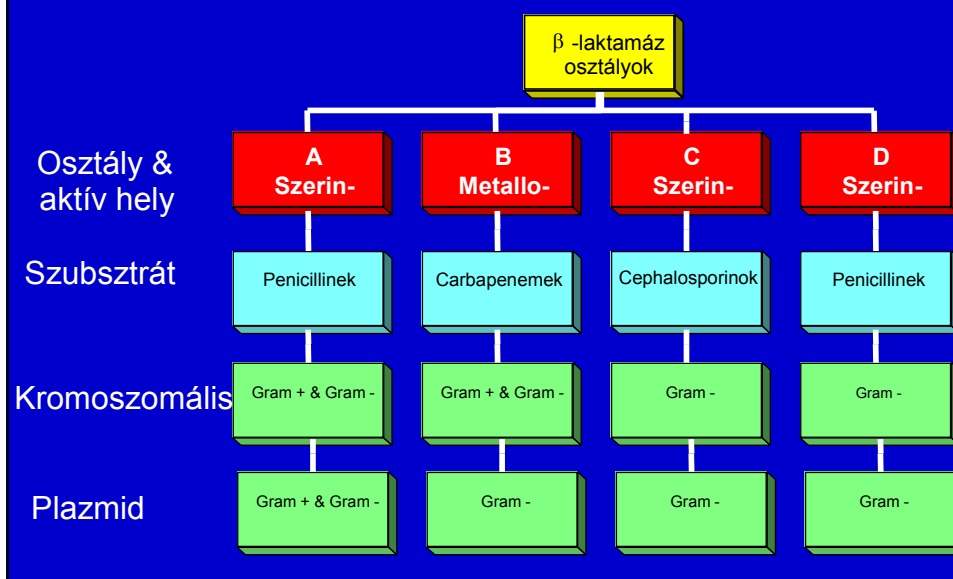
- nagyon sokféle ~
- főleg plazmid-kódolt (néha kromoszomális)
- konstitutív vagy indukálható (= a β-laktám jelenlétében termelődik)
- **ESBL: „extended spektrum” β-laktamázok !!**

TEM, SHV, CTX, OXA

Gram negatív baktériumok termelik

(*E. coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, ...)

β-laktamáz osztályok



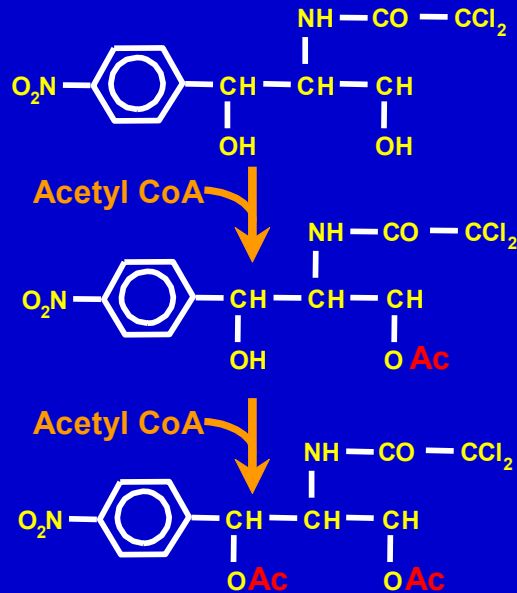
1. Enzimatis inaktiválás - 2

- kémiai módosítás:

- acetilálás
- adenilálás
- foszforilálás
- metilálás

- *aminoglycosidok, chloramphenicol*

pl. chloramphenicol acetilálása:



2. Kötőhely módosítása mutációval

- csökkent vagy megszűnt affinitás
- *penicillinek (pbp)*,
- *aminoglikozidok és makrolidok (30S és 50S riboszóma alegység)*,
- *quinolonok (giráz gén: gyrA,B)*

3. Efflux pumpa

- Antibiotikum “kitessékelése”
- nem túl hatékony
- *makrolidok, quinolonok, tetracyclin*

stb...

Probléma baktériumok

- *Staphylococcus aureus* – **MRSA, VRSA**
(methicillin- és vancomycin rezisztencia)
- *Enterococcus faecalis* és *faecium* – **VRE**
(vancomycin rezisztencia)
- MDR és XDR *Mycobacterium tuberculosis*
- Carbapenem rezisztens
 - *Acinetobacter baumannii*
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - *Klebsiella* spp.
 - *Stenotrophomonas maltophilia*

ESBL

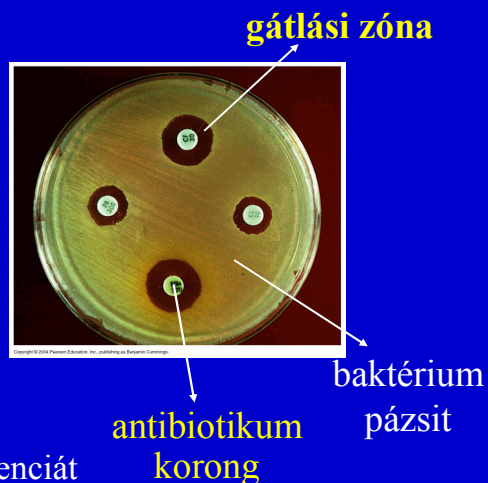
ANTIBIOTIKUM ÉRZÉKENYSÉG LABORATÓRIUMI MEGHATÁROZÁSA

Korong diffúziós teszt

- A gátlási zóna átmérője alapján:

- **R** (rezisztens)
- **MÉ** (mérs. érzékeny)
- **É** (érzékeny)

- ezt használják a rutinban
- gyakran túlbecsüli a rezisztenciát
- szűréshez megfelelő



“antibiogram”

MIC meghatározása

- Fogalmak:

- **MIC = minimális gátlási koncentráció**

= az antibiotikum legkisebb koncentrációja (mg/L),
ami a baktériumok növekedését már **gátolni** tudja

- **MBC** = minimális bactericid koncentráció

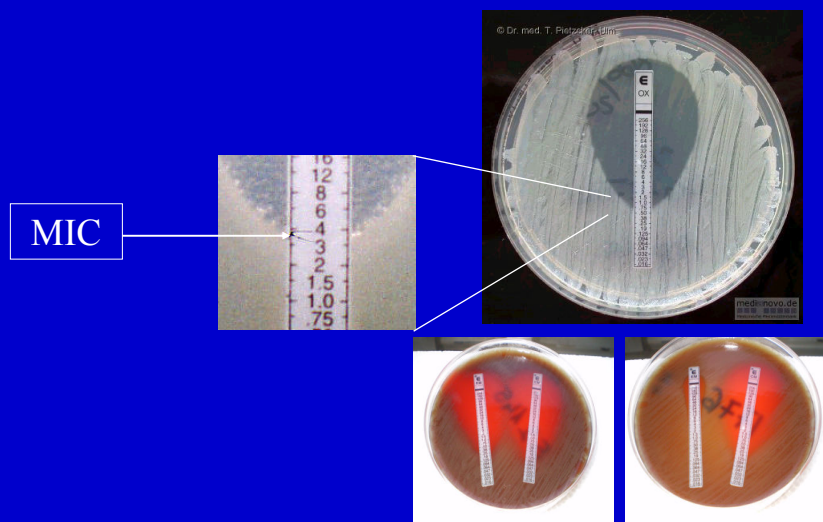
- **Populáció szinten:**

- MIC₅₀, MC₉₀: az a konc., ami az összes baktérium 50 /
90%-át gátolja

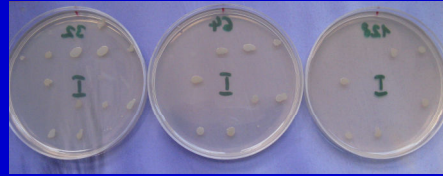
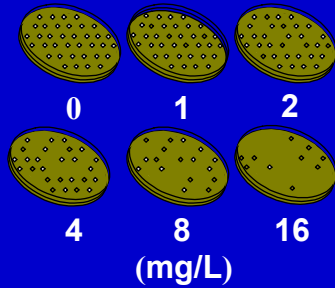
- MIC “range”: a legnagyobb és legkisebb MIC értékek
közti intervallum

1. MIC meghatározás diffúzióval

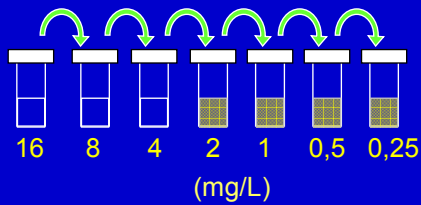
- **E-teszt**: koncentráció-gradiens csíkon



2. MIC meghatározás hígítással

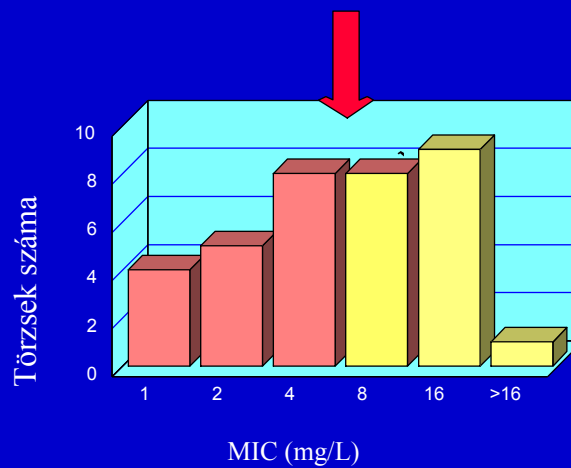


agarhígítás (az AB hígítási sora a táptalajba keverve)



csősorozat hígítás (csövekben) vagy mikrodilúció (96 lyukú plate-en)

R "breakpoint"



Breakpoint meghatározás

- szemi-kvantitatív
- csak a rezisztencia breakpoint-ot vizsgáljuk
- pl.: VRE szűrés:
 - enterococcusok: vancomycin R = 8 mg/L
 - szűrésre: 6 mg/L vancomycin a táptalajban

AB érzékenységi guideline-ok

- **Cél:** standard eredmények
- nemzeti és nemzetközi guideline-ok, pl.
 - **CLSI:** Clinical and Laboratory Standard Institute (amerikai)
 - **BSAC:** British Society for Antimicrobial Chemotherapy
 - **EUCAST:** European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing

Miért van szükség standardizálásra?

- breakpoint-ok meghúzása (R, MÉ, É)
- epidemiológiai adatok állandó frissítése
- baktérium inokulum pontos szabályozása
- inkubációs körülmények szabályozása
(pl. levegő vagy emelt CO₂)
- **kontroll törzsek:**
 - ATCC: American Type Culture Collection
 - NCTC: National Collection of Type Cultures

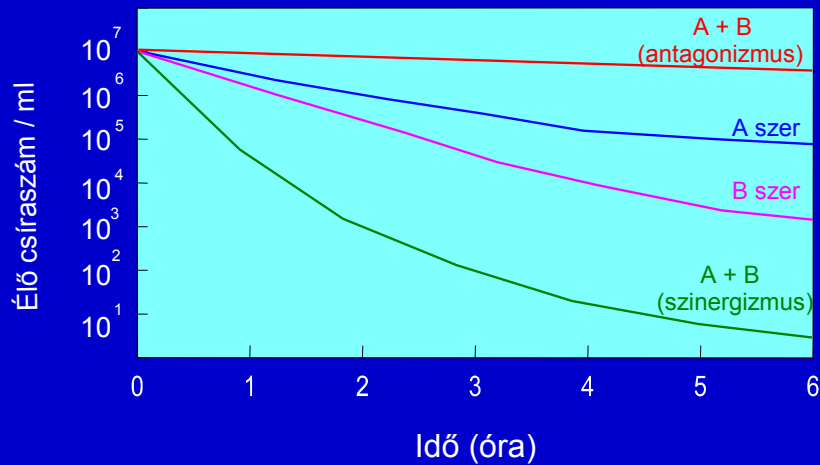
Példa: CLSI guideline *Streptococcus pneumoniae*-hoz

- Inkubáció:
 - MH véres agar, 35±2 °C, 5% CO₂
 - javasolt kontroll törzs: ATCC 49619
- MIC breakpoint-ok penicillinre:
 - É: ≤ 0,06 mg/L
 - MÉ: 0,125-1 mg/L
 - R: ≥ 2 mg/L

Stratégiák a rezisztencia kialakulásának minimalizálására

- kereszt-fertőzés elkerülése
- a lokális AB érzékenységi viszonyok ismerete
- használjunk inkább gyorsan ható bactericid antibiotikumokat
 - a halott baktériumok nem tudnak rezisztenssé válni!
- korlátozzuk a carbapenemek (mero-/imipenem) használatát a mással kezelhetetlen fertőzésekre
- a cephalosporinokat nagy elővigyázattal használjuk
 - különösen kerüljük a lassan penetrálókat

Gyógyszer kombinációk



A kombinációs terápia célja

- **szinergista hatás**
 - Sumetrolim: TMP + SMX
 - Syneroid: quinupristin + dalfopristin
 - penicillin + gentamycin
- **rezisztencia kiküszöbölése**
 - β -laktám + enzim inhibitor
- **polimikróbás fertőzés**
- **nem ajánlott:**
 - β -laktám + bakteriosztatikus szer!!

Az aktívan szaporodó baktériumokra hat



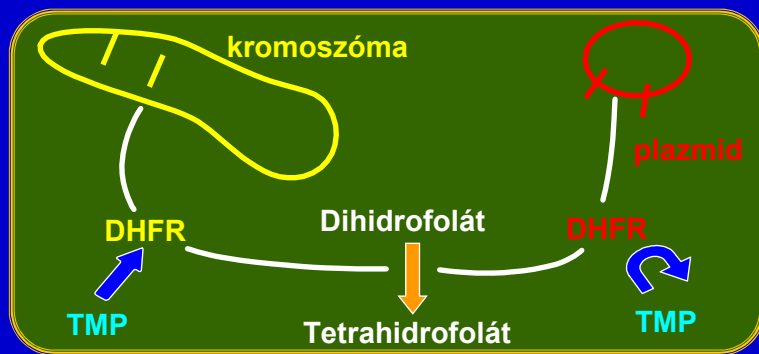
A baktériumok szaporodását gátolja

4. Kötőhely túltermelése

- pl. PABA túltermelése (*SMX*)

5. Metabolit “by-pass”

- másik kötőhely termelése
 - pl. másik *dihidrofolát reduktáz* (DHFR) termelése



6. Membrán permeabilitás megváltozása

- aktív transzport blokkolása
- pl. MRSA: megváltozott membrán lipid szerkezet
- pl. *tetracyclin*

7. Aktív komponenssé való csökkent átalakítás

- pl. nitrofurantoin-reduktáz elvesztése

Antibiotikum rezisztens
Mycobacterium tuberculosis

1950. január 21.

George Orwell halála egy
streptomycin-rezisztens
Mycobacterium tuberculosis
törzs miatt

