

ROZDĚLENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK, VYŠETŘOVÁNÍ CITLIVOSTI

M.Hanslianová

Masarykova univerzita,

Katedra laboratorních metod



- Dotazy k prezentaci:
- 109293@mail.muni.cz

Antimikrobiální látky

- I. **Antibiotika**
- II. Antimykotika
- III. Antiparazitika
- IV. Antivirotika

Antibiotika

- = léčiva používaná k profylaxi a terapii infekčních onemocnění vyvolaných baktériemi
- Mají jedinečné postavení ve skupině léčiv-
ovlivnění nejen léčeného jedince při terapii
antibiotiky (ekologické nežádoucí účinky)

Antibiotika

- 1) Účinek na mikroorganismus (baktérie)
- 2) Účinek na makroorganismus
- 3) Účinek na prostředí

1) Účinek na mikroorganismus

Zástava růstu nebo usmrcení mikroorganismu

➤ **Antibiotika bakteriostatická**

- Zastavují růst a množení mikrobů
- Účinek reverzibilní
- Klinický efekt pomalejší
- Tetracykliny, makrolidy, linkosamidy

➤ **Antibiotika baktericidní**

- Usmrcení mikrobiální buňky
- Účinek ireverzibilní
- Rychlý klinický efekt
- Betalaktamy, aminoglykosidy, chinolony

2) Účinek na makroorganismus

- Selektivní toxicita, **ale** - vždy je ovlivněn i makroorganismus- nežádoucí účinky
- NÚ alergické
- NÚ toxické
- NÚ biologické



➤ NÚ alergické

- Neadekvátní reakce makroorganismu na podání antibiotika (exantém, otoky, anafylaxe)
- Nejčastější: alergie na peniciliny; 5-10% pravděpodobnost zkřížené reakce i na karbapenemy a cefalosporiny
- Opačně se alergie na peniciliny předpokládá a jejich podání je konrtaindikované bez předchozích testů

➤ NÚ toxické

- jsou závislé na druhu použité látky, její dávce, způsobu aplikace a současném stavu makroorganismu
- Neurotoxicita (aminoglykosidy-ototoxicita)
- Hepatotoxicita (tetracykliny)
- Nefrotoxicita (aminoglykosidy, vankomycin, amfotericin B)
- Hematotoxicita(chloramfenikol)
- Lokální toxicita (Synercid-flebitidy)

➤ NÚ biologické

- Ovlivnění fyziologické mikroflóry organismu
- Neexistuje antibiotikum, které by cíleně zasáhlo **pouze** určitého patogena a nemělo současně vliv na mikroorganismy tělu vlastní!!

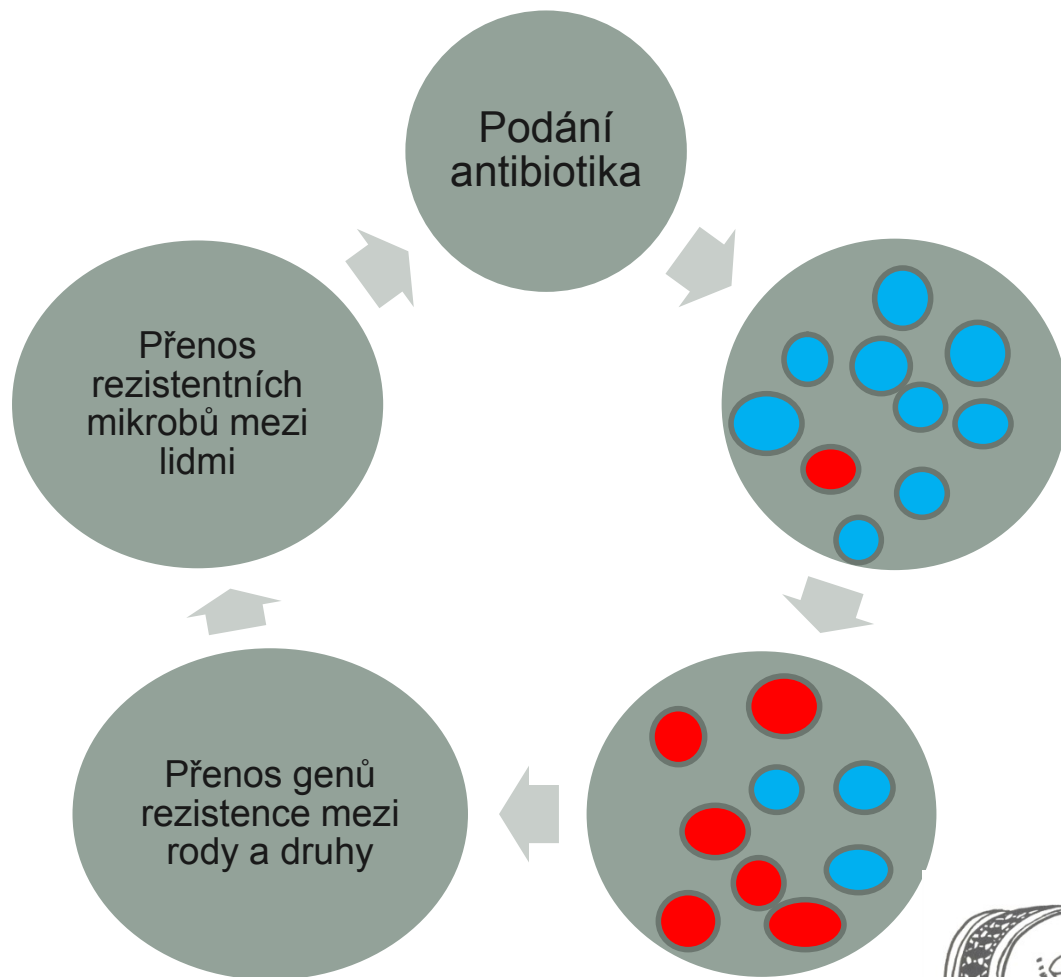
- Přemnožení endogenních potenciálních patogenů (postantibiotická kolitida- *Clostridium difficile*, kandidové superinfekce)
- Exogenní superinfekce (polyrezistentní nozokomiální patogeny)

Poruchy fyziologické mikroflóry mohou vést k závažným onemocněním, často těžším, než byla základní choroba

3) Účinek na prostředí= ekologický účinek antibiotik

- Vznik a šíření rezistentních bakteriálních kmenů!!!!
- Antibiotika mají ve skupině léčiv unikátní postavení- jejich podání ovlivňuje nejen makroorganismus, jehož infekce je léčena, ale celou populaci

Mechanismus vzniku a šíření rezistence



- Největším rizikem neadekvátního podávání antibiotik je vznik rezistence!!!
- Nesprávné indikace podání- respirační virózy, nesprávná indikace vzhledem k vyvolávajícímu agens
- Nesprávné dávkování- velikost dávky, dávkovací interval, příliš krátké nebo příliš dlouhé podávání antibiotik

Rezistence

- necitlivost mikroorganismů k antimikrobiálním látkám
 - 1) Primární(přirozená)- *Proteus* spp.- rezistence k tetracyklinům
 - 2) Získaná- vzniklá změnami v mikrobiální buňce působením selekčního tlaku antibiotik

Mechanismy rezistence

- Změna cílové molekuly (MRSA)
- Zhoršený průnik antibiotika do buňky
- Aktivní eflux
- **Inaktivace vlivem bakteriálních enzymů (betalaktamázy)**

Betalaktamázy

- Enzymy štěpící betalaktamová antibiotika
- Betalaktamázy úzkého spektra
- Betalaktamázy širokého spektra (**ESBL**, AmpC, KPC, MBL)

- Rezistence k antibiotikům představuje závažný problém současné medicíny a roste mnohem rychleji, než jsou vyvíjena nová antibiotika!!!

Pan-resistant CRE reported in Nevada

Filed Under: **Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae;**
Antimicrobial Stewardship; NDM-1

Chris Dall | News Reporter | CIDRAP News | Jan 13, 2017

[f Share](#)

[t Tweet](#)

[in LinkedIn](#)

[✉ Email](#)

[🖨 Print & PDF](#)

A deadly infection that a Nevada woman brought back with her from India is providing an example of the type of "nightmare" bacteria that infectious disease experts have been warning about.

In a report today in the Centers for Disease Control and Prevention's (CDC's) *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, investigators say the infection was caused by carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE), a multidrug-resistant organism associated with high mortality. While CRE are not new to Nevada or the United States, what was new in this case is that the infection was resistant or non-susceptible to all available antimicrobial drugs.



**NEWSLETTER
SIGN-UP**

Get CIDRAP news and
other free newsletters.

Sign up now»

OUR UNDERWRITERS

Unrestricted financial support
provided by



Klebsiella pneumoniae, EARS-net



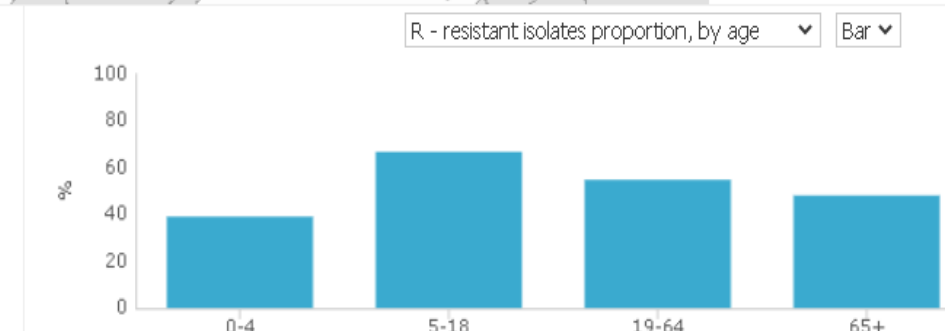
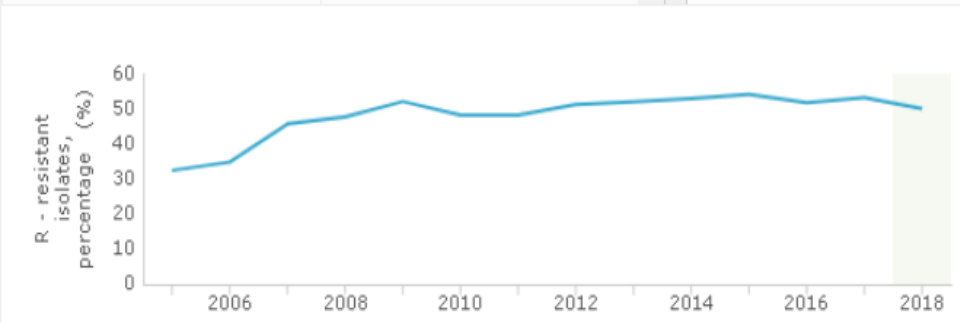
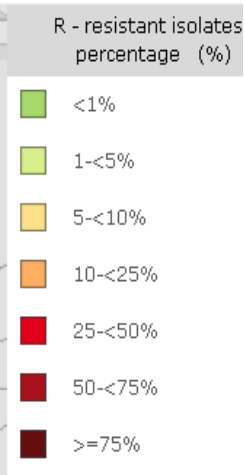
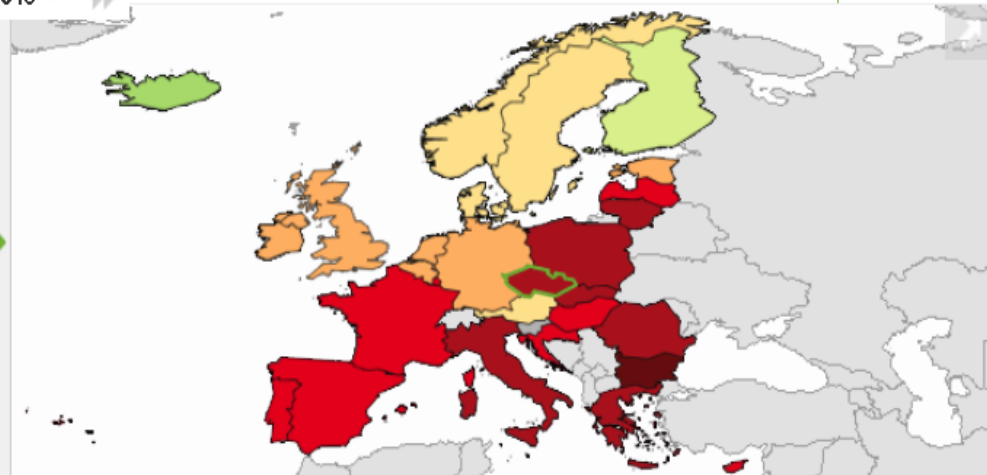
Surveillance Atlas of Infectious Diseases

Antimicrobial resistance ▾ *Klebsiella pneumoniae* ▾ Third-generation cephalosporins ▾

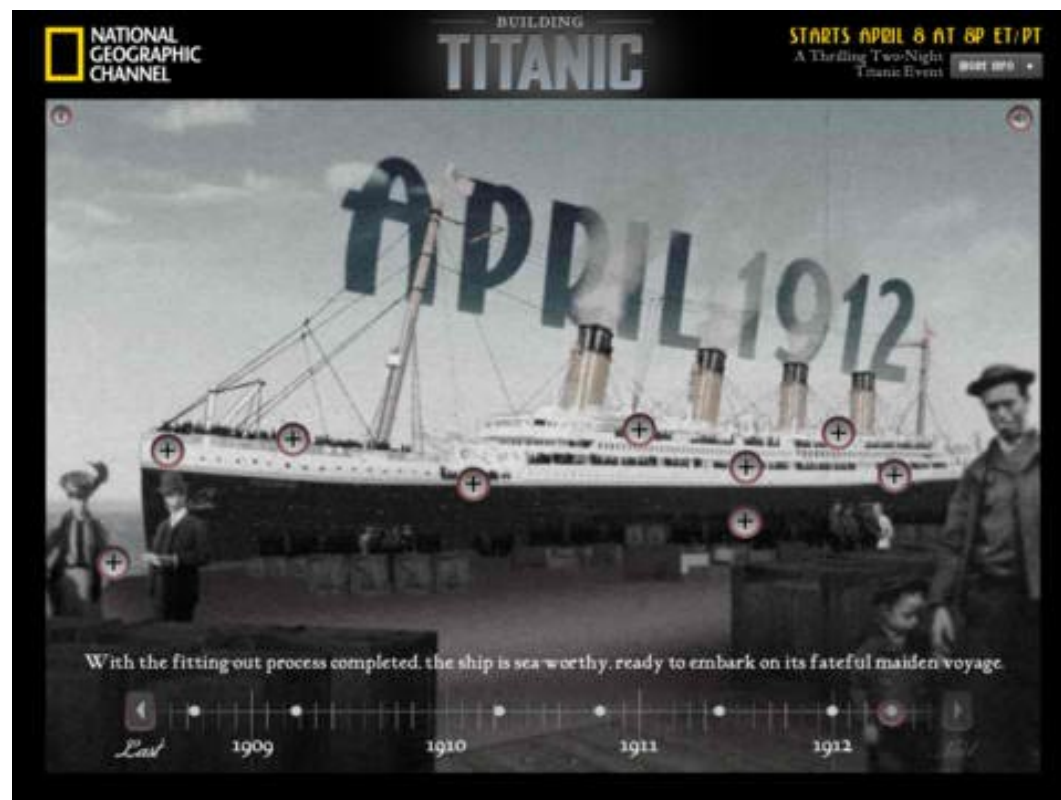
R - resistant isolates, percentage ▾

2018 ▾

Region	R - resistant isolates, percentage (%)
Austria	8.4
Belgium	21.4
Bulgaria	77.7
Croatia	44.3
Cyprus	48.3
Czechia	50.1
Denmark	6.5
Estonia	13.6
Finland	4.5



Nová antibiotika?



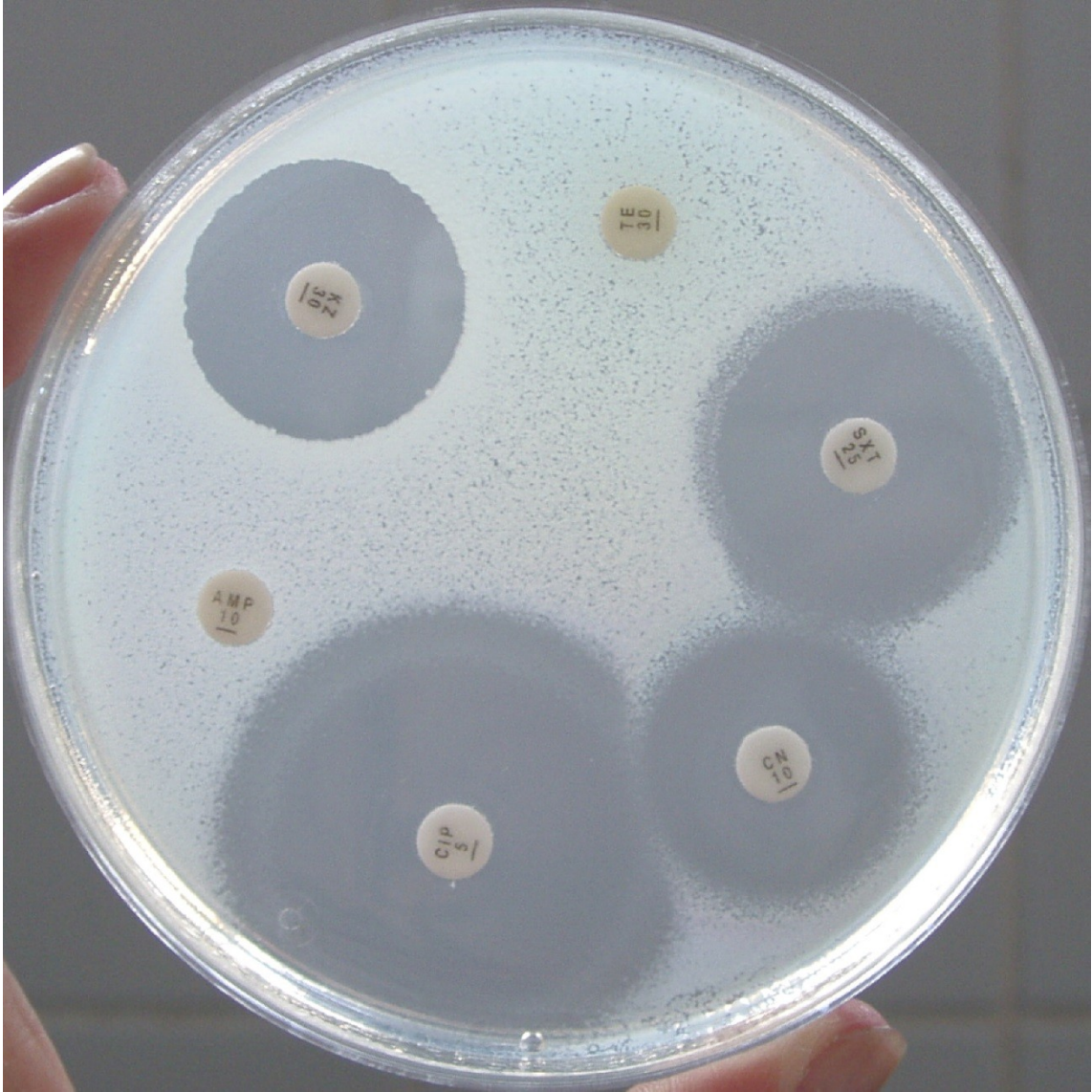
Vyšetřování citlivosti k antibiotikům

1. Odběr biologického materiálu
2. Stanovení pravděpodobného (jistého) původce onemocnění
3. Stanovení citlivosti k antibiotikům

Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- DDM

Disková difuzní metoda

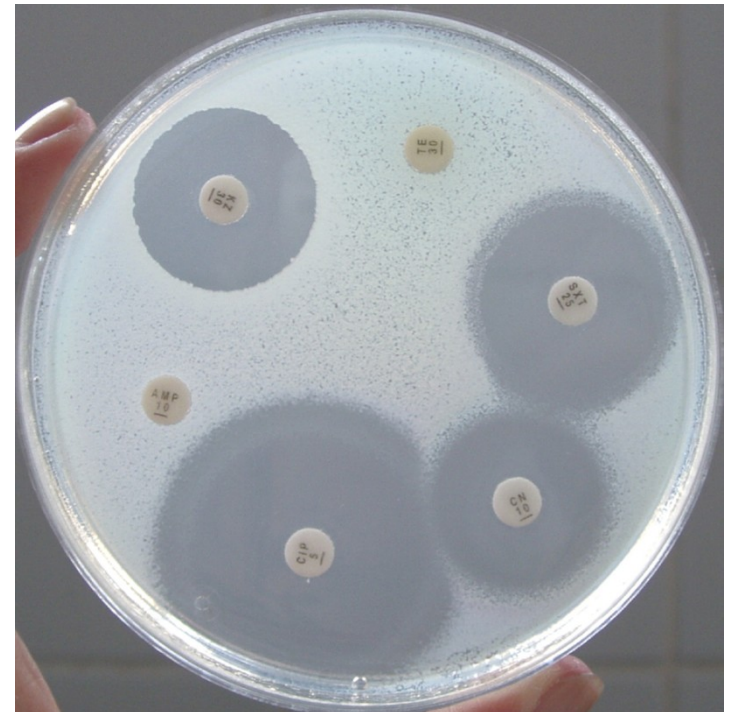
Stanoví se citlivost nebo rezistence podle toho, zda vyšetřovaná bakterie ve stanovené koncentraci buněk na agarové půdě vytvoří nebo nevytvoří přípustnou inhibiční zónu kolem disku s určitou koncentrací antibiotika po předepsané době inkubace





Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- DDM

- 1) Půdy
- 2) Inokulum
- 3) Očkování
- 4) Sestavy antibiotik
- 5) Inkubace
- 6) Hodnocení

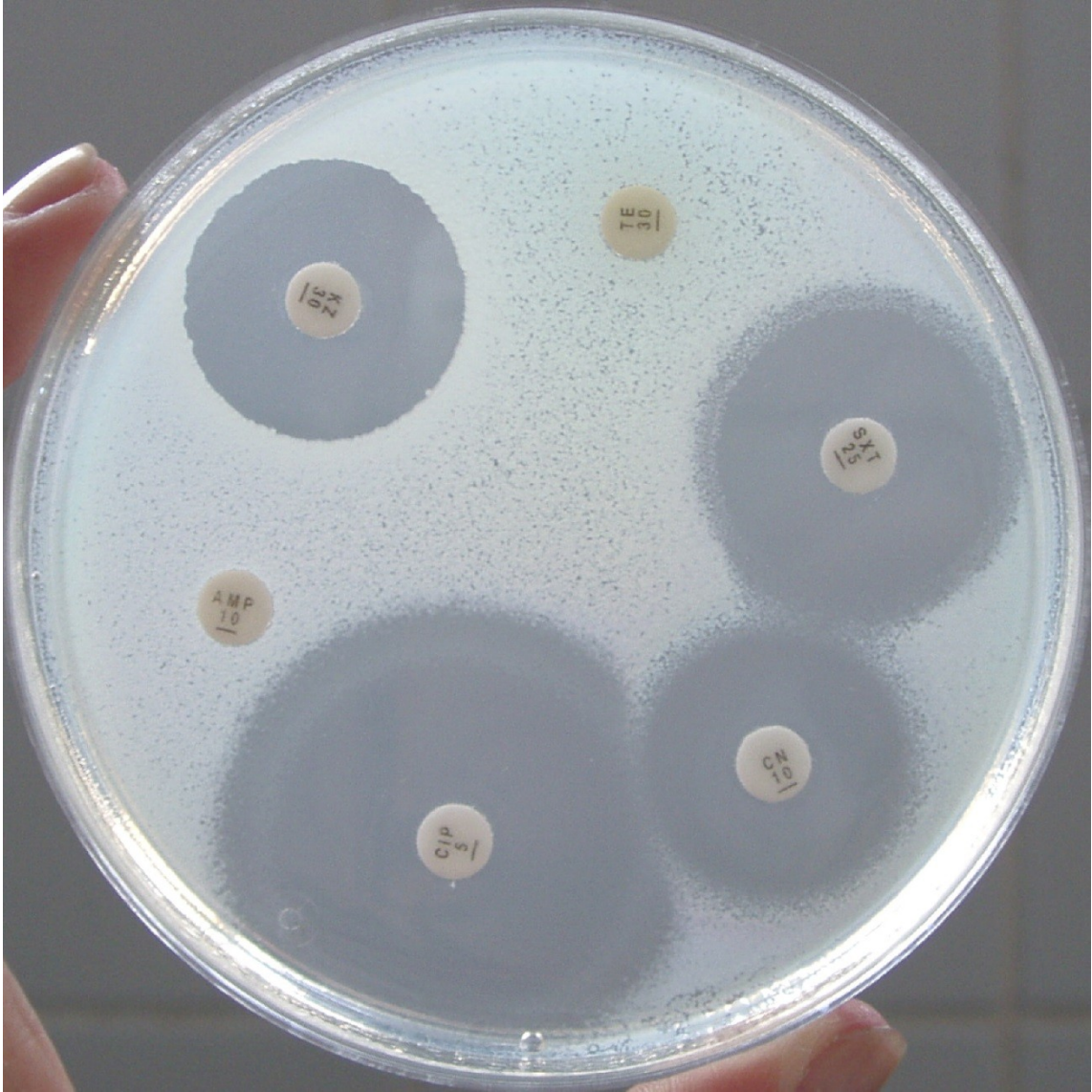


1) Půdy

- Mueller Hinton agar (MHA)- nejpoužívanější, nízký obsah antagonistů antibiotik
- MHA+ 5% ovčí krve- pro náročnější bakterie (pneumokoky, streptokoky, meningokoky)
krev- ovlivňuje výsledky citlivosti!
- Obohacené půdy pro některé náročnější bakterie- haemofily- HTM, gonokoky
- Ph půdy, výška půdy

2) Inokulum

- Zásadním způsobem ovlivňuje výsledek diskové difuzní metody
- Koncentrace inokula- 0,5-1 McFarlandova zákalového standardu ($1,5-3 \times 10^8$ buněk/ml)
- Správné inokulum= splývavý růst kmene



3) Očkování na půdy

- Očkování na suché půdy vytemperované na pokojovou teplotu
- Očkování přelitím
- Očkování roztěrem

3) Sestavy antibiotik

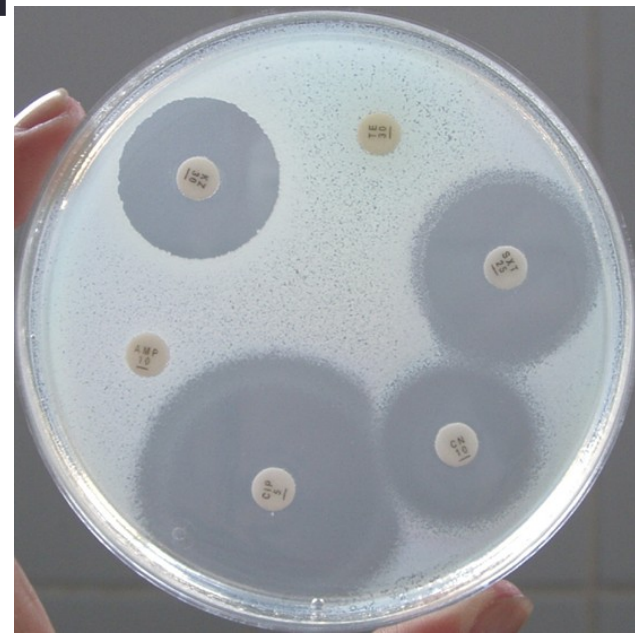
- Firemně vyráběné papírové disky napuštěné předepsanou koncentrací antibiotika
- Sestavy antibiotik podle vyšetřované bakterie (doporučené sestavy-NRL pro antibiotika)
- Základní a rozšířené řady
- Sestavy antibiotik podle klinického materiálu

4) Inkubace

- Inkubace 18-24 hodin při 36-37° C
- Aerobní, anaerobní, mikroaerofilní (5% CO₂) prostředí

5) Hodnocení

- Měření inhibičních zón
- Porovnání se standardy (EUCAST, CLSI)
- Zařazení do kategorií: citlivý, rezistentní, příp. sníženě citlivý (intermediální, použitelné při vyšším dávkovacím schématu)
- Kvalitativní a kvantitativní hodnocení



- U některých kmenů a některých materiálů je disková difuzní metoda nedostačující, nutno vyšetřit MIC- minimální inhibiční koncentraci
- **MIC**= nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která je schopna zastavit růst bakterie
- **MBC**= nejnižší koncentrace antibiotika, která je schopna usmrtit bakterii

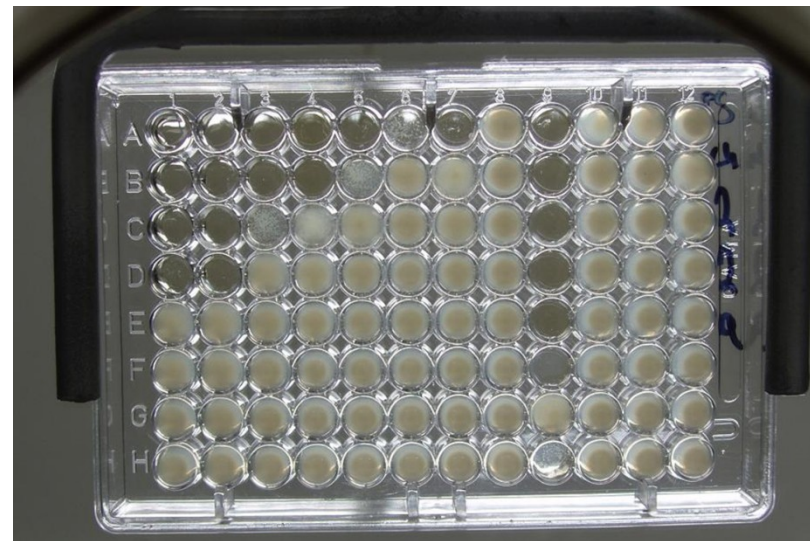
Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- MIC

1) Diluční mikrometoda:

- Hodnotí se MIC v jamkách mikrotitrační destičky, které obsahující antibiotika nanosená na dně jamek ve stoupající koncentraci
- MIC= první nezkalená jamka mikrotitrační destičky

Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- MIC

- 1) Komerčně vyráběné destičky s nanesenými antibiotiky ve stoupajících koncentracích
- 2) Inokulum
- 3) Očkování (mikropipeta, „ježek“)
- 4) (Sestavy antibiotik)
- 5) Inkubace
- 6) Hodnocení



MIC- výhody

- Hodnota MIC důležitá pro některé kmeny a diagnózy
- Nutnost stanovení MIC pro některá antibiotika a mikroby (vankomycin-stafylokoky, kolistin-G- bakterie)
- Klinické breakpointy:
Streptococcus pneumoniae-penicilin meningitis x pneumonie

MIC- nevýhody

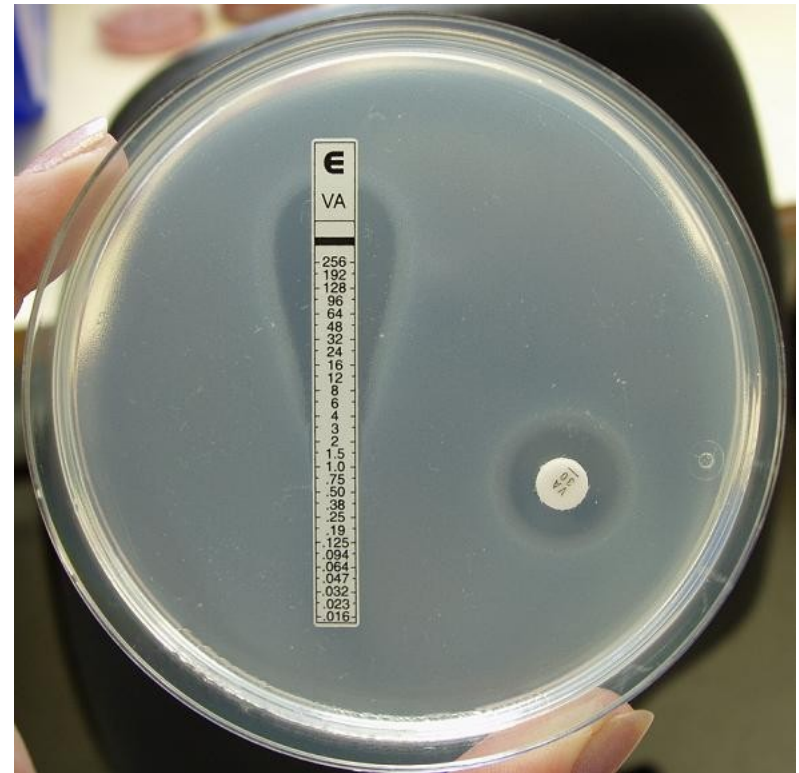
- Obtížné stanovení různých typů rezistence a produkce betalaktamáz
- Někdy náročnější zpracování



Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- MIC

2) E test

- Plastikový proužek napuštěný antibiotikem ve stoupající koncentraci
- MIC- odečítá se v místě, kde inhibiční zóna protíná proužek



Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- MIC

3) Automatické přístroje

- Výhody- rychlost, jednoduché provedení, široká škála antibiotik
- Nevýhody- není přesná hodnota MIC



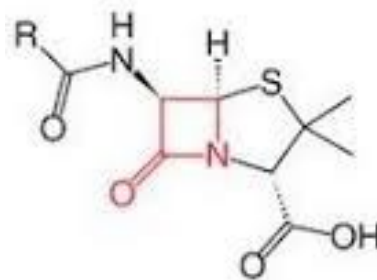
- Vyšetření citlivosti resp. rezistence k antibiotikům má řadu úskalí a vyžaduje erudici a přesnost
- Ideální je kombinace více metod v laboratoři

Rozdělení antibiotik

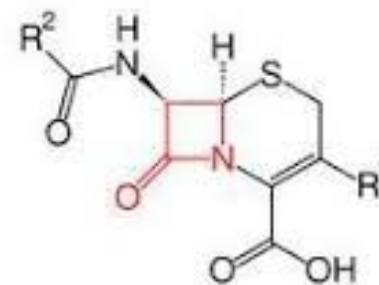


Betalaktamová antibiotika

- Obsahují betalaktamový kruh
- Inhibice syntézy buněčné stěny- baktericidní
- Zanedbatelná toxicita- lze podávat i novorozencům, těhotným (kategorie B) a lidem s poruchami orgánových funkcí
- Alergické reakce, zkřížené alergie



penicilin



cefalosporin

- 1) Peniciliny
- 2) Cefalosporiny
- 3) Karbapenemy
- 4) Monobaktamy

Peniciliny

- Antibiotika působící na celou řadu mikroorganismů- G+, G-, anaeroby
- Úzké spektrum (penicilin, ampicilin)
- Rozšířené antimikrobiální spektrum u preparátů s inhibitorem betalaktamázy (Augmentin, Unasyn, Tazocin)
- Stále 100% účinnost vůči *Streptococcus pyogenes*

Cefalosporiny

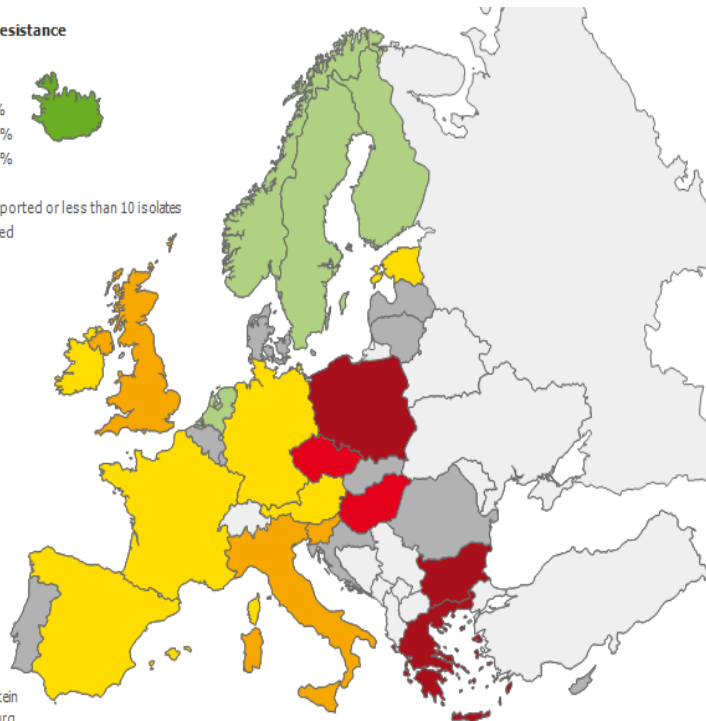
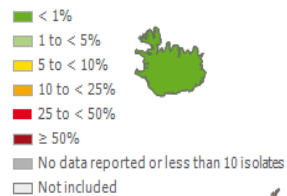
- I-V generace (cefazolin, cefuroxim, cefotaxim, cefepim)
- Od I do III generace klesá účinnost na grampozitivní bakterie a stoupá účinnost na gramnegativní bakterie
- IV generace- G+ i G-
- V generace- spektrum jako III generace+ MRSA

Rezistence *Klebsiella pneumoniae* k CEF III, EARS-net, srovnání let

2005

2014

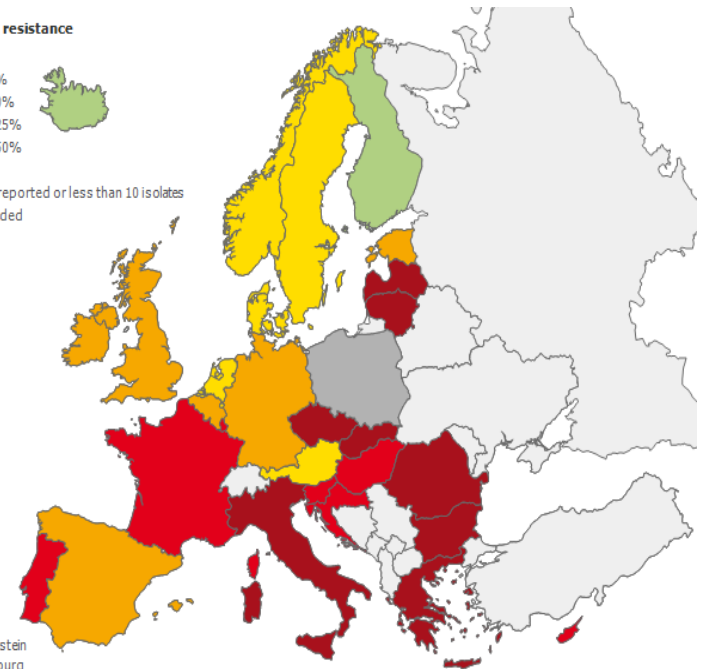
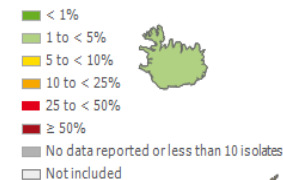
Percentage resistance



■ Liechtenstein
■ Luxembourg
■ Malta

(C) ECDC/Dundes/TESSy

Percentage resistance



■ Liechtenstein
■ Luxembourg
■ Malta

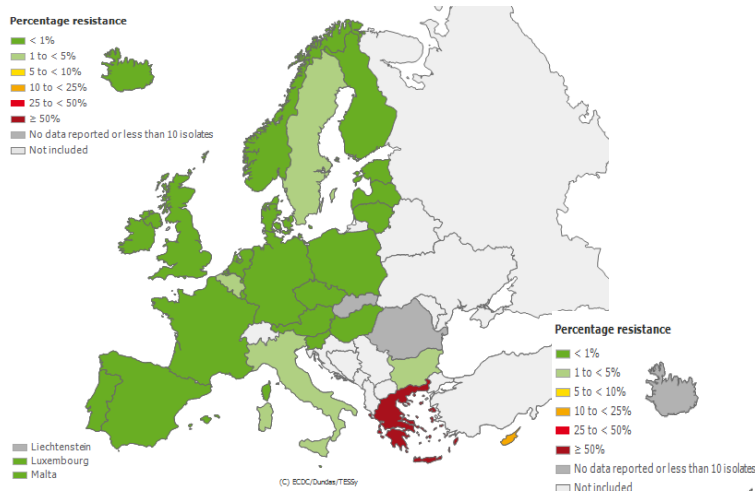
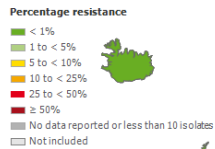
(C) ECDC/Dundes/TESSy

Karbapenemy

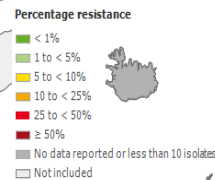
- meropenem, imipenem, ertapenem
- Široké spektrum účinku: G-, G+, anaeroby
- Rezervní antibiotika zejména u infekcí vyvolaných enterobaktériemi!!
- Karbapenemázy- enzymy štěpící VŠECHNA betalaktamová antibiotika

Rezistence *Kl.pneumoniae* ke karbapenemům, EARS-net, srovnání let

2009

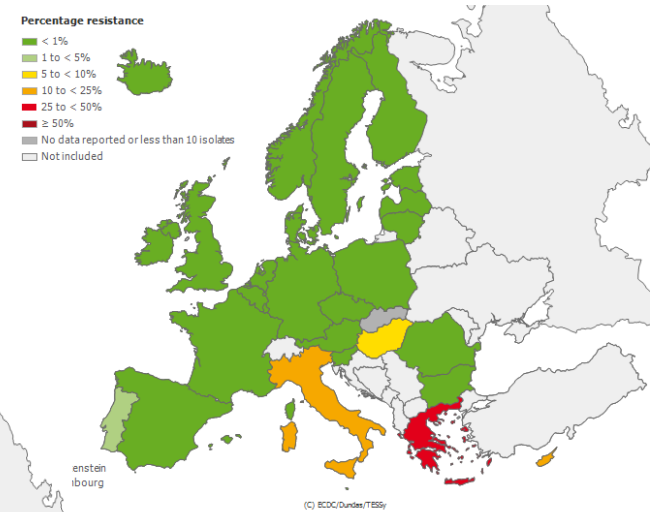
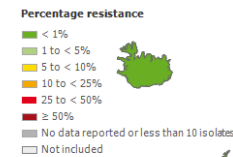


Liichtenstein
Luxembourg
Malta



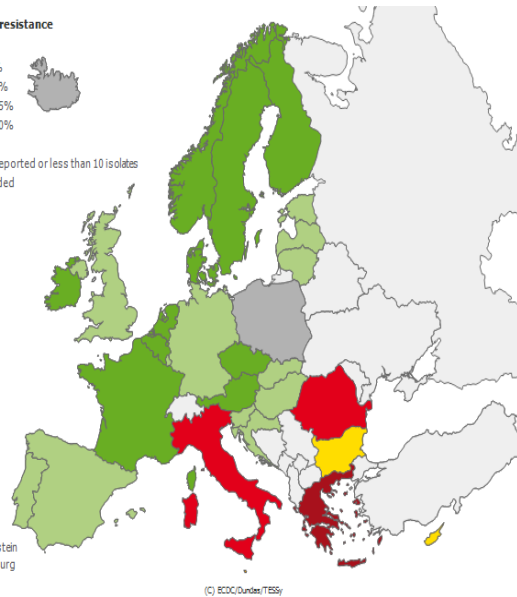
Liichtenstein
Luxembourg
Malta

2010



enstien
ibourg

2014



Liichtenstein
Luxembourg
Malta

Monobaktamy

- aztreonam- v současné době na trhu nedostupný
- Ve vývoji aztreonam+avibactam- účinek vůči karbapenemázám

Makrolidy

- erythromycin, klarithromycin, azithromycin
- Inhibice proteosyntézy- bakteriostatické
- Výhodné spektrum účinku zejména vůči respiračním patogenům
- Účinek na tzv. „atypické mikroby“ (mykoplasmata, chlamydie, legionely)
- Lék volby u alergiků na penicilinová antibiotika

Linkosamidy

- (linkomycin), klindamycin
- Inhibice proteosyntézy- bakteriostatické
- G+, anaeroby
- Výborný průnik do kostní tkáně
- Možnost vzniku pseudomembranózní kolitidy vyvolané *Clostridium difficile*

Tetracykliny

- tetracyklin, doxycyklin
- Inhibice proteosyntézy- bakteriostatické
- G-, G+, anaeroby částečně
- Účinek na tzv. „atypické patogeny“ (mykoplasmata, chlamydie, legionely)
- KI u dětí do 8 let
- Glycylcykliny- nová řada tetracyklinů- **tigecyklin**

Aminoglykosidy

- gentamicin, tobramycin, amikacin
- Inhibice proteosyntézy- baktericidní!
- G-, G+ jen omezeně
- Pouze parenterální
- Omezené průniky do tkání
- Nefrotoxické, ototoxické- nutnost měření hladin
- Prokázaná synergie s betalaktamy

Amfenikoly

- chloramfenikol
- Inhibice proteosyntézy- bakteriostatický
- G-, G+, anaeroby
- Výborné průniky do tkání včetně likvoru
- Toxicita, zejména útlum kostní dřeně (reverzibilní, ireverzibilní)
- Omezený pouze na některé indikace

Polypeptidy

- kolistin
- Porucha funkce buněčné membrány- baktericidní
- G-, pouze parenterální (inhalační terapie)
- Toxické- nefrotoxicita
- Velká molekula, omezený průnik do tkání
- V současné době téměř **jediné** fungující antibiotikum u polyrezistentních kmenů gramnegativních bakterií

Glykopeptidy

- vankomycin, teikoplanin, dalbavancin
- Inhibice syntézy buněčné stěny- baktericidní
- G+, anaeroby částečně
- Rezervní antibiotika pro rezistentní stafylokoky a enterokoky
- Nefro-, ototoxicita

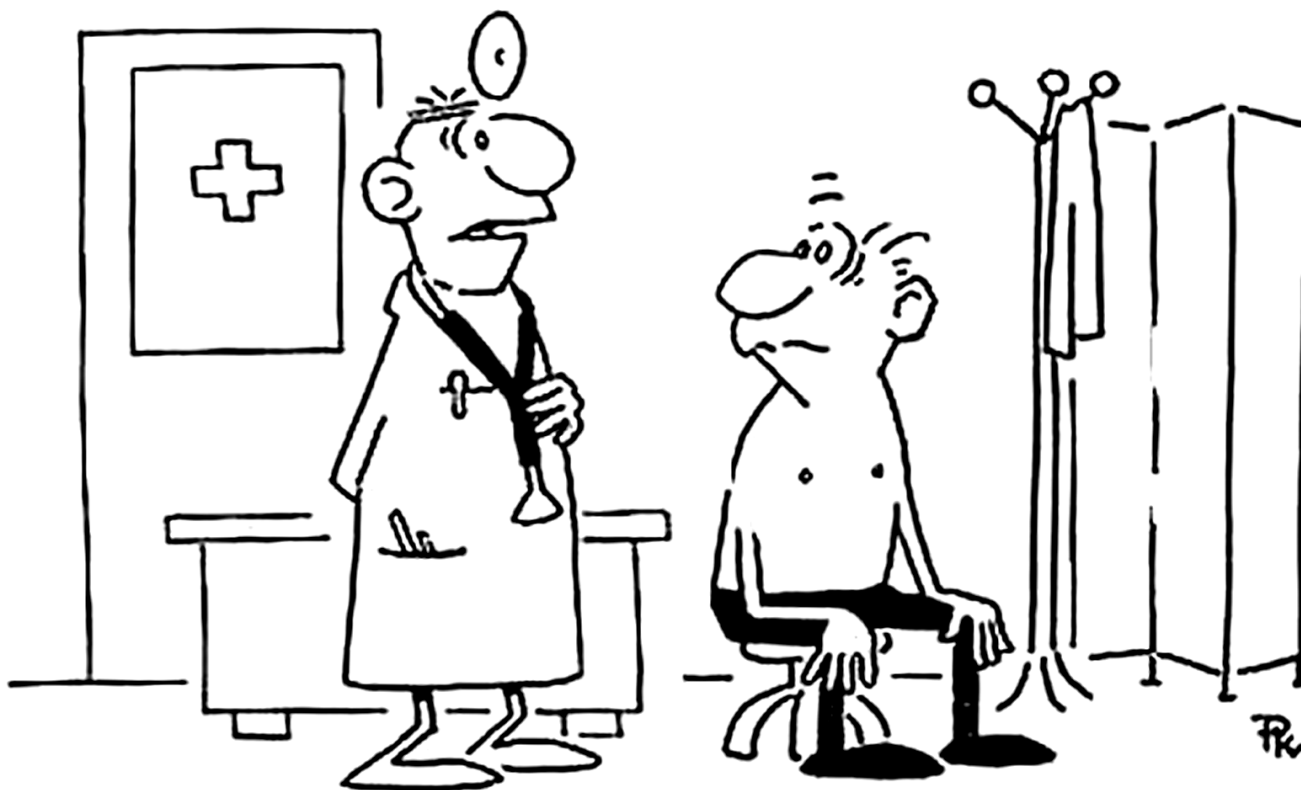
Chinolony

- ciprofloxacin, ofloxacin, moxifloxacin
- Inhibice syntézy nukleových kyselin- baktericidní
- G-, G+ omezeně, anaeroby omezeně
- Atypické pytojeny
- Antibiotika ohrožená v současné době výrazným vzestupem rezistence
- Selektory rezistentních kmenů
- **Kolitida vyvolaná *Cl.difficile***

Ostatní antibiotika

- 1) Ansamyciny- rifampicin: TBC, G+, infekce kostí
- 2) Sulfonamidy- kotrimoxazol: pneumocysta
- 3) Nitroimidazoly- metronidazol: anaeroby
- 4) Nitrofurany- nitrofurantoin: G-,G+ uroinfekce
- 5) (Streptograminy- Synercid)
- 6) Oxazolidinony- Zyvoxid: rezervní pro G+

Děkuji za pozornost



"No, já bych začal tou dobrou zprávou. Bude se o vás psát v lékařských sbornících."