



# ROZDĚLENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK, VYŠETŘOVÁNÍ CITLIVOSTI

---

M.Hanslianová  
Antibiotické středisko  
OKM FN Brno

# 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

# Antibiotika

---

## Léčiva používaná k profylaxi a terapii infekčních onemocnění

- 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**

- Při alergii na peniciliny existuje asi 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
- Neurotoxická (aminoglykosidy-ototoxická)
- Hepatotoxická (tetracykliny)
- Nefrototoxická (aminoglykosidy, vankomycin, amfotericin B)
- Hematotoxická (chloramfenikol)
- Lokální toxická (Synercid-flebitidy)






---

## ➤ **NÚ biologické**

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

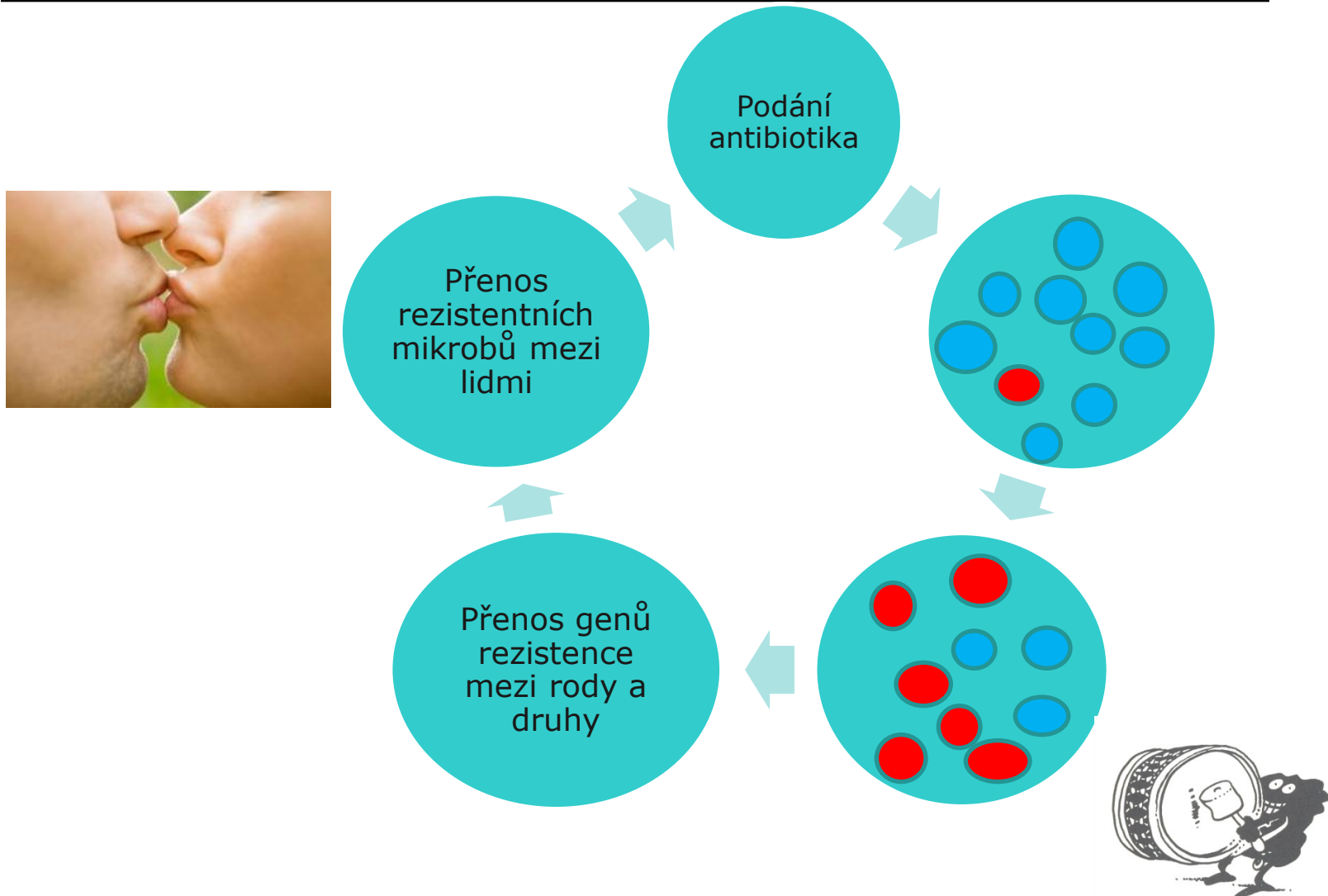
### 3) Účinek na prostředí= ekologický účinek antibiotik


---

○ Vznik a šíření rezistentních bakteriálních kmenů!!!!

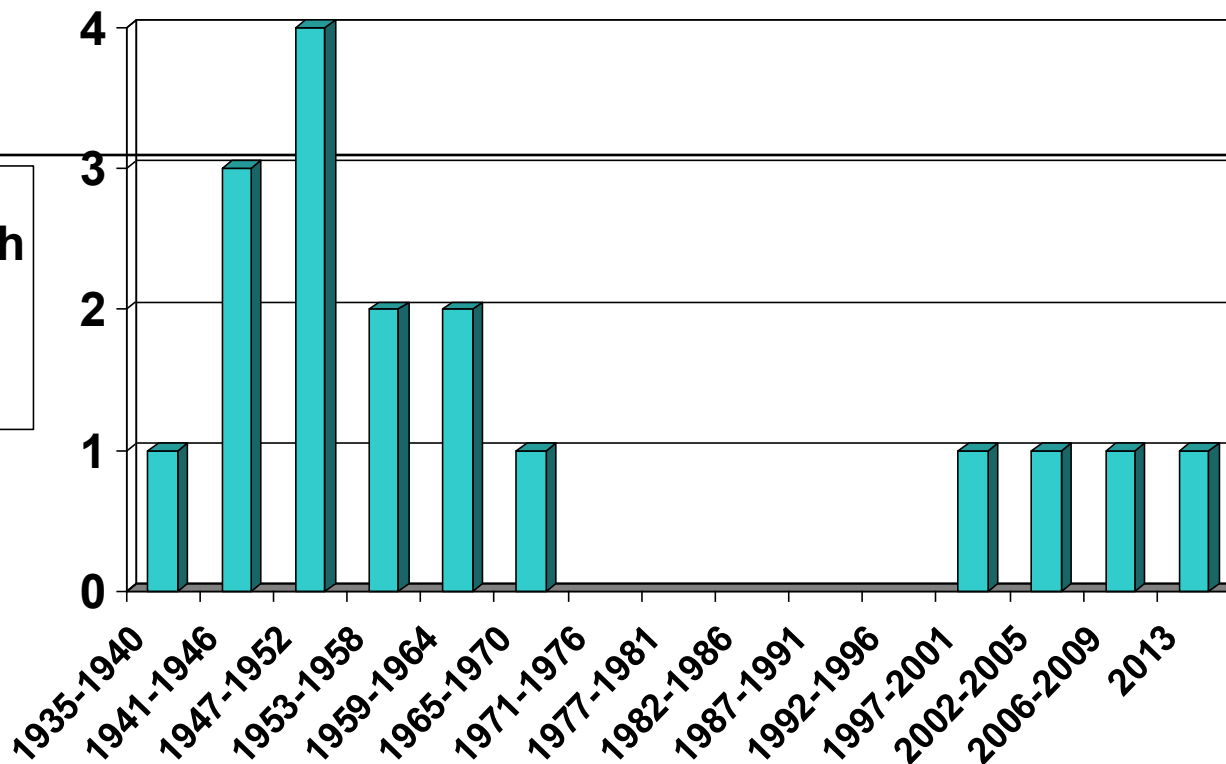
○ Antibiotika mají ve skupině léčiv unikátní postavení- jejich podání ovlivňuje nejen makroorganismus, jehož infekce je léčena, ale celou populaci

# Mechanismus vzniku a šíření rezistence



- 
- 
- Největším rizikem pro vznik rezistence je neadekvátní podávání antibiotik
  - Nesprávné indikace podání (respirační virózy)
  - Nesprávné dávkování (velikost dávky, dávkovací interval...)

■ počet nových skupin antibiotik



1935-1940: sulfonamidy

1941-1946: peniciliny, aminoglykosidy, cefalosporiny

1947-1952: chloramfenikol, tetracykliny,  
makrolidy, linkosamidy

1953-1958: glykopeptidy, rifamyciny

1959-1964: nitroimidazoly, chinolony

1965-1970: trimetoprim

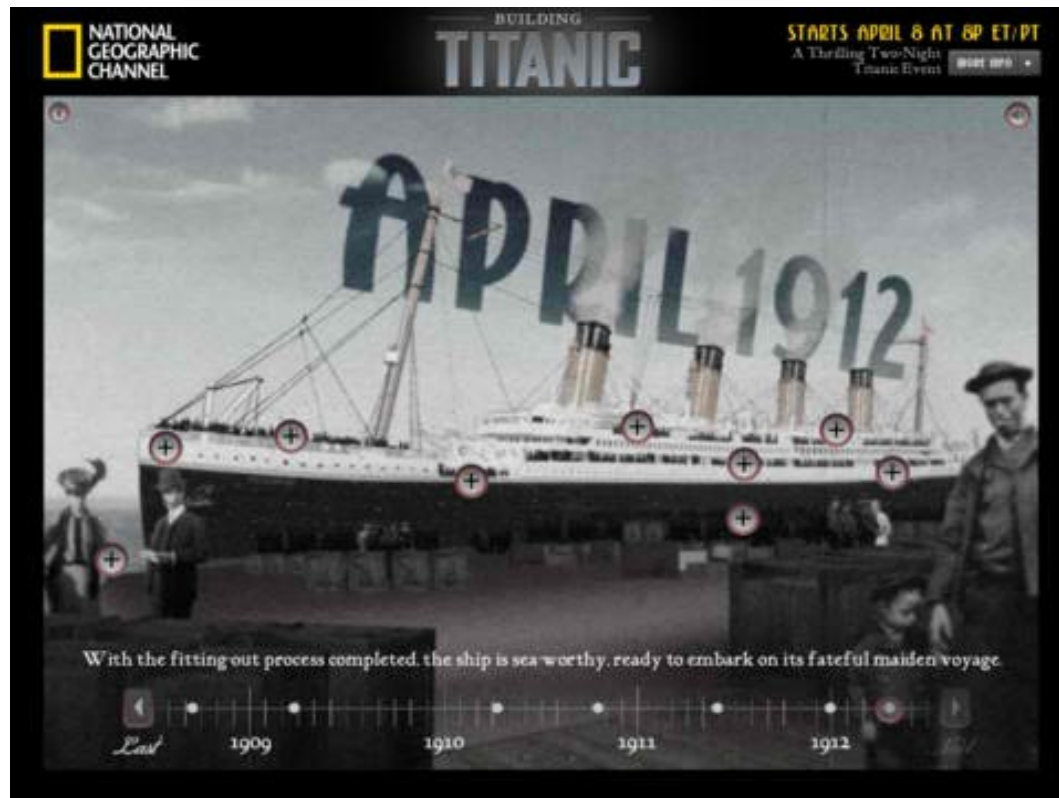
1997-2001: oxazolidinony

2002-2005: lipopeptidy

2006-2009: glycylycykliny

2013: makrocyclická antibiotika

# Nová antibiotika?




# Betalaktamová antibiotika

---

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



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



---

○ Peniciliny:

- Stále 100% účinnost vůči *Streptococcus pyogenes*
- Rozšířené antimikrobiální spektrum u preparátů s inhibitorem betalaktamázy (Augmentin, Unasyn, Tazocin)



---

- Cefalosporiny:

- I-IV generace

- Od I do III generace klesá účinnost na grampozitivní bakterie a stoupá účinnost na gramnegativní bakterie

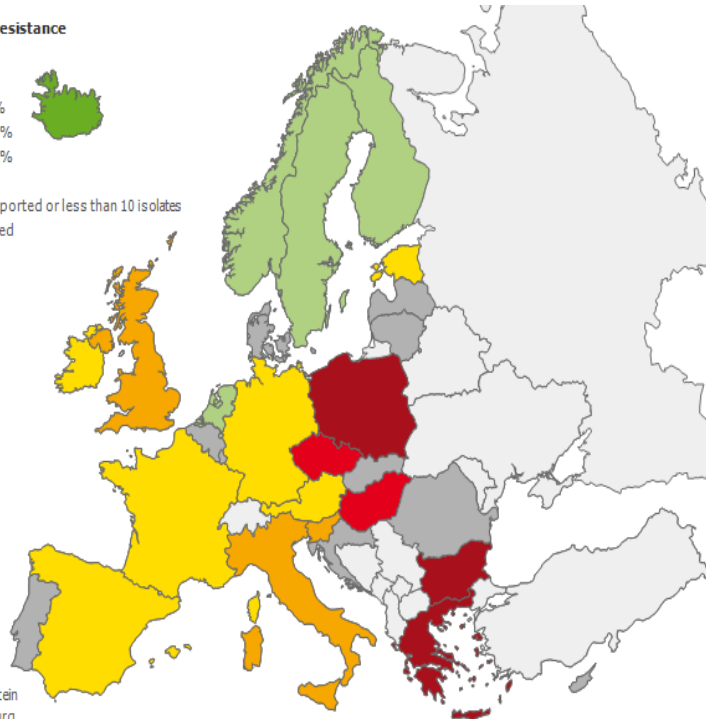
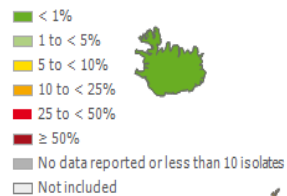
- IV generace- G+ i G-

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

2005

2014

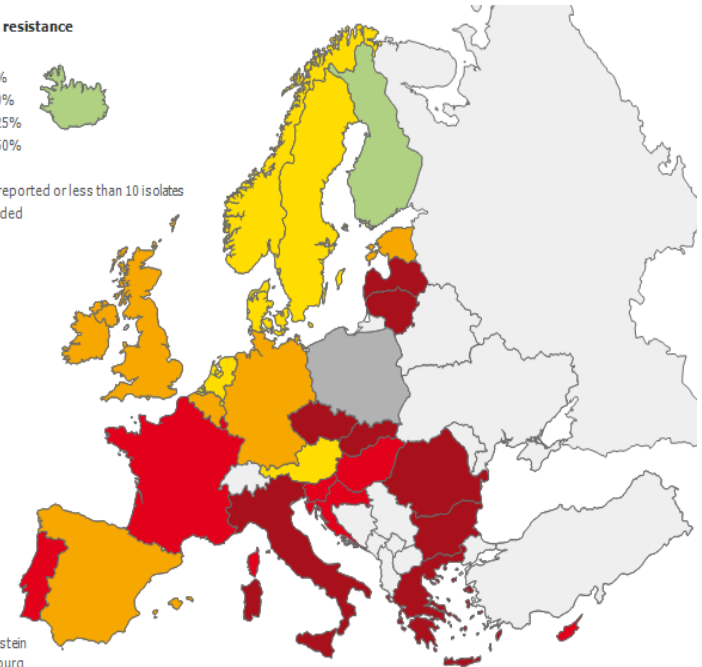
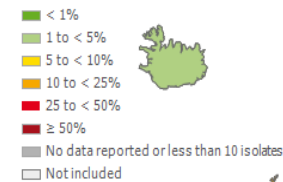
Percentage resistance



■ Liechtenstein  
■ Luxembourg  
■ Malta

(C) ECDC/Dundes/TESSy

Percentage resistance



■ Liechtenstein  
■ Luxembourg  
■ Malta

(C) ECDC/Dundes/TESSy

# Rezistence

---

○ = necitlivost mikroorganismů k antimikrobiálním látkám

- 1) Primární (přirozená)
- 2) Získaná

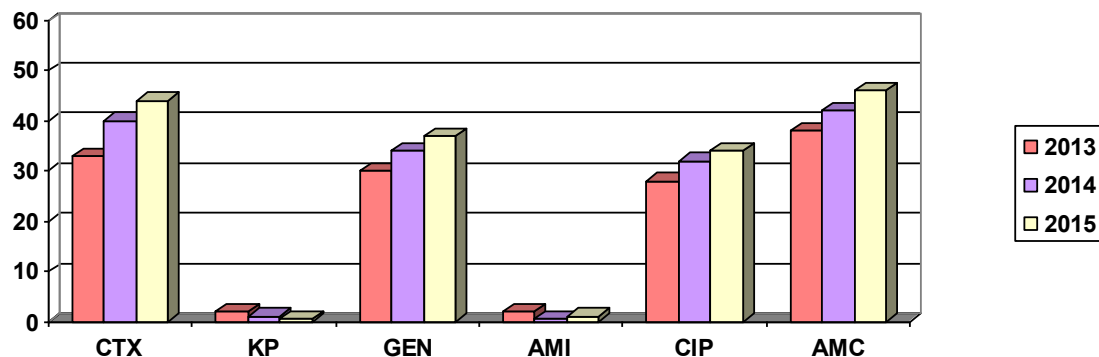
- Změna cílové molekuly
- Zhoršený průnik antibiotika do buňky
- Aktivní eflux
- **Inaktivace vlivem bakteriálních enzymů (betalaktamázy)**

# Betalaktamázy

---

- Betalaktamázy úzkého spektra
- Betalaktamázy širokého spektra (**ESBL**, AmpC, KPC, MBL)

# %rezistence *Klebsiella* spp. k vybraným antibiotikům, PMDV, FN Brno



	CTX /CTZ*	KP**	GEN	AMI	CIP	AMC /PPT***
ESCO	17	<0,5	10	<1	18	20
KLSP	44	<1	37	1	34	46
PSAE	14	15/14	17	4	23	17

2015

AMC=amoxicili/kys.klavulanová, AMI=amikacin, CIP=ciprofloxacin, CTX=cefotaxim, CTZ=ceftazidim, GEN=gentamicin, PPT=piperacilin/tazobaktam, KP=karbapenemy



---

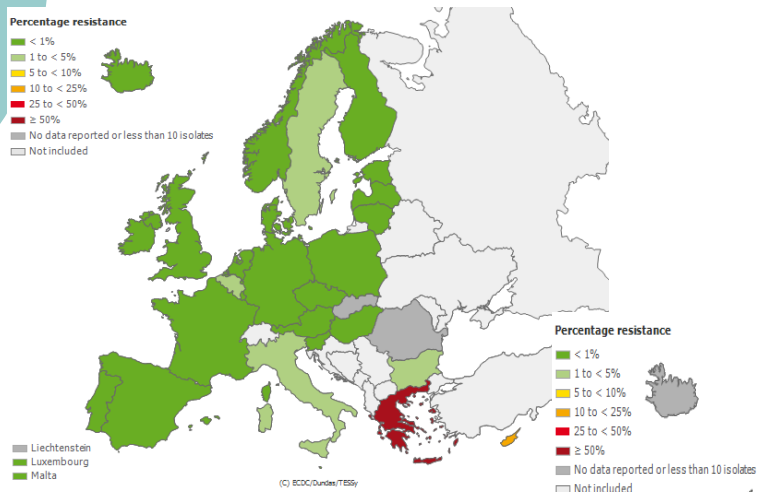
- Karbapenemy:

- Rezervní antibiotika zejména u infekcí vyvolaných enterobaktériemi!!

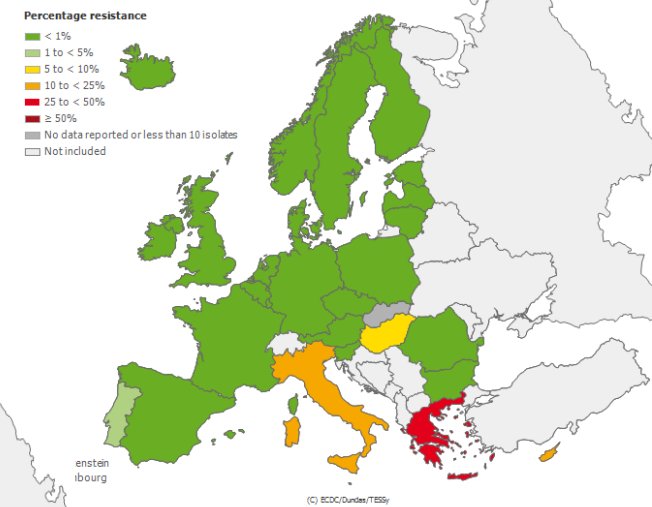


# Rezistence *Kl.pneumoniae* ke karbapenemům, EARS-net, srovnání let

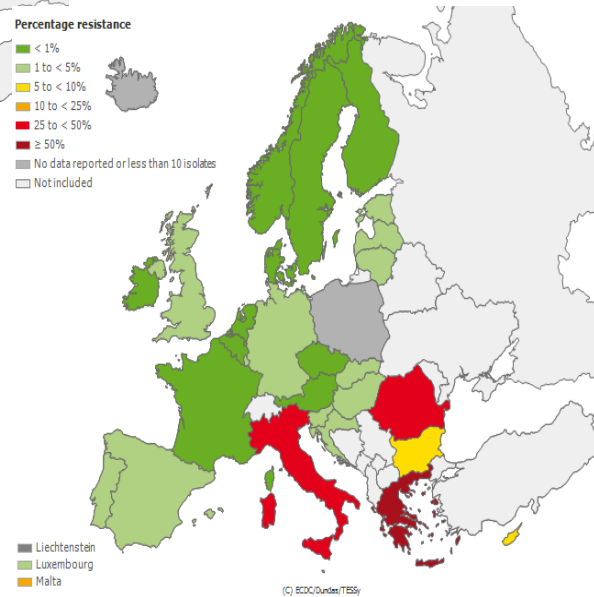
2009



2010



2014



# Makrolidy

---

- erythromycin, klarithromycin, azithromycin
- Inhibice proteosyntézy-bakteriostatické
- Lék volby u alergiků na penicilinová antibiotika
- Účinek na tzv. „atypické mikroby“ (mykoplasmata, ureoplasmata, chlamydie, legionely)

# Linkosamidy

---

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

# Tetracykliny

---

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

# Aminoglykosidy

---

- gentamicin, tobramycin, amikacin
- Inhibice proteosyntézy- baktericidní!
- Pouze parenterální
- Nefrotoxické, ototoxické- nutnost měření hladin
- Prokázaná synergie s betalaktamy

# Amfenikoly

---

- chloramfenikol
- Inhibice proteosyntézy-  
bakteriostatický
- 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
- Toxické- nefrotoxicita
- V současné době **jediné** fungující antibiotikum u polyrezistentních kmenů gramnegativních bakterií

# Glykopeptidy

---

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

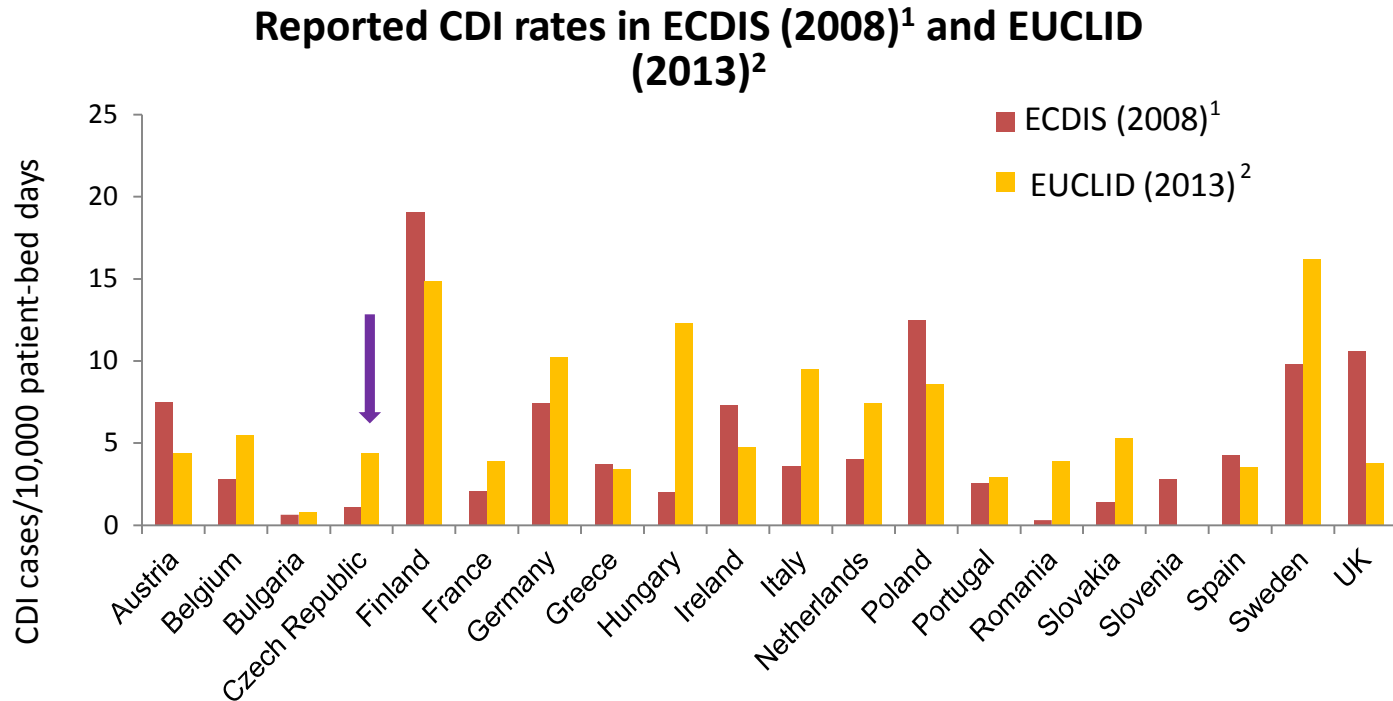


# Chinolony

---

- ciprofloxacin, ofloxacin, norfloxacin
- Inhibice syntézy nukleových kyselin- baktericidní
- Antibiotika ohrožená v současné době výrazným vzestupem rezistence
- Selektory rezistentních kmenů
- **Kolitida vyvolaná *Cl.difficile***

# Comparison of reported CDI rates between two large European studies



- Mean of 6.6 cases/10,000 patient-bed days in EUCLID (482 hospitals)<sup>2</sup> compared with mean of 4.1 cases/10,000 patient-bed days reported by ECDIS (87 hospitals)<sup>1</sup>

ECDIS, European *C. difficile* infection surveillance network; EUCLID, European, multi-centre, prospective, bi-annual point-prevalence study of *C. difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea

1. Bauer MP, et al. Lancet 2011;377:63–73;
2. Davies KA, et al. Poster presented at ECCMID 2013; LB2968.

# Ostatní antibiotika

---

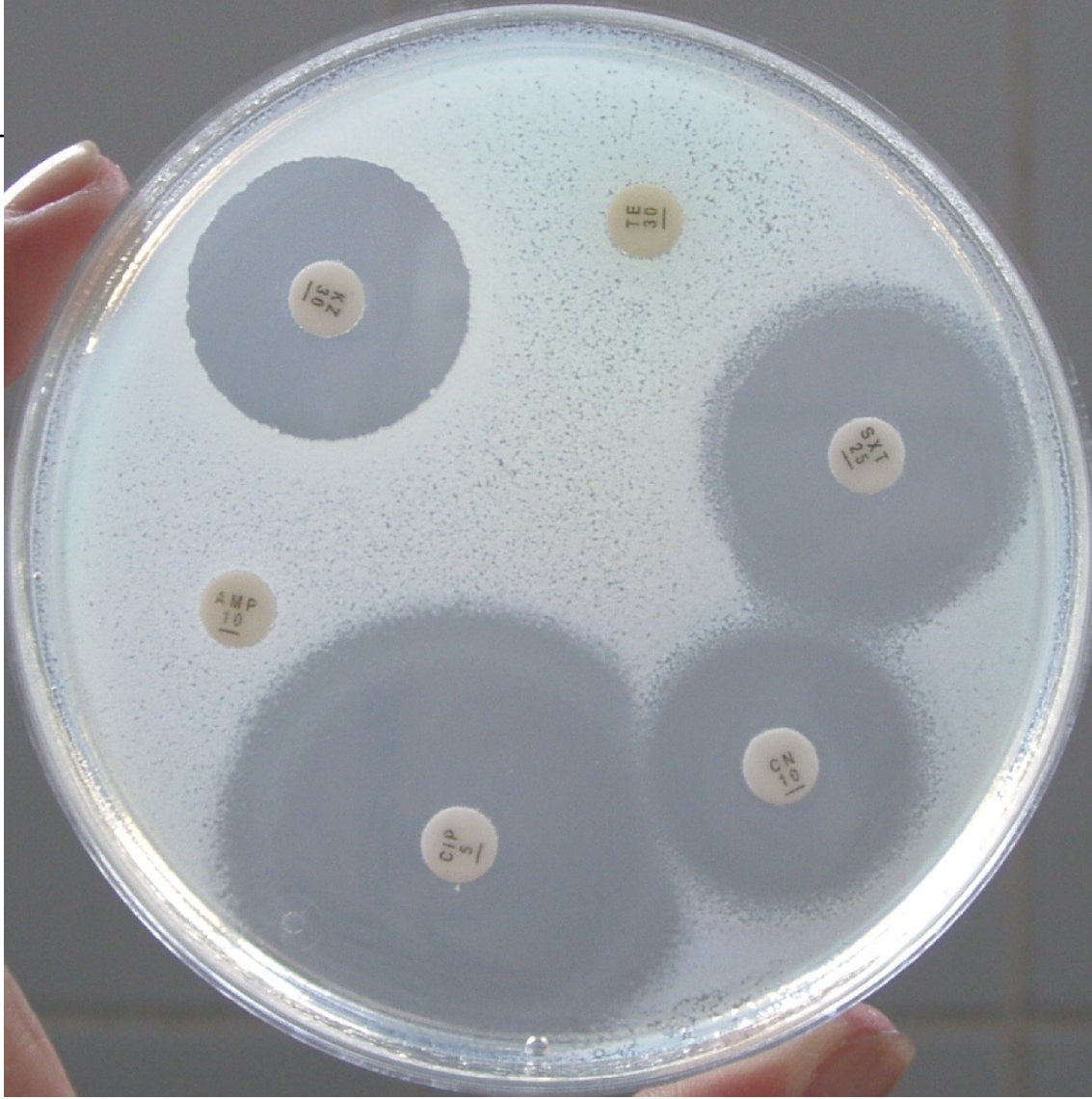
- 1) Ansamyciny- rifampicin
- 2) Sulfonamidy- kotrimoxazol
- 3) Nitroimidazoly- metronidazol
- 4) Nitrofurany- nitrofurantoin
- 5) Streptograminy- Synercid
- 6) Oxazolidinony- Zyvoxid

# Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům

---

## 1) **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




# 1) Půdy

---

- Mueller Hinton agar (MHA)-  
nejpoužívanější, nízký obsah  
antagonistů antibiotik
- MHA+ 5% ovčí krve- pro náročnější  
baktérie (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 (1,5-3x 10 na 8 buněk/ml)
- Správné inokulum= splývavý růst kmene

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

### 3) Antibiotické disky

---

- Sestavy antibiotik podle vyšetřované bakterie (doporučené sestavy-NRL pro antibiotika)
- Základní a rozšířené řady
- Sestavy antibiotik podle klinického materiálu
- Terapeutické disky, diagnostické disky

- 
- 
- Inkubace 18-24 hodin při 36 st.C
  - Aerobní, anaerobní, mikroaerofilní (5% CO<sub>2</sub>) prostředí
  - Hodnocení inhibiční zóny- porovnání s hraničními hodnotami pro citlivé kmeny
  - 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

---

## 2) **Diluční mikrometoda**


hodnotí se MIC v jamkách mikrotitrační destičky, které obsahují zvolené koncentrace antibiotik v bujónu

MIC= první nezkalená jamka mikrotitrační destičky







- 
- 
- Inokulum (ředění 1:10)
  - Očkování
  - Inkubace
  - Sestavy antibiotik

## 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*-meningitis x pneumonie

# MIC- nevýhody

---


- Obtížné stanovení různých typů rezistence a produkce betalaktamáz



# E test

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



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