



# ROZDĚLENÍ ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK, VYŠETŘOVÁNÍ CITLIVOSTI

---

M. Hanslianová  
Oddělení klinické mikrobiologie  
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)
- Nefrotoxická (aminoglykosidy, vankomycin, amfotericin B)
- Hematotoxická (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 těla vlastní!!

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

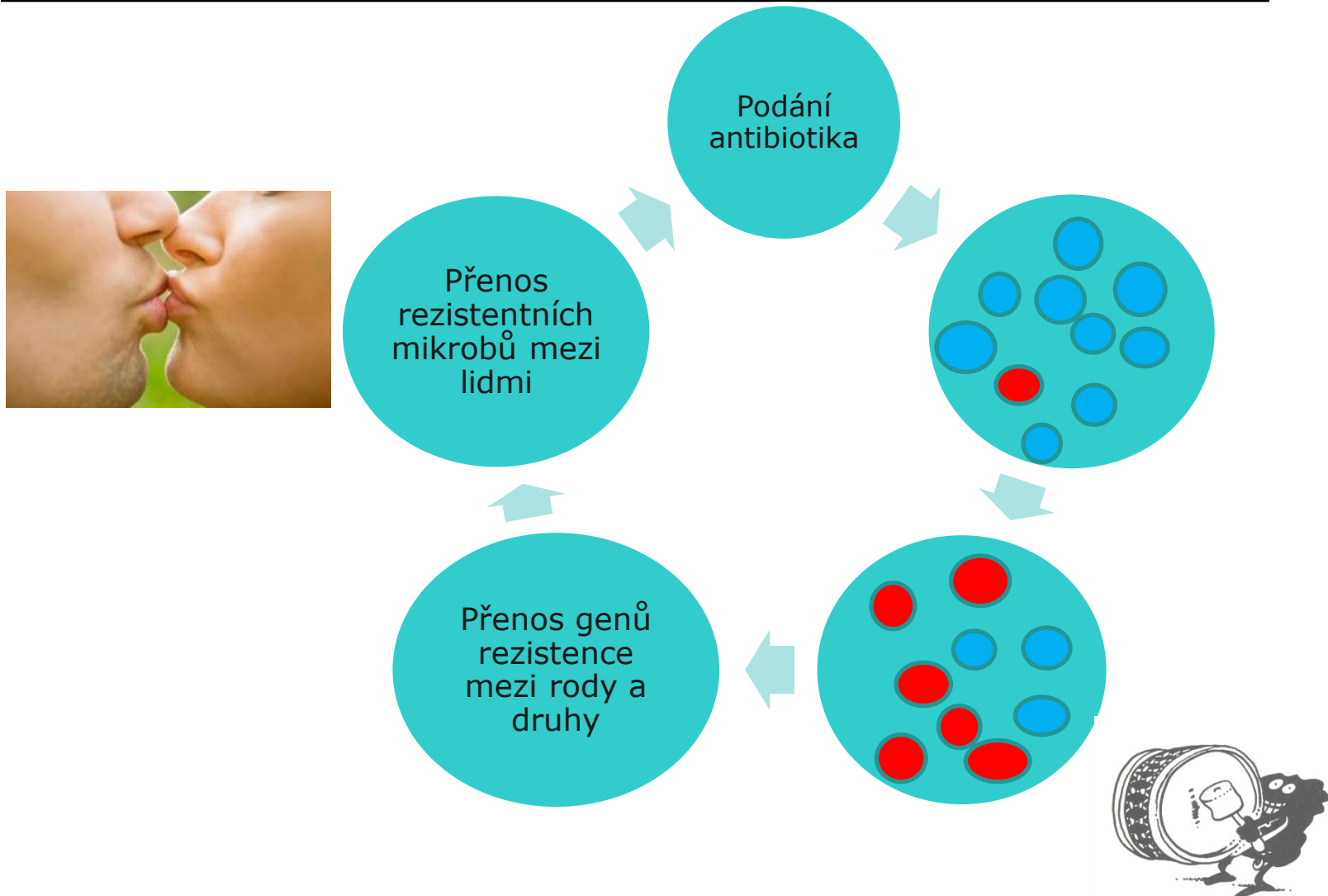
Poruchy fyziologické mikroflóry mohou vést k závažným onemocněním, často těžším, než byla základní choroba

### 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



# 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)**

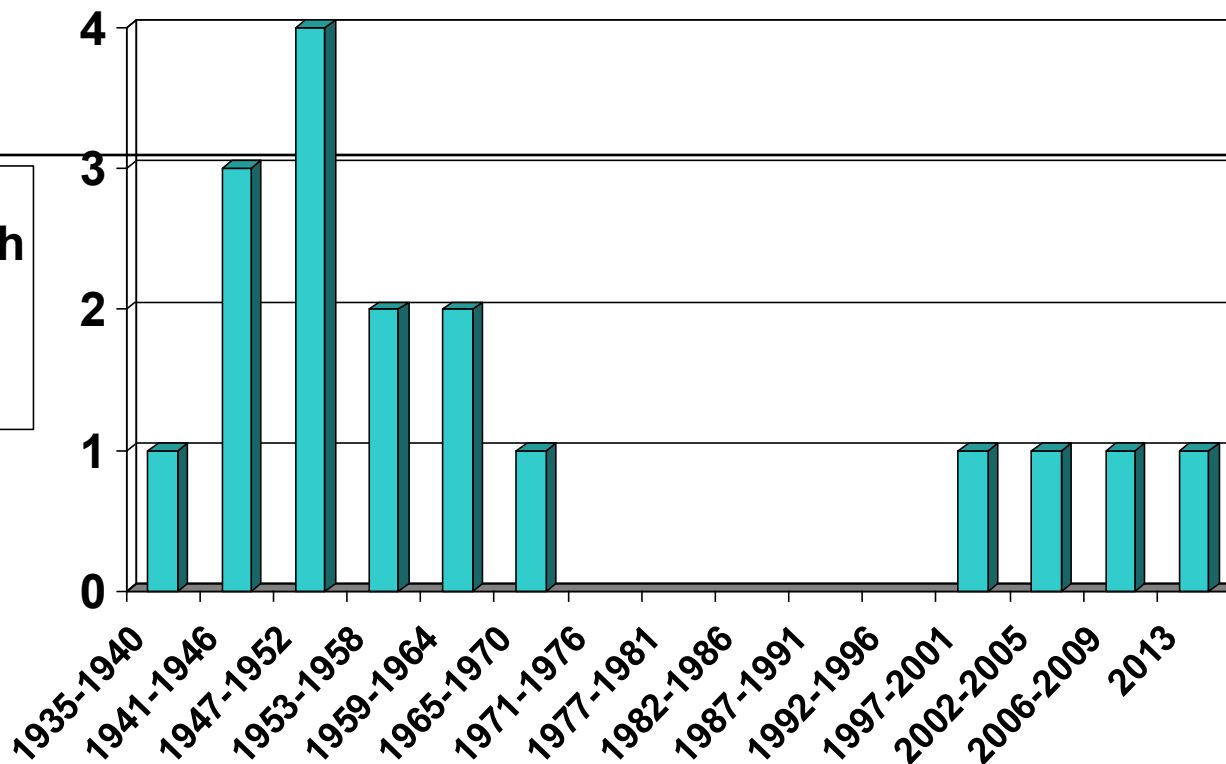
# Betalaktamázy

---

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

- 
- 
- 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

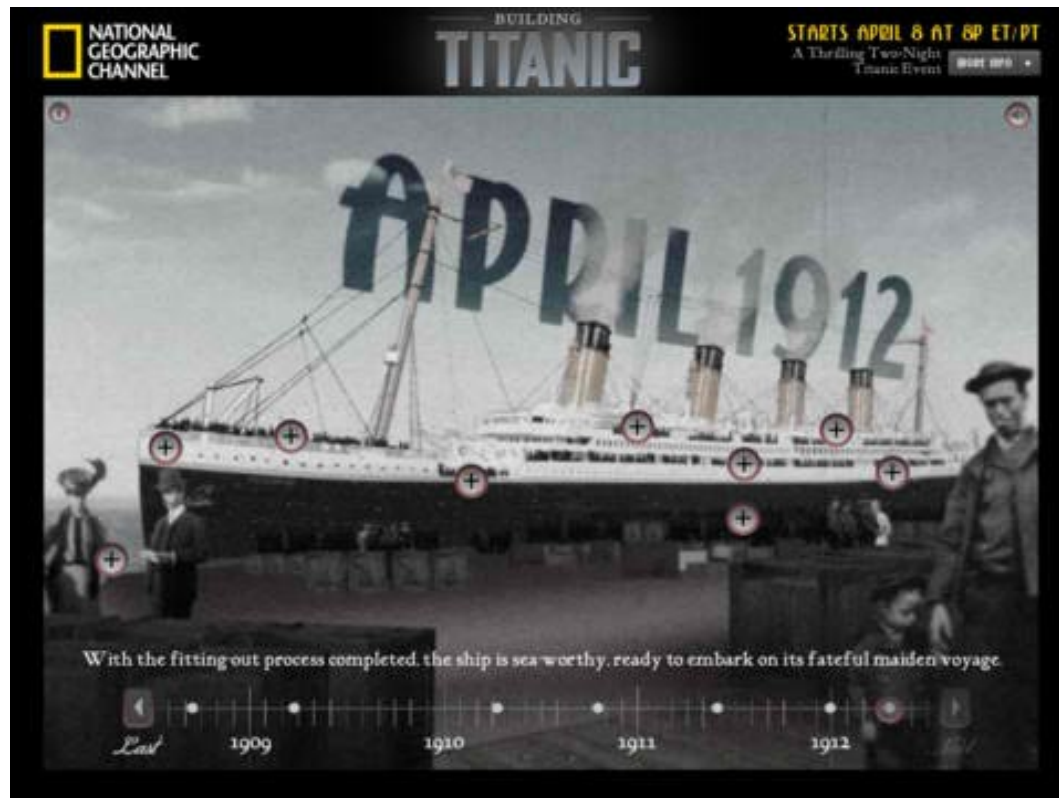
2002-2005: lipopeptidy

2006-2009: glycylycykliny

2013: makrocyclická antibiotika



# Nová antibiotika?



# Rozdělení antibiotik


---



# 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)



---

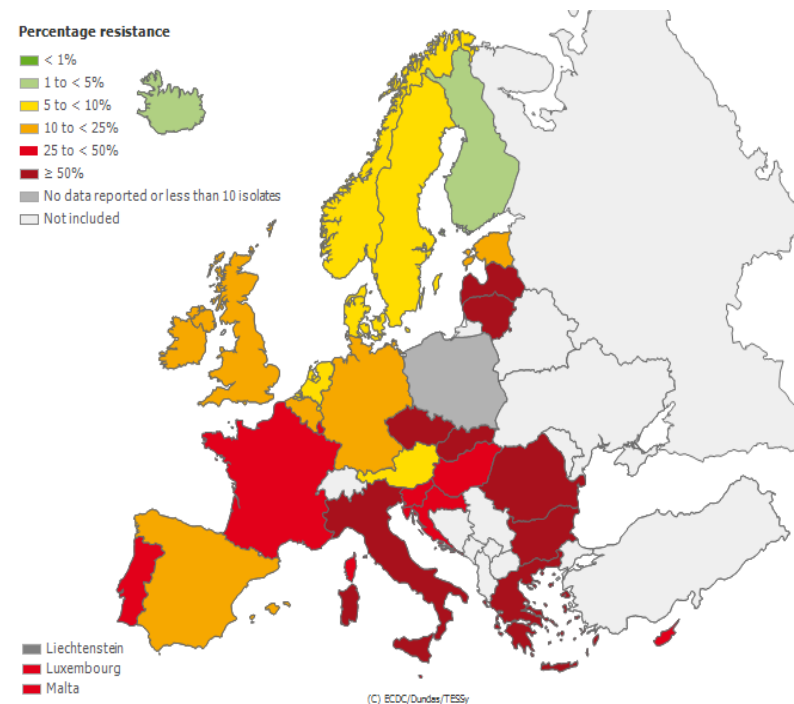
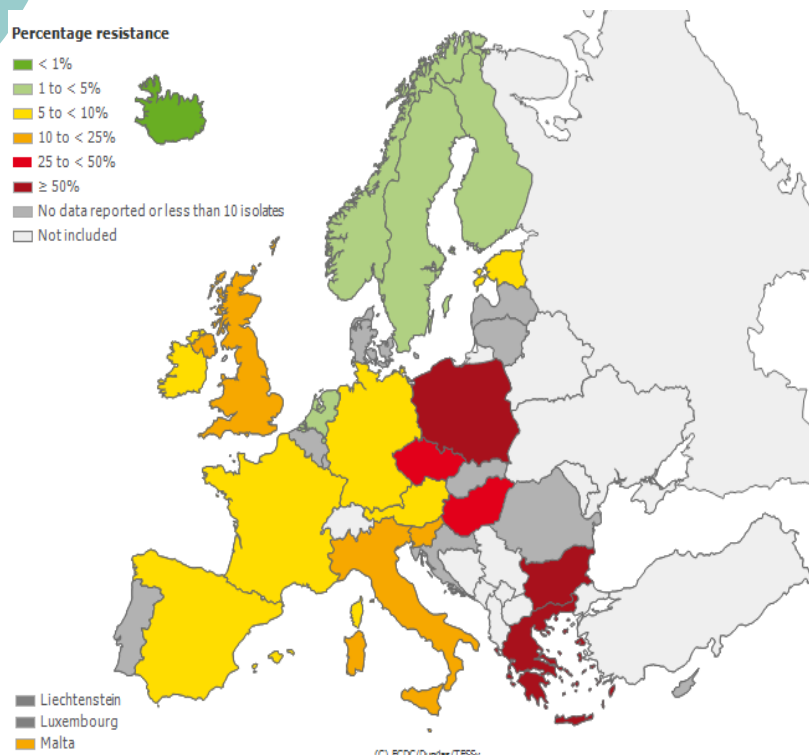
- Cefalosporiny:

- I-IV/V generace
- Od I do III generace klesá účinnost na grampozitivní bakterie a stoupá účinnost na gramnegativní bakterie
- IV generace- G+ i G-
- V generace- spektrum jak III generace+ MRSA

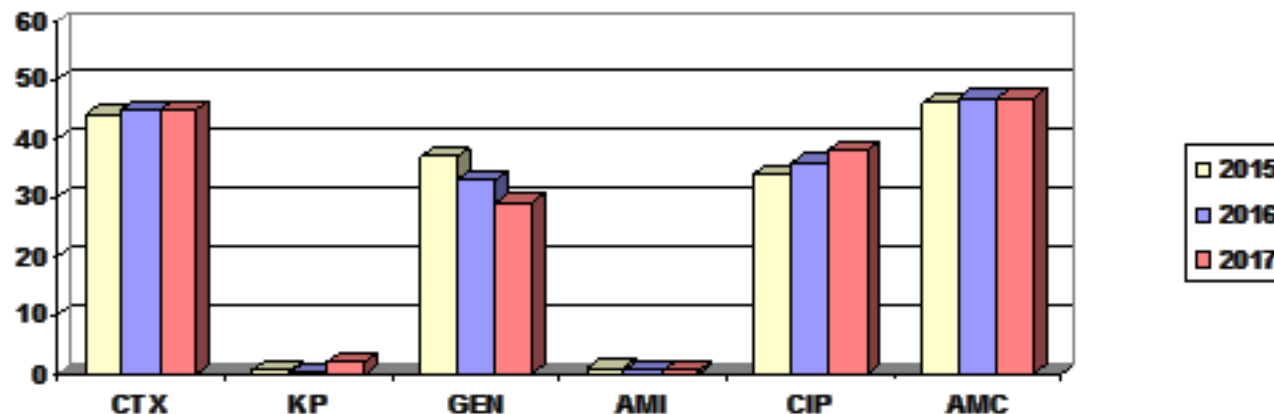
# Rezistence *Klebsiella pneumoniae* k CEF III, EARS-net, srovnání let

2005

2014



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



|      | CTX /CTZ* | KP**  | GEN | AMI | CIP | AMC /PPT**<br>* |
|------|-----------|-------|-----|-----|-----|-----------------|
| ESCO | 15        | 0     | 7   | <1  | 20  | 18              |
| KLSP | 45        | 2     | 29  | <1  | 38  | 47              |
| PSAE | 11        | 14/12 | 15  | 6   | 21  | 15              |

2017

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





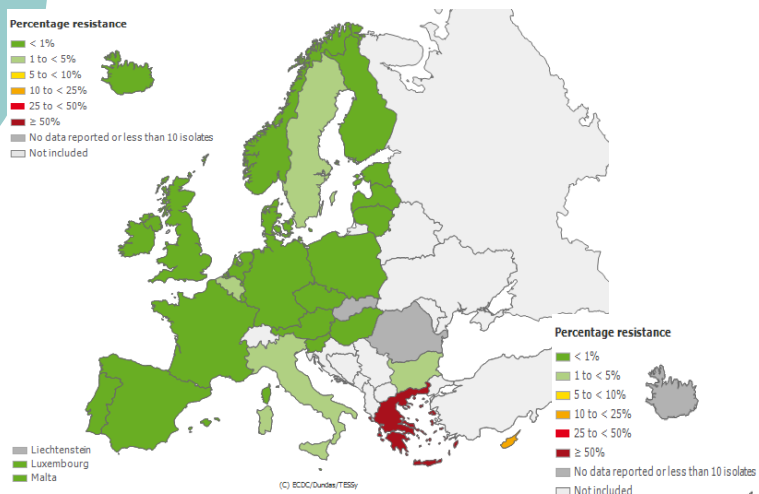
---

○ Karbapenemy:

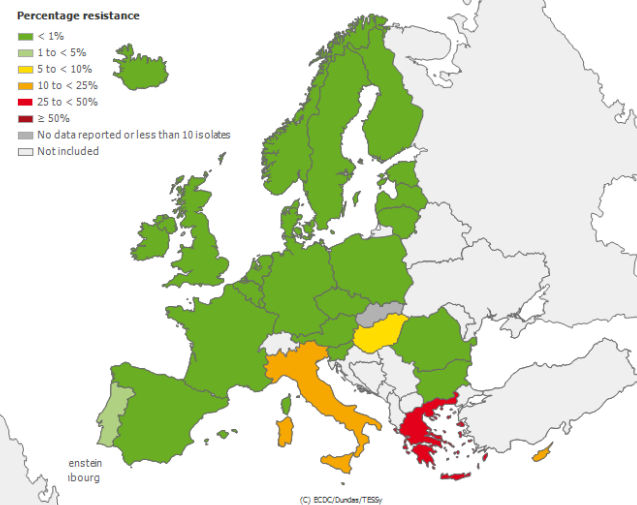
- Meropenem, imipenem, ertapenem
- Rezervní antibiotika zejména u infekcí vyvolaných enterobaktériemi!!
- Karbapenemázy- enzymy štěpící VŠECHNA betalaktamová antibiotika

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

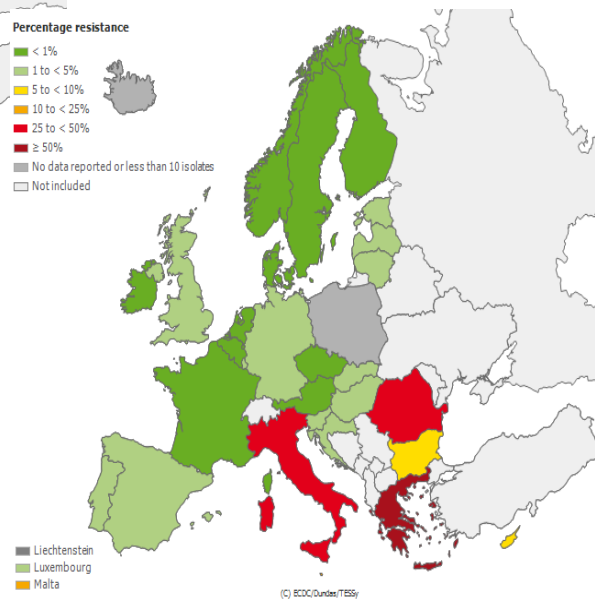
2009



2010



2014



# Rezistence- aktuální hrozba

## 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](#)

[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



PRINCIPAL  
UNDERWRITER



LEADING  
UNDERWRITER



---

- Monobaktamy

- Aztreonam- v současné době na trhu nedostupný

- Ve vývoji aztreonam+avibactam-  
účinek vůči karbapenemázám

# 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

---

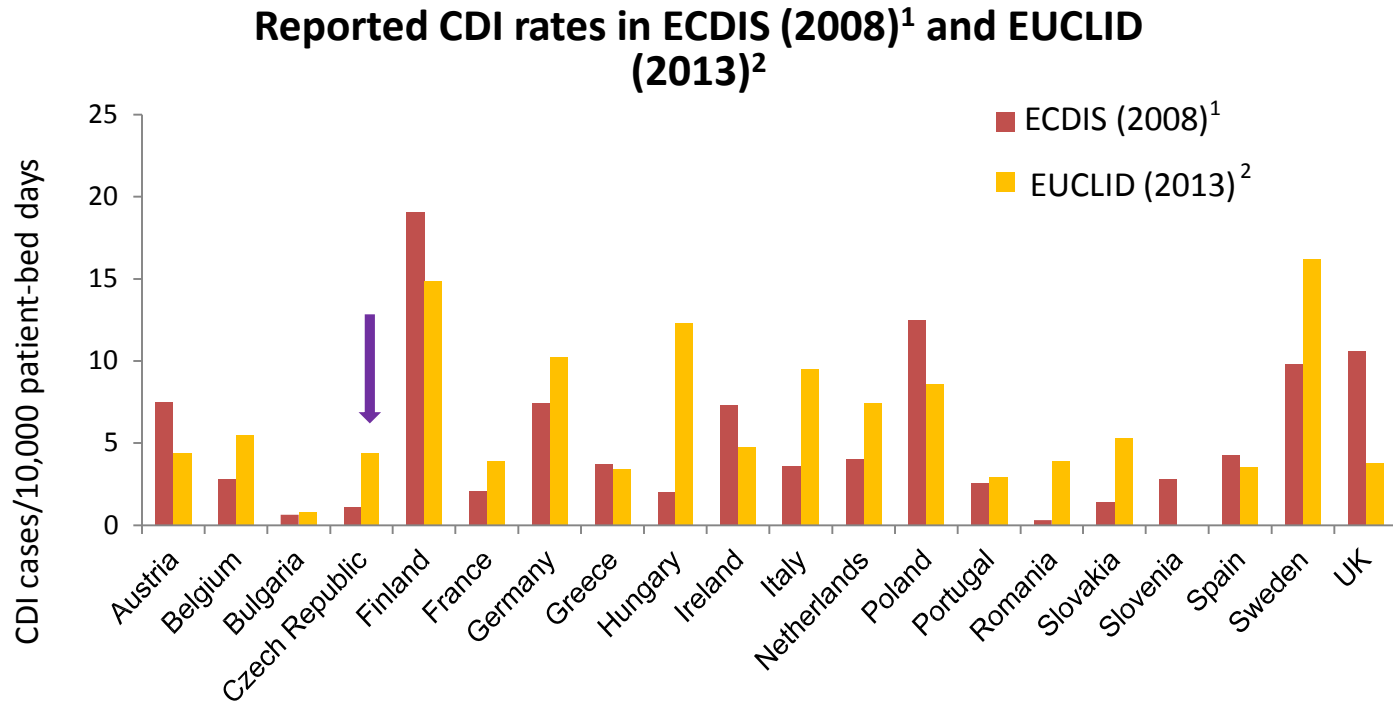
- vankomycin, teikoplanin, dalbavancin
- Inhibice syntézy buněčné stěny- baktericidní
- Rezervní antibiotika pro rezistentní stafylokoky a enterokoky
- Nefro-, ototoxicita

# 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

---

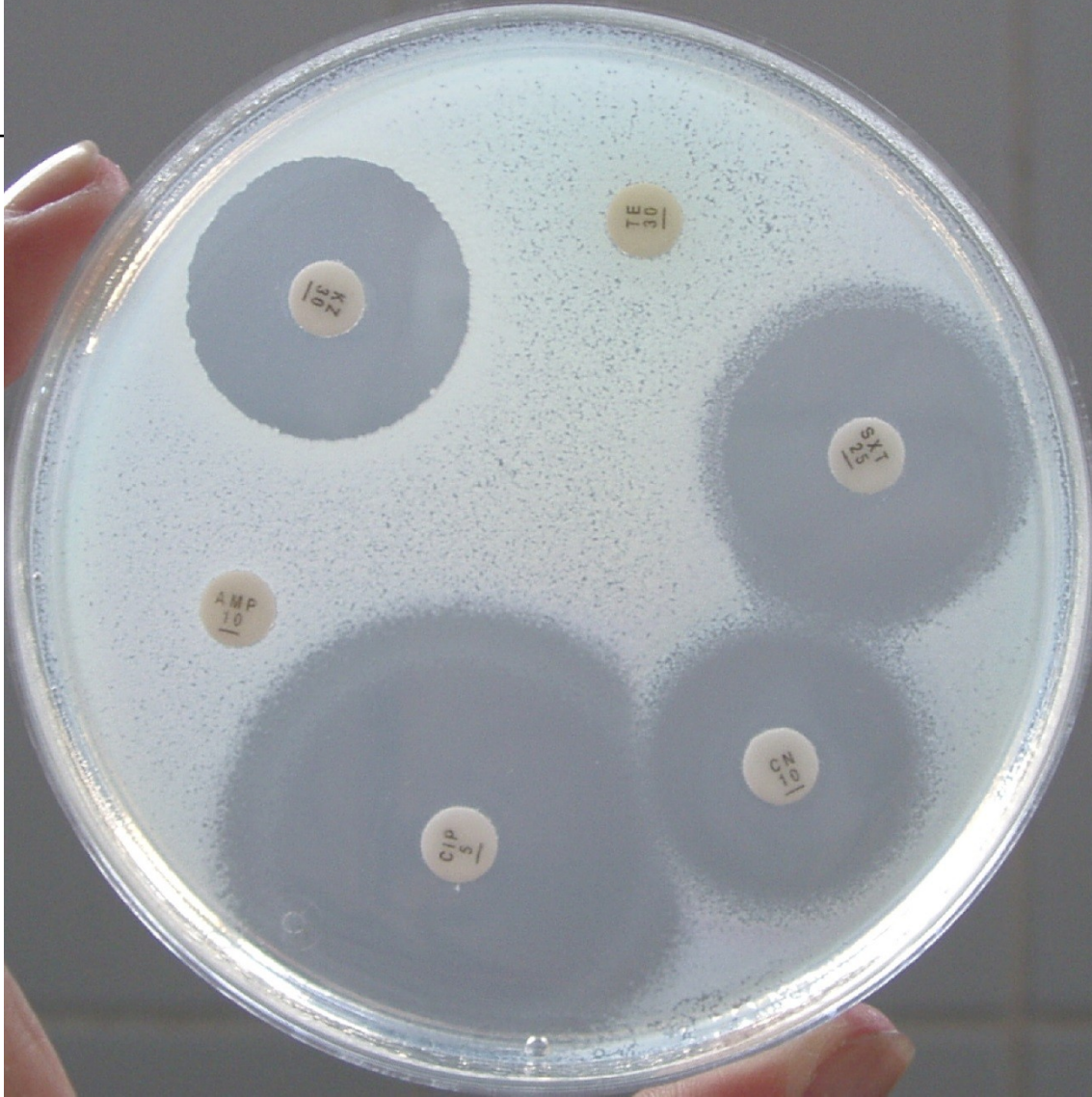
- 1) Ansamyciny- rifampicin
- 2) Sulfonamidy- kotrimoxazol
- 3) Nitroimidazoly- metronidazol
- 4) Nitrofurany- nitrofurantoin
- 5) Streptograminy- Synercid
- 6) Oxazolidinony- Zyvoxid

# Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- 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






# 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- MIC

---


## **1) 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*-penicilin meningitis x pneumonie

# MIC- nevýhody

---

- Obtížné stanovení různých typů rezistence a produkce betalaktamáz

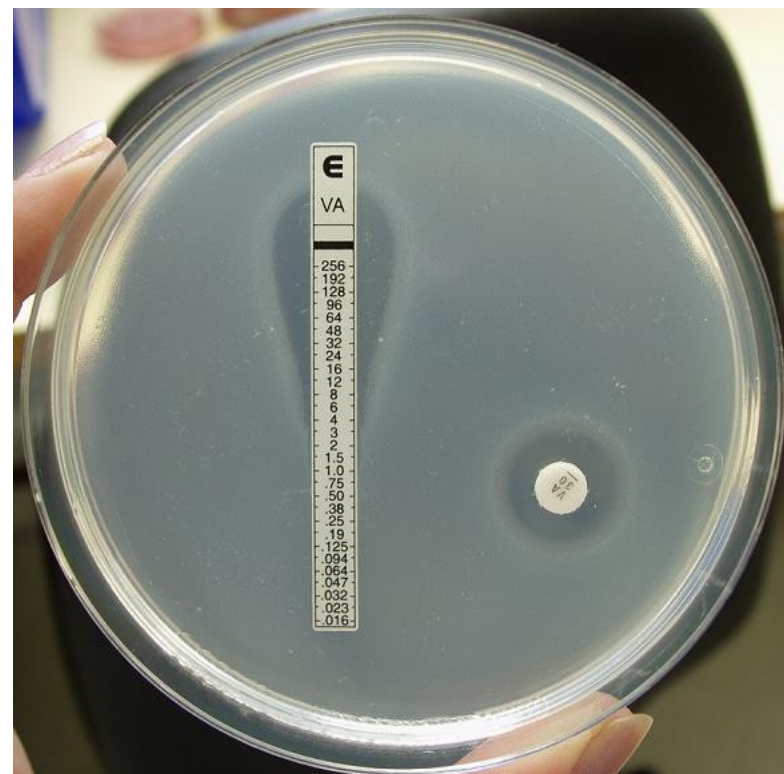




# Vyšetřování citlivosti bakterií k antibiotikům- MIC

## 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