**Antibiotica**

**56. Bespreek verschillende methoden voor gevoeligheidsbepaling van bacteriën tegen antibiotica. Wanneer gaat u daarbij besluiten dat een bacterie resistent is? En met welke factoren moet men rekening houden bij toedienen van een antibioticum?**

* Verdunningsmethode: reeks verdunningen van antibioticum in groeimedium enten met testorg en incuberen. Concentratie in hoogste verdunning waarin na incubatie gn merkbare groei optreedt: MIC waarde
* Agar-incorporatiemethode: ~ verdunningsmethode, maar in vast bodem, met streep- of stipenting
* Agardiffusiemethode: met antibioticum doordrenkt filterpapiertje w op geïnoculeerd agarbodem gelegd en antibioticum zal tijdens incubatie in medium diffunderen→ groei behalve in inhibitiezone rond filter. Grootte zone afh van diffusiesnelheid antibioticum, gevoeligheid en groeisnelheid bacterie, en is omgekeerd evenredig met het MIC
* MIC-bepaling via E-test: ~ Admeth, maar met filterpapierstrip met stijgende [] gradiënt
* Gevoeligheidsbepaling bij vaste concentraties: bep [antibioticum] met vaste bodem mengen (meestal 2 []); geeft enkel een graad v gevoeligheid of resistentie aan

Stam is resistent als MIC waarde hoger ligt dan de gemiddelde [plasma] die men *in vivo* bereikt bij parenterale toediening van het antibioticum in hoge dosis

Het aantal bacteriën in het oorspronkelijk medium en het groeimedium kunnen de gevoeligheid beïnvloeden.

ADME; absorptie, distributie, metabole activiteit en excretie: de farmacokinetische eigenschappen van antibiotica. Bepalen mede de halfwaardetijd.

**57. Noem verschillende mechanismen die aan de basis kunnen liggen van antibiotica resistentie. Illustreer telkens met een voorbeeld.**

* Enzymatische wijziging van het antibioticum of het doelmolecule
	+ hydrolyse β-lactamase
	+ Fosforylatie/adenylatie aminoglycoside antibiotica
	+ methylatie 23S riboRNA voor resistantie tegen macrolide-antibiotica
* Mutationele modificatie van doelmolecule
	+ Aanmaak van bindingsproteïnen voor β-lactam antibiotica
	+ Ribosomen voor macroliden
	+ DNA gyrase voor quinolonen
* Opnameverstoring
* Verminderde opname: LPS membraan van G- bevat porine proteïnen, die selectief hydrofiele moleculen in de cel toelaat. Verlies porines = resistentie tegen bvb cefalosporines en bepaalde penicillines
* Verhoogde efflux b.v. bacteriën pompen het antibioticum uit de cel *Enterobacteriaceae* resistentie voor tetracyclines (TetB)
* Concentratieverhoging van doelmolecule
* Duplicatie van functie van doelmolecule: Trimethoprim-resistentie

**58. Bespreek vancomycine, werkings- en resistentiemechanisme(n) en spectrum.**

* Bindt eindstandige D-Ala-D-Ala residues van peptidoglycaan precursoren→ verhindert incorporatie in celwand→ accumulatie van precursoren in cp
* Deze binding inhibeert de werking van:
	+ Glycosyltransferase
	+ Transpeptidases (nodig om de cross-linking van peptidoglycaan te maken)
* Resistente bacteriën hebben gemuteerd D-ala-D-ala uiteinde van het pentapeptide naar *D*-ala-*D*-Lac door dehydrogenase (VanH) en ligase (VanA)→ verlies van H-brug binding en verlaagde affiniteit voor vancomycine. Van A; hoge resistentie tegen zowel VM als TE, VanB; gevariëerde resistentie tegen enkel VM
* Eng spectrum: G+ en sommige Neisseria, werkt bactericide

**59. Bespreek β-lactam antibiotica in het algemeen: werkingsmechanisme en resistentieontwikkeling.**



* + Interfereren met PBP-gemedieerde peptidoglycanlaagbiosynthese door te binden aan de penicillin-binding proteins (PBPs) (transpeptidase/carboxypeptidases)
	+ Inhibitie van PBPs leidt tot inhibitie van peptidoglycaansynthese; transpeptidase zorgt voor crosslinking, endopeptidase vernietigt peptidebindingen afkomstig van transpeptidase-activiteit (creëert nieuwe groeiplaatsen) en carboxypeptidase hydrolyseert eindstandige D-Ala-D-Ala→ vrijzetting 1D-Ala (controle graad van brugvorming)
	+ Zijn allen bactericide want ze leiden tot celwandverzwakking→ cellyse
	+ G+: gemakkelijke passieve diffusie door PGL

G-: via porines door hydrofobe buitenmembraan

β-lactamases vernietigende β-lactamring. ingedeeld in klasse A, (B) C en D op basis van hun AZsamenstelling. G+ → exoenzymen. G-; blijven in periplasmatische ruimte

* + $PBP$−gemediëerde resistentie; mutatie van PBP’s, vb MRSA
	+ Verandering van membraanpermeabiliteit (in G- bacteriën)

**60. Geef basisstructuur van penicilline en verklaar waarom de β-lactamring essentieel is voor de werking. Op welke basis worden de verschillende penicillines ingedeeld en geef een voorbeeld van elke groep.**

Penicilline heeft een gelijkaardige structuur met D-Ala-D-Ala. Hierdoor kan het aan glycopeptide transpeptidase binden. De β-lactamring is het functioneel deel, nodig voor irreversibele binding aan transpeptidase zonder de vrijzetting van 1 D-Ala; Nucleofiele aanval PBP’s→ ringopening en stabilisatie via tautomerizatie→ stabiliteit PBP-penicilline complex→ inactivatie PBP→ cellysis

Op basis van zuurresistentie;

1. eng spectrum, β-lactamase gevoelig; Pen G en Pen V
2. eng spectrum, β-lactamase resistent; oxacilline, methicilline
3. breed spectrum, β-lactamase gevoelig; ampicilline, amoxicilline
4. breed (uitgebreider) spectrum, β-lactamase gevoelig; carbenicilline, azlocilline
5. β-lactamases inhibitoren; cluvulaanzuur, sulbactam

**61. β-lactamase-gevoelige penicillines kunnen beschermd worden tegen β-lactamase activiteit. Verklaar. Geef eveneens het werkingsmechanisme van β-lactamase**

β-lactamases hydrolyseren de $β$-lactamring, waardoor ze hun functie nt langer kunnen uitvoeren. Substitutie op de penicillinekern van een grote zijketen vormt sterische hinder→ β-lactamasen kunnen ring niet aanvallen→ weinig gevoelig aan β-lactamasen

**62. Bespreek werkingsmechanisme en antibacterieel spectrum van cefalosporines. Verklaar eveneens het resistentiemechanisme.**

Semi-synthetische derivaten van cefalosporine C

Zelfde werkingsmechanisme als penicilline, lage antibacteriële activiteit, bactericide en weinig toxisch. Synergie met aminoglycosidische-antibiotica

Actief tegen G+, zeer actief tegen G- en S. aureus penicillinase resistent. Inactief tegen MRSA en sommige enterokokken.

Generaties (1-4) beschreven naargelang stijgende β-lactamase resistentie;

1. Eerste genera;
* Actief tegen G+, maar minder dan penicilline G.
* Actief tegen β-lactamase-producerende stafylokokken, maar niet tegen meticilline-resistente stafylokokken.
* G-; soms actief tegen E. coli, weerstandig aan aminopenicillines,en dikwijls actief tegenover Klebsiella dat steeds resistent is tegen de aminopenicillines, inactief tegen P. aeruginosa
1. Tweede genera;
* Minder actief tegen G+ kokken dan deze van de eerste groep.
* Breder spectrum tegenover G- bacillen, maar pseudomonas is weerstandig.
1. Derde genera;
* Veel minder gevoelig voor β-lactamasen dan 1ste en 2de groep, en w alleen parenteraal toegediend.
* Minder actief tegen G+ kokken
* G- bacteriën; spectrum dat de meeste enterobacteriën bestrijkt, en voor ceftazidim ook Pseudomonas aeruginosa
1. Vierde genera;
* Cefepim is duidelijk minder gevoelig voor een aantal β-lactamase
* Actief tegen zowel G+ als G-

Resistentie; vergelijkbaar met penicilline resistentie

* Permeabiliteitsbarrière: tegen 1ste en 2de genera voor P. aeruginosa
* Specifieke bacteriële bindingsproteïnen; veranderingen in structuur doelmoleculen
* Β-lactamases;
* over het algemeen resistent tegen plasmide gecodeerde-β-lactamases (G+ bacteriën zoals *S. aureus*).
* Verschillende typen van geïnduceerde β-lactamases geproduceerd door G- zijn plasmide of chromosomaal gecodeerd en kunnen hetzij penicillines, hetzij cefalosporines, hetzij beide (kruisresistentie) hydrolyseren.
* Tweede en volgende generatie cefalosporines hebben een grotere stabiliteit tegen G- β-lactamases.

**63. Chinolonen: bespreek werkingsmechanisme, antimicrobieel spectrum en resistentieontwikkeling.**

* Werken bactericide (gyraseremmers); inhiberen bacteriële DNA-gyrase en topoisomerase IV. DNA –gyrase heeft tertramere structuur van 2A (splitst en herkleeft het DNA) en 2B (ATP-binding) subeenheden => katalyseert supercoiling ccc DNA.
* Covalent gebonden topoisomerase-DNA-intermediair is doelmolecule van d chinolonen: stabiliseren het splitsingscomplex→ blokkage vr DNA- en RNA-polymerasen→ dubbelstrengbreuken bij het verwijderen van het complex.
* Actief tegen de meeste G-, vooral enterobacteriën. Ook actief tegen stafylokokken, treptokokken en redelijk tegen Pseudomonas. Ze hebben ook een zekere activiteit tegenover anaërobe micro-organismen
* Snelle resistentieontwikkeling tegen oude chinolonen, veel minder snel tegen nieuwere
* Modificatie doelmolecule; dr enkele mutatie A eenheid
* Verminderde opname of verhoogde efflux
* Volledige kruisresistentie ts ≠ chinolonen
* Resistentie is chromosomaal gecodeerd; resistentie groot probleem dr onzorgvuldig gebruik

**64. Op welke wijze en met welke antibiotica zal men *Mycobacterium tuberculosis* preferentieel bestrijden? Welk is hun werkingsmechanisme**

Intensieve fase

Geadviseerd; gedurende twee maanden 4 middelen gebruiken;

* Isoniazide (INH) (prodrug) inhibeert de enzymen die mycolzuren vormen (elongatie)
* Ethambutol (ETB) inhibeert mycobacterieel arabinosyltransferase
* Pyrazinamide (PYZ) (prodrug) zuur effect→ verminderde enerisering van de mebraan en teniet gaan membraanpotentiaal. Antimetaboliet; inhibeert NAD synthese en zo ook de korteketenvetzuurprecursoren
* Rifampicine (RIF) tegen RNApolymerase

In praktijk schrijft men een combo van INH en RIF voor (om resistentie te voorkomen)

Vervolgfase; 4 maanden combo van INH en RIF

**Op welke wijze kan *Mycobacterium tuberculosis* hiertegenover resistentie ontwikkelen?**

* Isoniazide (INH) → veranderingen in de genen van de enzymes (katG en inhA) en veranderingen in de celwandsamenstelling
* Ethambutol (ETB) → mutaties in het gen dat codeert voor arabinosyltranferase
* Pyrazinamide (PYZ) → mutaties in nicotinamidase/pyrazinamidase

**65. Welk antibioticum(a) zal u preferentieel gebruiken voor de behandeling van infecties met anaërobe bacteriën. Wat is het werkingsmechanisme van het/deze antibioticum/a?**

Metronidazole (ook wel eens in combinatie met lincosamiden) en nitro-imidazolen

* Elektronentransportprotëinen van anaërobe bacteriën reduceren metronidazol tot zijn actieve vorm→ vernietigt helicale structuur DNA→ inhibitie nucleïnezuursynthese→ celdood.
* Is actief in zowel delende als niet-delende cellen

**Welke antibiotica zal men zeker niet gebruiken? Waarom?**

Aminoglycosiden o.a.; anaëroben missen een O2-afhankelijk transportmechanisme hiervoor en zijn dus van nature resistent

**66. Noem de verschillende aminoglycoside-antibiotica. Geef resistentiemechanisme(n) en**

**antimicrobiële werking (+antibiotisch spectrum) van aminoglycoside-antibiotica.**

Aminoglycosiden; 30S inhibitoren blokkeren initiatie van translatie en veroorzaken misreading van mRNA. Vooral tegen G- bacteriën

Streptomycine, neomycine, sisomycine, kanamycine, gentamycine, tombramycine, netilmicine en amikacine.

Resistentie

* Enzymatische inactivatie (meestal plasmide gecodeerd); adenylatie, acetylatie, fosforylatie
* Permeabiliteitsverlies van de membraan (chromosomaal gecodeerd)
* Verhoogde [Ca++], productie van overmatig buitenmembraanproteïnen, lage pH

**67. Geef werking, resistentiemechanisme(n) en antimicrobiële werking (+antibiotisch spectrum) van tetracyclines**

* Reversibele binding 30S→ inhiberen proteïnesyntese door blokkeren van binding anticodon op codon. Opname door diffusie en energie-afhankelijk carrier-gemedieerd systeem→ laat hoge [] in cel toe. Breed spectrum, zowel G+ als G-, aëroob als anaëroob
* Ook effect op zoogdieren maar bacteriën zijn gevoeliger door grotere [] in de cel
* Doxy- en minocycline hebben lagere MIC waarden en zijn meer actief tegen stafylokokken

Resistentie; kruisresistentie ts alle tertacyclines behalve minocycline, door intensief gebruik

* Tetracycline efflux dr exportproteïne MFS (elektroneutraal antiporter systeem)
* Ribosoomprotectie; gemediëerd door oplosbaar proteïne dat homoloog is met GTPases die rol spelen in proteïnesynthese (EF-Tu en EF-G). 3klasses; tet(M), tet(O) en tet(Q)
* Tetacyclinemodificatie; inactivatie door modificatie door cp proteïne (TetX = FAD-afhankelijk monooxygenase), vereist O2 en NADPH

**68. Bespreek chlooramfenicol: wijze van werking, antimicrobiële activiteit (+antibiotisch spectrum), resistentiemechanisme(n) en mogelijke toxiciteit.**

* Blokkeert peptidyltranferase-activiteit in 50S→ interfereert met vorming nieuwe peptidebindingen. Bacteriostatisch tegen de meeste G+ en vele G-
* Bacteriocide voor H. influenzae en Neisseria meningitidis (zijn heel gevoelig)

Inactief tegen Pseudomonas, Proteus en mycobacteiën (van nature resistent)

* Antagonistisch in combi met penicillines en in vitro ook met lincosamides

Resistentie; chromosomale resistentie, verloopt traag en stapsgewijs door het ondoordringbaar worden van de cel voor het antibioticum. Meestal als gevolg van plasmide gecodeerd chlooramfenicol acetyltransferase (CAT)→ inactiveert antibioticum.

* Toxiciteit;
* Aplastische anemie; (nt dosis-afh) met eventueel ontwikkeling tot leukemie, nt omkeerbaar. Is het gevolg van te weinig erythocyten, leukocyten en thrombocyten door gestoorde rijping van RBC in het beenmerg (mogelijk door nitrogroep)
* Beenmergsuppressie; dosis-aff, omkeerbaar, door inhibitie van mitochondriale proteïnesynthese
* Gray baby syndroom; door onvoldoende gluceronidatie van chlooramfenicol→ opstapeling→ hypothermie, hypotonie en flauwte
* GI klachten

**69. Bespreek antibiotica die werken ter hoogte van 23S rRNA, en op welke wijze kunnen gevoelige bacteriën hier tegenover resistentie ontwikkelen.**

Macroliden verhinderen peptideketenverlenging door te binden aan 23S, enkel actief bij groeiende cellen

* Erythromycine; eng tot middelmatig spectrum, actief tegen de meeste G+, mycoplasma’s, Legionella pneumophila, ≠ atypische mycobacteriën, Pasteurella, Haemophilus en Neisseria. Niet actief tegen enterobacteriën en Pseudomonas (geraakt nt door buitenmembraan vanwege omvang)

Resistentie;

* Methylatie 23S rRNA; N6-dimethylatie van adenine residu→ conformatieverandering P-site→ macroliden kunnen nt binden. Leidt tot kruisresistentie tegen macroliden en lincosamiden. Chromosomaal of plasmide gecodeerd, constitutief of geïnduceed
* Efflux pompen
* Enzymatische modificatie van macroliden (bij enterobacteriën en stafylokokken)
* Mutatie thv de ribosomale proteïnen L4 en L22 of van 23S rRNA gen

**70. Wat zijn synergistines, hoe werken deze en waarvoor kunnen ze gebruikt worden?**

Mengsels van 2 synergistisch werkende componenten ( vb Virginiamycine M en S)

2 klasses; Groep A(/M); macrocyclische lactonen met een Mr van +- 500

Goep B(/S); cyclische hexadepsipeptiden met een Mr van +- 800

Voorbeeld: virginamycine M en S.

Eén component bindt op een specifieke plaats en veroorzaakt conformatieverandering waardoor de affiniteit voor het tweede component verhoogt

Ze worden lokaal gebruikt onder vorm van strooipoeder tegen wondinfecties (omwille van onregelmatige absorptie) of als groeibevorderaar in veekweek.

**71. Bespreek de synergistische werking van sulfonamide en trimethoprim. In geval van resistentie, welke zijn hier mogelijke oorzaken?**

TMP werkt synergistisch met sulfonamiden door te interfereren met de biosynthese THF. Humane cellen kunnen folium opnemen, bacteriën moeten het de novo aanmaken.

* Sulfonamiden inhiberen dihydropteroïnezuur synthetase (DHPS) . DHPS staat in voor de inbouw van para-aminobenzoëzuur (PABA) in dihydropteroïnezuur, een tussenproduct in de synthese van tetrahydrofoliumzuur (THF, voor celgroei), maar sulfonamiden zijn antagonisten van het natuurlijk substraat PABA.
* Trimethoprim (TMP) is een synthetisch foliumzuur antagonist en competitieve inhibitor van dihydrofolaatredutase (DHFR) (katalyseert reductie van DHF nr THF in aanwezigheid van NADPH). Is 100 000 x actiever tegen bacterieel DHFR dan het humaan enzym.

**In geval van resistentie, welke zijn hier mogelijke oorzaken?**

* Overproductie PABA
* Chromosomale resistentie door mutatie DHPS→ minder affiniteit voor sulfonamides
* Plasmide-gemedieerde resistentie; horizontale transfer van mutante DHPS genen
* Permeabiliteitsbarrière of aanwezigheid effluxpompen,verhoogde efflux

**72. Polymyxines. Beschrijf werkingsmechanisme en antibiotisch spectrum.**

* Zijn polykationen (5 aminogroepen met pos ladingen)→ vergelijkbaar met een detergent
* Interageren sterk met fosfolipiden en vestoren de permeabilitieit en functie. Desorganiseren de buitenmembraan van G- door directe interactie met het anionische lipide A gebied. Synergistische werkinge met ≠ antibiotica door desorganisatie buitenmembraan en dan cp membraan.
* Binding met polymyxines is competitief met Ca++ en Mg++. Dringen cel nt binnen
* Bij veel G- zijn ze bactericide, zowel voor delende als rustende cellen (groter # fosfolipiden). Werkt niet op G+ en meeste Proteus spp. zijn resistent

**73. Noem de voornaamste polyeen antibiotica, en hun wijze van werking.**

* Amfotericine B, Nyastine en Pimaricin; binden met ergosterol van de fungale celmembr→ verstoring van het celmetabolisme en celdood. Meeste polyenen zijn toxisch voor fungale en zoogdiermembranen
* Bij lage conc→ reversibele lekkage van celconstituenten van een laag moleculair gewicht of ionen;
* Verlies K+→ inhibitie glycolyse en verhoogde opname van H+→ pH daling
* Bij hoge conc→ grotere moleculen raken drde celmembr (irresersibel).

**74. Noem drie antifungale middelen en hun wijze van werking. Vermeld eveneens hun eventueel resistentiemechanisme**

* Polyenen vormen waterige poriën in het fungale membraan, binden aan ergosterol. Lage conc veroorzaken ze reversibele lekkage. Verlaging K+ leidt tot inhibitie glycolysen en verhoogde H+ opname. Bij hoge conc is er irreversibel verlies grotere moleculen.

Resistentie door verandering in het celmembraan

* Azolen inhiberen de synthese van ergosterol (voornaamste fungale sterol) door de 14α- demethylatiestap te blokkeren. Tekort aan ergosterol en accumulatie van de 14α-methylsterol leidt tot veranderingen in membraan geassocieerde functies. Hoge conc beschadigen het membraan direct→ lekkage celcomponenten
* Candins inhiberen de synthese van β1,3-glugaan (voornaamste polymeer van de celwand)

**75. Geef schematisch weer op welke wijze 5-fluorocytosine werkzaam is tegen fungi (welke?).**

Zie boek

**76. Wat zijn dermatofyten, en welke antifungale middelen zal men preferentieel gebruiken voor hun bestrijding?**

Een dermatofyt is een schimmel die parasitische infecties veroorzaakt op de huid, haar of nagels. Ze concentreren griseofulvine(eerder fungistatisch) via een energie-afhankelijk poces. Griseofulvine veroorzaakt een breuk van de mitotische spindle vorming door interactie met gepolymeriseerde microtubuli→ polynucleaire fungi. Daarnaast ook inhibitie van DNA synthese en vorming hyfencelwanden→ verbuiging, onregelmatige zwelling en spiraalvormigen hyfen.

Griseofulvine word goed geresorbeerd vanaf het spijsverteringsstelsel en verspreid goed naar de huid(25-30 dagen), haar en nagels. Het zit in de keratine van de hoornlaag (onderste deel).

Zelden resistentie.