

Antibiotica; van werkingsmechanismen naar antibacteriële therapie Deel III

Marielle Melchior^I en Jobke van Hout-van Dijk^{II}

INLEIDING

Het doel van deze serie artikelen is een praktisch overzicht aan te bieden van de diverse aspecten en achtergronden van antibiotica. We hebben geprobeerd zoveel mogelijk te verwijzen naar werkzame stoffen die in de veterinaire praktijk (diersoortoverschrijdend) worden toegepast. In het eerste deel zijn de beta-lactamantibiotica behandeld en in het tweede deel kwamen de eiwitsyntheseremmers aan bod. In dit derde deel staan de DNA-interfererende antibioticagroepen fluorochinolonen, sulfonamiden en diaminopyrimidinen centraal. In deel vier komen vervolgens nog de DNA-interfererende antibioticagroepen nitroimidazolen en rifamycinen aan bod, en tot slot de groep polymyxinenantibiotica.

FLUOROCHINOLONEN, WERKING DOOR DNA-INTERFERENTIE

Inleiding

Chinolonen zijn een groep synthetische antibiotica, waarvan het eerste product, naladixinezuur, werd geregistreerd in 1965. Het gebruik werd destijds beperkt door de zeer matige orale absorptie, de hoge eiwitbinding (> 90 procent), de matige tolerantie, en de matige effectiviteit tegen Enterobacteriaceae. Tussen 1960 en 1980 werden verschillende andere chinolonen geregistreerd (onder andere flumequine, pipemidinezuur en oxolinezuur). De antibacteriële activiteit van deze chinolonen was beter dan die van naladixinezuur, de kinetiek was echter nog altijd beperkt. In de jaren 1980 en later werden, met het toevoegen van een fluoride op de positie 6- van de basale chinolone structuur (zie

figuur 1) en een pipaziny substitutie op positie 7-, het spectrum, de orale absorptie en weefseldistributie verbeterd.

Indeling

Groep I: werkzaam tegen Enterobacteriaceae (naldixinezuur, flumequine, pipemidinezuur, oxolinezuur).

Groep II: breed spectrum werkzaamheid (enrofloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin, difloxacin, ibafloxacin, marbofloxacin, orbifloxacin, sarafloxacin).

Groep III: Tevens werkzaam tegen *Streptococcus* spp en strikte anaeroben (pradofloxacin).

Werkingsmechanisme

Fluorochinolonen remmen de functionaliteit van het DNA van gevoelige bacteriën door de enzymen te remmen die verantwoordelijk zijn voor de vouwing en de winding van dubbelstrengs DNA (DNA-gyrase en topoïsomerase). DNA-gyrase en topoïsomerase zijn functioneel vergelijkbare, complexe, essentiële enzymen, die beide bestaan uit twee paren van subunits.

DNA-gyrase zorgt samen met topoïsomerase voor de op- en ontvouwing en op- en ontwindend van DNA en ondersteunt zo de beweging van de replicatievork en de transcriptie van DNA.

Het DNA-gyrase vervult de belangrijkste rol bij het maken van lokale 'hypercoils', zodat het DNA dat daar tussen ligt, op zijn beurt gestrekt kan worden (zie figuur 2). Bij het normale functioneren van zowel DNA-gyrase als topoïsomerase wordt het dubbelstrengs DNA gebroken en weer met elkaar verbonden, waarna alle enzymen verder schuiven over het DNA; controle op mutaties in het DNA behoort tot de standaard functionaliteit van deze enzymen. Op deze manier zijn deze enzymen werkzaam bij de replicatie, transcriptie, recombinatie en reparatie van DNA.

Topoïsomerase zorgt voor een strekking en relaxatie van het DNA (zie figuur 3) wat nodig is voor het repliceren en transcriberen van het DNA. Daarnaast wordt ook het ontkoppelen van de replicatie- en transcriptieproducten (respectievelijk DNA en RNA) van het oorspronkelijke DNA uitgevoerd door het topoïsomerase.

Chinolonen blokkeren deze reacties en zorgen in eerste instantie voor het ontstaan van een chinolon-enzym-DNA-complex, waardoor de DNA-replicatie en -transcriptie en dus de groei tot stilstand komen. Daarnaast ontstaat er oxidatieve stress, door het vrijkomen van gebroken dubbelstrengs DNA, wat dodelijk is voor de bacterie.

^I DVM, PhD, Msc Epi, voormalig docent bij de afdeling VFFT, faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht. Dierenarts, onderzoeker en Veterinair Microbioloog i.o. Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR, Edelhertweg 15, 8219 PH, Lelystad. Email: marielle.melchior@mbmelchior.nl.

^{II} DVM, PhD, voormalig docent bij de afdeling VFFT, faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht. Varkensdierenarts / onderzoeker, Sector Varken, Gezondheidsdienst voor Dieren, Arnsbergstraat 7, 7418 EZ, Deventer. Email: j.v.hout@gddeventer.com.

Reacties op dit artikel kunnen aan beide auteurs gericht worden.

Daarnaast zijn er aanwijzingen dat chinolonen een verstorende invloed hebben op andere processen in de bacterie, maar deze zijn minder goed onderzocht.

Er is een duidelijk verschil wat betreft het belangrijkste aangrijpingspunt voor fluorochinolonen tussen gramnegatieven (*E. coli*, *Salmonella* spp, *Neisseria* spp, *Shigella* spp) en grampositieven (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*). Bij gramnegatieven wordt het belangrijkste aangrijpingspunt gevormd door het DNA-gyrase; bij grampositieven is dit vooral het topoisomerase. Hoewel er overlap is in de functie van deze complexe enzymen, zijn er ook duidelijke verschillen, wat tot uiting komt in verschillende effecten, en verschillen in de ontwikkeling van resistentie. Het verschil in aangrijpingspunt voor chinolonen tussen grampositieven en gramnegatieven geldt in mindere mate voor de nieuwste generaties fluorochinolonen, maar van deze middelen zijn slechts enkele veterinair geregistreerd.

Werkingspectrum en antimicrobiële activiteit

De chinolonen uit groep I zijn alleen specifiek werkzaam tegen Enterobacteriaceae (onder andere *E. coli*, *Proteus*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella*). Deze groep chinolonen heeft alleen affiniteit voor het DNA-gyrase van deze groep bacteriën.

De fluorochinolonen uit groep II, waarbij op positie 6 een fluoride is toegevoegd aan de chinolonstructuur (zie figuur 1), hebben een breder spectrum van antimicrobiële activiteit. Ze hebben een goede activiteit tegen Enterobacteriaceae, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Histophilus somni*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella* spp, *Bordetella bronchiseptica*, *Brucella* spp, *Chlamydomydia* spp, *Mycoplasma* en *Ureaplasma*. De werking tegen *Pseudomonas aeruginosa* is wisselend. In het algemeen kan men stellen dat de oudere fluorochinolonen minder goed werken tegen grampositieven, en dat ze in het algemeen slecht werken tegen anaerobe bacteriën.

Kinetiek

Ten opzichte van de oude chinolonen (groep I) worden de moderne fluorochinolonen uit groep II en hoger vlot en goed uit het maagdarmkanaal geresorbeerd bij monogastrische dieren en preruminale herkauwers. De orale biologische beschikbaarheid is redelijk tot goed te noemen, met name die van de recentere producten. Opname met voedsel (met name de interactie met tweewaardige ionen: Fe, Ca, Mg) kan de tijd tot piekconcentratie verlengen, maar doet de totale serumconcentraties niet verminderen.

Na absorptie geven fluorochinolonen een snelle en goede weefseldistributie, en dit hangt samen met hun hydrofiele eigenschappen en lage eiwitbinding. Penetratie van de cerebrospinaalvloeistof maakt het mogelijk therapeutische concentraties te bereiken voor de behandeling van infecties met gramnegatieve bacteriën. Daarnaast worden hoge concentraties gevonden in de excretieorganen van fluorochinolonen; lever, darmen en urinewegen.

Eén van de bekendste fluorochinolonen (enrofloxacin) wordt in de lever door het Cytochroom P450-systeem omgezet in de actieve metaboliet (ciprofloxacin). De overige fluorochinolonen worden in het algemeen via de nieren uitgescheiden - als

metaboliet of als oorspronkelijk molecuul - door middel van glomulaire filtratie en actieve tubulaire secretie. Difloxacin onderscheidt zich in dit opzicht wat betreft de excretieroute: deze stof wordt voor 80 procent met de feces uitgescheiden. De eliminatiehalfwaardetijden van fluorochinolonen zijn afhankelijk van de stof en de diersoort, en zijn mogelijk dosisafhankelijk. De lange eliminatie halfwaardetijden van enkele fluorochinolonen, zoals marbofloxacin en danofloxacin, maakt toediening om de 24 of 48 uur mogelijk.

Resistentie

Resistentie tegen fluorochinolonen komt tot stand door middel van drie algemene mechanismen:

- Verlaging van de intracellulaire concentratie van fluorochinolonen door verminderde membraanpermeabiliteit of verhoogde efflux;
- Verandering of bescherming van het aangrijpingspunt van de antibiotica;
- Enzymatische afbraak van het antibioticum.

Resistentie tegen fluorochinolonen kan gebaseerd zijn op verminderde doordringbaarheid van de bacteriële celwand door de porines in de buitenste membraan van gramnegatieven (bij *E. coli* gecodeerd met de genen OmpA, OmpC en OmpF), of door een verhoogde activiteit van energie afhankelijke effluxpompen in de buitenmembraan.

De meeste fluorochinolonen passeren de membraan van gramnegatieven via de porines, hoewel sommige ook in staat zijn direct door de lipidebimembraan te dringen. Verlaging van de DNA-expressie en daarmee het verminderd voorkomen van porines in de buitenmembraan van gramnegatieven resulteert in lagere concentraties fluorochinolonen in de cel. Hiermee neemt de gevoeligheid van deze bacteriën voor fluorochinolonen stapsgewijs af. Daarnaast daalt ook de gevoeligheid voor andere antibiotica die via porines in de cel komen, zoals bijvoorbeeld tetracyclinen en beta-lactamantibiotica.

Zowel bij gramnegatieven als bij grampositieven komt resistentie voor door middel van energieafhankelijke effluxpompen, die de antibiotica uit de cel verwijderen. Dit is beschreven voor *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *C. jejuni*, *S. maltophilia*, *Vibrio* spp, *B. subtilis*, *S. aureus* en *S. pneumoniae*. Deze effluxpompen kunnen zowel constitutief als induceerbaar functioneren, wat de diagnostiek rondom de effectiviteit van deze antibiotica bemoeilijkt. Als gevolg van verhoogde expressie van de effluxpompen kunnen MIC-waarden met een factor drie tot vier toenemen.

De aanpassingen van de bacteriën in reactie op de aanwezigheid van toxische stoffen omvatten vaak algemene mechanismen, die zowel effect hebben op de porinevorming als op de mate van efflux via membraanpompen, zodat het moeilijk is deze aanpassingen los van elkaar te beoordelen. Daarnaast betreft het hier mechanismen die in het algemeen in vivo plaatsvinden in reactie op de aanwezigheid van toxische stoffen, zodat de gevoeligheidsbepalingen in vitro mogelijk een te gunstig beeld scheppen.

Het werkingsmechanisme van chinolonen, namelijk het verstoren van de normale functie van DNA-gyrase en/ of topoisomerase, induceert automatisch het ontstaan van genetische mutaties, omdat deze enzymen normaal het ontstaan

van mutaties controleren en deze ook corrigeren. De verstoring van deze functies van DNA-gyrase en topoisomerase werken het ontstaan van mutaties en dus het ook ontstaan van resistentie in de hand. Selectie van bacteriële mutanten waarvan de binding op het doelwit (DNA-gyrase ofwel topoisomerase) verstoord wordt, gebeurt vaak op een stapsgewijze manier, waarbij elke opeenvolgende mutatie resulteert in een verhoging van de MIC-waarde. Het is typisch dat de selectie van mutanten altijd in de eerste plaats mutanten oplevert voor het primaire aangrijpingspunt van het chinolone antibioticum in die specifieke bacterie. Bij gramnegatieven resulteert dat in DNA-gyrase mutaties en bij grampositieven in topoisomerasemutaties. Als er vervolgens nog langer selectie plaatsvindt doordat de bacteriën opnieuw of langer worden blootgesteld aan chinolonen, worden ook mutaties in de secundaire doelwitten gevonden (topoisomerase bij gramnegatieven en DNA-gyrase bij grampositieven).

De resistentie op basis van chromosomale mutaties in de DNA-gyrase- of topoisomerasegenen geven vaak kruisresistentie tegen de andere chinolonen, zodat het omschakelen naar een ander molecuul met dit werkingsmechanisme geen zin heeft.

Door middel van de via plasmiden overdraagbare qnr-genen (van 'quinolone resistance') zijn met name gramnegatieve bacteriën in staat hun DNA-gyrase en topoisomerase te beschermen tegen de werking van chinolonen. De precieze werking van deze resistentie is nog niet helemaal duidelijk, maar het blijkt dat de qnr-eiwitten het gyrase of topoisomerase kunnen binden zonder de functionaliteit van deze enzymen te verstoren. Daarbij bieden ze bescherming tegen de werking van chinolonen. Het effect op de MIC-waarden van chinolonen is zeer variabel; van slechts 2 keer hogere MIC- tot wel 32 keer hogere MIC-waarden.

Het aac(6')-Ib-cr-gen is selectief voor fluorochinolonen met een piperazinyll secundaire aminegroep, zoals ciprofloxacin en norfloxacin. Dit gen wordt ook door plasmiden overgedragen en is een mutant van het enzym dat zorgt voor resistentie voor de aminoglycosiden tobramycine, amikacine en kanamycine. Dit enzym is nog steeds in staat om deze aminoglycosiden te acetyleren en kan ook ciprofloxacin en norfloxacin acetyleren, wat resulteert in minder werkzame antibiotica. Het effect is een drie- tot viervoudige toename van de MIC-waarden.

Overdracht van resistentie

Tot vrij recent nam men aan dat de verspreiding van resistentie tegen fluorochinolonen alleen plaatsvond door klonale

verspreiding met bacteriën. Hierbij werd verondersteld dat resistentie zich alleen ontwikkelde op basis van DNA-mutaties in de aangrijpingspunten. Sinds een jaar of tien is echter bekend dat er ook op plasmiden resistentiegenen voorkomen (qnr en aac(6')-Ib-cr, zie hierboven). De bescherming door middel van deze resistentiegenen geeft soms slechts een geringe verhoging van de MIC-waarden, zodat de isolaten nog steeds als gevoelig voor fluorochinolonen worden beschouwd. Uiteraard vereist dit wel een adequate dosering, en zullen de bacteriën met andere aanpassingen – zoals verminderde expressie van porines en verhoogde expressie van effluxpompen – hun antibioticagevoeligheid in vivo mogelijk nog meer kunnen verminderen.

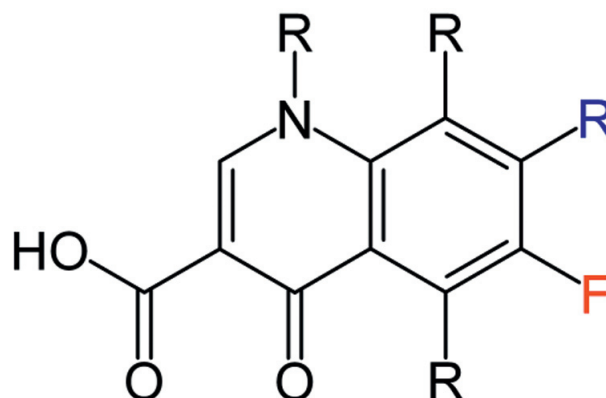
Mutant prevention concentration

Op basis van de veronderstelling dat de verspreiding van chinolonenresistentie alleen kon plaatsvinden door middel van klonale verspreiding van bacteriële isolaten met chromosomale mutaties in de aangrijpingspunten, is onderzoek verricht naar de antibioticac concentratie die hoog genoeg is om het ontstaan van resistente stammen te voorkomen. Deze antibioticac concentratie; de Mutant Prevention Concentration (MPC), is gebaseerd op het feit dat bacteriën alleen door het overleven van subletale concentraties antibiotica, en op basis van het voorkomen van DNA-mutaties, in staat zijn zich aan te passen, en de resistente bacterie zich verder door deling klonaal verspreidt. Verschillende kinetische studies, zowel in vitro als in vivo zijn aan dit onderwerp gewijd. Dit vormt ook de basis voor het Concentration Dependent Dosing-concept (CDD) dat ervan uitgaat dat bij voldoende hoge concentratie alle bacteriën gedood zijn, zodat er geen resistente mutanten ontstaan.

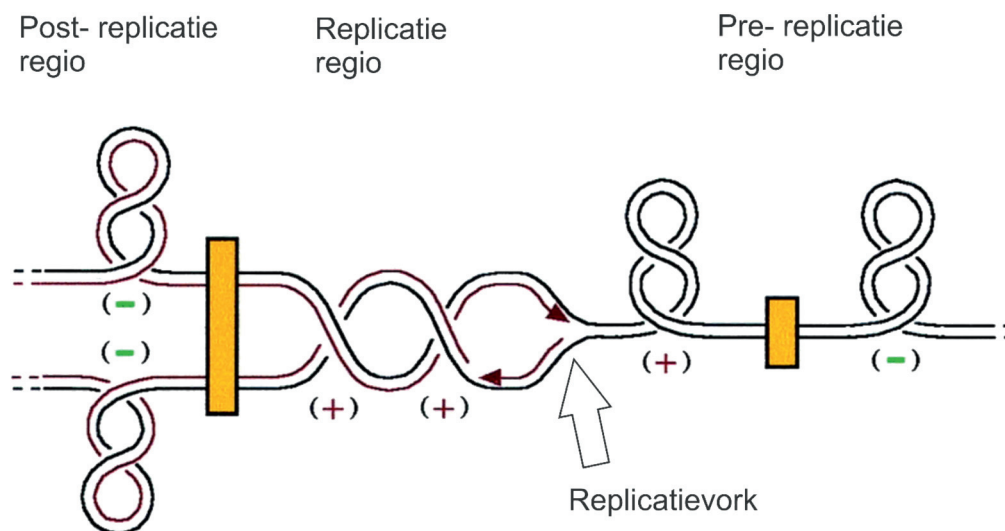
Het voorkomen van andere vormen van resistentie heeft invloed op de MPC. De MPC-concentratie wordt beduidend hoger door het voorkomen van bijvoorbeeld qnr-resistentiegenen. Daarnaast neemt de frequentie van resistente DNA-mutanten aanzienlijk toe bij stammen waarbij qnr-genen aanwezig zijn. Epidemiologische studies hebben al aangetoond dat de aanwezigheid van op plasmiden gecodeerde resistentiegenen de klonale verspreiding van chromosomale resistentie in de hand werken.

Toxiciteit en bijwerkingen

Fluorochinolonen zijn relatief veilige antibiotica. Bij therapeutische doseringen kunnen ze echter gastrointestinale verstoringen



Figuur 1. Algemene structuurformule van chinolonen. Indien de verbinding een fluormolecuul bevat op positie 6 (zie rode F) is het een fluorochinolone. De positie van de blauwe R (positie 7) wordt vaak ingenomen door een piperazinylgroep.



Figuur 2. Model voor de replicatie van chromosomaal DNA. Een stukje chromosomaal DNA is afgebeeld, met in het zwart de primaire streng en in het rood de kopie DNA-strengen. De gele rechthoeken markeren de overgangen van de replicatievorkregio naar de rest van het chromosomaal DNA. Het groene (-) deel is 'supercoiled' door DNA-gyrase, hetgeen zichtbaar is aan beide zijden naast de replicatie-regio. De replicatieregio zorgt voor een relaxatie in het centrum van de replicatieregio, en voor compensatoire positieve (+) 'supercoils' vlak voor en achter de replicatievorkregio. Zowel DNA-gyrase als topoisomerase spelen een rol bij het verwijderen van 'supercoils' en het strekken van het DNA voor de replicatie.

veroorzaken die samengaan met misselijkheid, braken en diarree. Vanuit de humane geneeskunde is bekend dat deze bijwerkingen met name optreden bij oudere patiënten. De hiermee gerelateerde slechte voedsel- en vochtopname kan vooral bij deze groep leiden tot levensbedreigende situaties.

Neurotoxische bijverschijnselen die leiden tot onrust, duizeligheid, flauwvallen, ataxie, excitatie, krampen of ademdepessie zijn algemene bijverschijnselen die bij verschillende diersoorten en de mens beschreven zijn. In sommige gevallen kan lichtallergie optreden.

Langdurige hoge doseringen fluorochinolonen worden ontraden bij jonge dieren omdat deze mogelijk kunnen leiden tot gewrichtskraakbeenlaesies en verstoring van de aanmaak van peesstructuren. Hierdoor kunnen ernstige kraakbeenerosies en kreupelheid ontstaan.

Hoge doseringen enrofloxacin kunnen bij de kat leiden tot retinadegeneratie, zodat hoge doseringen fluorochinolonen bij deze diersoort zo mogelijk moeten worden vermeden. Vooral oudere katten hebben hiervoor een verhoogd risico.

Slotopmerkingen

De dosering van fluorochinolonen is sterk afhankelijk van het middel, de diersoort, de indicatie en de aandoening. Voor uitgebreide informatie over de dosering van fluorochinolonen willen we graag verwijzen naar gerefereerde vakliteratuur. We besluiten met een opmerking over de status van fluorochinolonen als derde keuze middel in de Nederlandse veterinaire formularia. Omdat het noodzakelijk is dat zowel de humane als de veterinaire geneeskunde in kritieke situaties blijft beschikken over werkzame en effectieve antibiotica moet de selectie van bacteriën die minder gevoelig of zelfs resistent zijn tegen antibiotica in het algemeen en tegen derde keuze middelen in

het bijzonder, ten allen tijde worden voorkomen. Daarom moeten deze middelen alleen worden toegepast in situaties waar geen andere alternatieven voorhanden zijn.

SULFONAMIDEN, DIAMINOPYRIMIDINEN EN COMBINATIES DAARVAN

Indeling

De volgende werkzame stoffen zijn (veterinair) geregistreerd:

- Sulfonamiden: sulfadiazine, sulfamethoxazol, sulfadimidine, sulfaquinoxaline, sulfachloorpyr(id)azine, sulfadime-thoxine, sulfadoxine, sulfasalazine, sulfaclozine.
- Diaminopyrimidinen: trimethoprim.
- De sulfonamiden sulfadiazine, sulfamethoxazol, sulfa-chloorpyridazine en sulfadoxine zijn als kant-en-klaar combinatiepreparaat met trimethoprim geregistreerd ("Tms"). De andere genoemde sulfonamiden zijn als monopreparaat (dus zonder trimethoprim) geregistreerd.

Het algemene werkingsmechanisme

Foliumzuur is voor veel bacteriën en protozoën een onmisbaar molecuul dat ze meestal niet uit hun omgeving kunnen opnemen. In tegenstelling tot zoogdiercellen zijn veel bacteriën en protozoën om deze reden afhankelijk van hun eigen foliumzuursynthese voor groei en overleving. Sulfonamiden en diaminopyrimidinen verstoren in de bacterie twee verschillende stappen van de foliumzuursynthese.

Sulfonamiden zorgen voor een competitieve remming van de inbouw van para-aminobenzoëzuur (PABA) in het foliumzuur-molecuul. Dit effect komt tot stand door competitie met PABA om het dihydropteroate synthetase enzym (zie figuur 3). De blokkade van de PABA-inbouw heeft een bacteriostatisch effect. Wanneer de bacteriën zich echter bevinden in een milieu met

een overmaat aan PABA, wat het geval is bij weefselaftbraak, pus en necrose, hebben sulfonamiden geen remmend effect meer op de bacteriegroei (PABA 'wint' in dat geval de competitie met de sulfonamiden om het dihydropteroate synthetase enzym).

Net zoals de sulfonamiden verstoren de diaminopyrimidinen de foliumzuursynthese. De diaminopyrimidinen grijpen echter aan op een andere stap van de foliumzuursynthese: ze leiden tot een competitieve remming van het enzym dihydrofolaat reductase (zie figuur 3) waardoor een bacteriostatisch effect optreedt. Dit enzym komt ook voor in zoogdiercellen, maar diaminopyrimidinen hebben een hogere affiniteit voor het bacteriële enzym, en hebben dus een selectieve antibacteriële activiteit.

Foliumzuur wordt onder andere gebruikt voor de aanmaak van purines¹ en is daarmee noodzakelijk voor de synthese van DNA en RNA. Verstoring van de foliumzuursynthese leidt dus tot een verstoorde synthese van DNA en RNA in de bacterie.

Wanneer men sulfonamiden en diaminopyrimidinen combineert, worden twee opeenvolgende stappen in de foliumzuursynthese geremd (zie figuur 3). Dit leidt tot een synergistisch ('één + één = drie') en bactericide effect. Daarom worden deze antibiotica veterinair vaak gebruikt in de vorm van een combinatie ('TmpS'). De kant-en-klare TmpS-formulering bevat het trimethoprim plus een sulfonamide in een vaste verhouding (1 op 5). In mensen leidt dit in het serum tot een verhouding van één op twintig. Omdat trimethoprim ongeveer twintig tot honderd keer meer actief is dan sulfonamiden, is dit zeer wenselijk voor optimale synergie. Het gelijktijdig aanwezig kunnen zijn op de doellocatie van trimethoprim en een sulfonamide is ook afhankelijk van (verschillen in) de kinetiek van deze antibiotica (zie hierna, onder 'kinetiek').

Enkele bacteriën, zoals enterokokken, kunnen foliumzuur wél uit hun omgeving opnemen en deze bacteriën zijn dus niet gevoelig voor sulfonamiden en diaminopyrimidinen.

Het sulfonamide 'sulfasalazine' neemt een bijzondere positie in: dit sulfonamide wordt in de dikke darm gesplitst (gehydrolyseerd) door de daar aanwezige bacteriën wat resulteert in de stoffen sulfapyridine en het ontstekingsremmende 5-aminosalicylaat. Waarschijnlijk dankt sulfasalazine zijn werkzaamheid bij bijvoorbeeld chronische colitis bij honden met name aan dit 5-aminosalicylaat.

Werkingspectrum en antimicrobiële activiteit

Sulfonamiden zijn bacteriostatische, breedspectrum antimicrobiële middelen, die werken tegen grampositieve en gramnegatieve bacteriën, Toxoplasma en andere protozoën zoals coccidiën. Resistentie komt echter algemeen voor en de interpretatie van gevoeligheid is mede afhankelijk van de gebruikte sulfonamiden, de locatie van de infectie, en de toegepaste dosering. Zo is bekend dat *Clostridium* spp. (met uitzondering van *C. perfringens*), anaerobe coccen, *Mycoplasma* spp., *Mycobacterium* en de meeste obligaat intracellulaire pathogenen (*Coxiella burnetii*) en spirocheten doorgaans resistent zijn. Overigens blijken anaerobe bacteriën in vitro regelmatig goed gevoelig voor sulfonamiden. Maar vanwege het milieu dat ontstaat bij anaerobe infecties (veel thymidine/PABA aanwezig) werken sulfonamiden in vivo vervolgens niet tegen de desbetreffende anaeroben.

Diaminopyrimidinen zijn bacteriostatische breedspectrum antibiotica, die werken tegen grampositieve en gramnegatieve

aërobe bacteriën, maar niet tegen anaerobe bacteriën. De werking tegen *Mycoplasma* spp., *Chlamydomphila* spp., en *P. aeruginosa* is verwaarloosbaar.

Diaminopyrimidine-sulfonamide combinaties (TmpS) zijn breed werkzaam en meestal bactericide tegen veel grampositieve en gramnegatieve bacteriën, inclusief Enterobacteriaceae, Actinomyces, Nocardia, Chlamydomphila, en protozoën zoals Toxoplasma. TmpS is niet werkzaam tegen anaerobe bacteriën in vivo omdat de aanwezigheid van thymidine (een bouwsteen voor DNA) en PABA in necrotisch weefsel de werkzaamheid van TmpS tegengaat (zie ook de opmerking bij de sulfonamiden hierboven). Dit effect is overigens niet beperkt tot anaeroben, maar kan ook een rol spelen bij gesloten, niet gedraineerde infecties met weefselnecrose. *Mycoplasma*, *P. aeruginosa*, Rickettsia en *Leptospira* spp. zijn resistent.

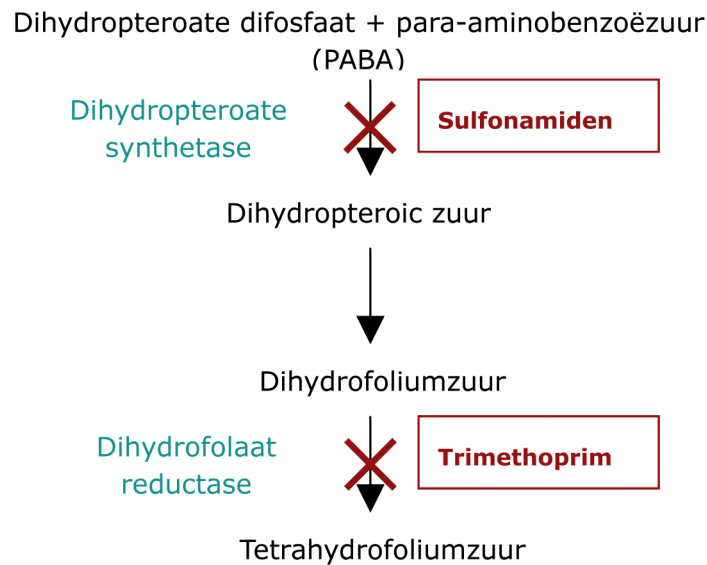
Synergie komt tot stand wanneer de micro-organismen gevoelig zijn voor beide antibiotica in de combinatie, maar soms ook wanneer er resistentie is voor sulfonamiden. Teleurstellende klinische resultaten kunnen onder meer ontstaan door de aanwezigheid van thymidine en PABA in geïnfecteerde weefsels (zie hierboven), resistentie voor sulfonamiden (waardoor alleen het bacteriostatische effect van trimethoprim optreedt) of de korte halfwaardetijd van trimethoprim (waardoor trimethoprim nauwelijks tegelijk en in voldoende hoge concentratie met een sulfonamide op de plaats van infectie aanwezig kan zijn).

Kinetiek

De meeste sulfonamiden worden snel opgenomen uit het maagdarmkanaal. Sulfonamiden zijn zwakke organische zuren met pKa-waarden van 5,0 tot 10,4. Zolang de omgevings-pH lager is dan hun pKa-waarde zijn de sulfonamiden in het algemeen niet geïoniseerd². Vanwege het alkalische karakter van de parenterale sulfonamidenformuleringen, moeten deze bij voorkeur (langzaam) intraveneus worden toegediend. Sulfonamiden kunnen in verschillende mate binden aan plasma-eiwitten (15 tot 90 procent), waarbij sterke plasma-eiwitbinding de halfwaardetijd kan verlengen. Per diersoort kan de plasma-eiwitbinding, het distributievolume (Vd) en de halfwaardetijd van sulfonamiden sterk variëren. In het algemeen verdelen sulfonamiden zich goed naar alle weefsels en lichaamsvloeistoffen, inclusief de synoviale en cerebrospinale vloeistof. Eliminatie van sulfonamiden vindt plaats door een combinatie van biotransformatie en renale excretie, wat ook bijdraagt aan de variatie van de halfwaardetijd tussen diersoorten.

Diaminopyrimidinen zijn in vet oplosbare organische zwakke basen (pKa 7,6) die matig (40 tot 50 procent) aan plasmaeiwit worden gebonden. Het distributievolume (Vd) is groot en de membraanpassage is goed, waarbij lokale concentratie in een zure omgeving kan plaatsvinden (bijvoorbeeld de prostaat). Diaminopyrimidinen verdelen zich beter dan

1. Purines = adenine en guanine. DNA of RNA is opgebouwd uit meerdere nucleïne-zuren. Een nucleïnezuur is een keten van nucleotiden en een enkel nucleotide bestaat uit een fosfaatgroep, een suikergroep en een purine of pyrimidine.
2. Antibioticum-moleculen in niet geïoniseerde vorm kunnen goed celmembranen passeren.



Figuur 3. Schematische voorstelling van de verstoring van de foliumzuursynthese door sulfonamiden (remming dihydropteroate synthetase) en trimethoprim (remming dihydrofolaat reductase).

sulfonamiden, concentreren zich in weefsels en bereiken ook cellen waar sulfonamiden (die grotendeels in de extracellulaire vloeistof blijven) niet komen. Eliminatie vindt plaats door biotransformatie in de lever, en zorgt voor variatie in de halfwaardetijd tussen diersoorten (herkauwers 0,8 tot 1,0 uur; paard 3 uur; varken 2 tot 3,5 uur; hond 3 tot 6 uur). Hoewel de halfwaardetijd van trimethoprim dus verschilt tussen diersoorten én verschilt van de halfwaardetijd van de sulfonamiden, wordt toch synergie waargenomen bij gebruik van TmpS. Dit komt omdat er in de trimethoprim-sulfonamide verhouding een relatief brede 'range' is waarbij deze synergie optreedt.

Lipofiele zwakke basen zoals trimethoprim worden goed in de melk uitgescheiden (vier tot vijf keer hogere concentraties dan in bloedplasma).

Diaminopyrimidinen zijn relatief veilige antibiotica, dit in tegenstelling tot sulfonamiden die een kleinere veiligheids-marge hebben. Bijwerkingen die ten gevolge van het gebruik van sulfonamiden kunnen optreden, variëren en kunnen ook specifiek betrekking hebben op bepaalde diersoorten. Algemene bijwerkingen zijn: urinewegstoornissen, hematopoëtische afwijkingen en huidreacties. Deze bijwerkingen zijn bij de normale dosering en een behandelduur van minder dan twee weken zelden ernstig. Heel soms leiden sulfonamiden tot idiosyncratische reacties, gekenmerkt door onder meer koorts, gewrichtsafwijkingen, epistaxis, leverafwijkingen en keratoconjunctivitis sicca. Met name Doberman pinschers lijken hier erg gevoelig voor te zijn. Bij dit ras kan men sulfonamiden waarschijnlijk beter niet gebruiken. Van kleine hondenrassen (met een lichaamsgewicht van minder dan twaalf kilo) is bekend dat sulfadiazine en sulfasalazine kunnen leiden tot keratoconjunctivitis sicca. Sulfaquinoxaline kan bloedstollingstoornissen veroorzaken (antagonistische werking op vitamine K).

Omdat diaminopyrimidinen en sulfonamiden (en de combinatie van beide) zich gedragen als foliumzuurantagonis-

ten, moet men voorzichtig zijn met het gebruiken van deze antibiotica bij drachtige dieren. Afwijkingen ten gevolge van sulfonamidentoediening bij drachtige ratten en muizen variëren (afhankelijk van de dosis en duur van toediening) van intra-uteriene sterfte tot diverse aangeboren afwijkingen aan de kop zoals korte en/of scheve snuiten, kaakafwijkingen en palatoschisis. Ook humaan is bekend dat gebruik van diaminopyrimidinen en/of sulfonamiden tijdens de zwangerschap leidt tot een verhoogde kans op aangeboren afwijkingen zoals defecten aan de neurale buis, hazenlip en/of palatoschisis.

Resistentie

Resistentie tegen sulfonamiden komt veel voor en kan zowel chromosomaal als plasmide/integron gebonden zijn. Er zijn drie mechanismen voor sulfonamidenresistentie bekend:

- Verminderde doordringbaarheid van het micro-organisme.
- Aanpassing van het aangrijpingspunt (productie van een voor sulfonamiden ongevoelig dihydropteroate enzym).
- Overproductie van PABA.

Resistentie gelokaliseerd op plasmiden en integronen wordt met name tussen darmbacteriën overgedragen en kan gekoppeld zijn aan resistentie tegen andere antibiotica zoals trimethoprim of streptomycine (multiresistentie). Tussen sulfonamiden treedt volledige kruisresistentie op: wanneer een bacterie als resistent getest is voor één bepaald sulfonamide, zijn ook de andere sulfonamiden niet meer werkzaam.

Ook resistentie tegen diaminopyrimidinen kan zowel chromosomaal zijn als plasmidegebonden (overdracht via transposons of integronen) en resulteert in de vorming van een voor diaminopyrimidinen ongevoelig dihydrofolaatreductase-enzym. Isolaten met plasmidegebonden resistentie zijn vaak ook resistent tegen andere antibiotica zoals bijvoorbeeld sulfonamiden, omdat deze genen zijn opgenomen op integronen (multi-

resistentie) (zie ook figuur 5 in deel 1 van deze serie). In *Salmonella* Typhimurium en in dierlijke *E. coli*'s komt resistentie tegen zowel trimethoprim als sulfonamiden vaak voor.

Combinatietherapie

Een enkele keer wordt, uit het oogpunt van spectrumverbreding bij polymicrobiële infecties, TmpS in combinatie met ampicilline gebruikt om op deze manier zowel aërobe bacteriën (gevoelig voor TmpS) als anaërobe bacteriën (gevoelig voor ampicilline) te bestrijden.

Dankwoord

De auteurs willen graag Johanna Fink-Gremmels, Dik Mevius, Tjeerd Kimman en Hugo de Groot bedanken voor het kritisch lezen van deze serie artikelen en de nuttige suggesties bij het tot stand komen ervan.

REFERENTIES

1. MARAN, Monitoring of Antimicrobial Resistance And Antibiotic usage in Animals in The Netherlands in 2003, 2004, 2005. 2003 - 2005, CVI-Lelystad www.cvi.wur.nl: Lelystad.
2. Fidin. Fidin repertorium diergeneesmiddelen 2006. 10e ed. repertorium diergeneesmiddelen, 2006.
3. Giguère S, Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Dowling PM. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. fourth ed. Blackwell scientific publications, ed. B. Publishing. 2006, Iowa: Blackwell.
4. Paget GE and Thorpe E. A teratogenic effect of a sulphonamide in experimental animals. Brit. J. Pharmacol 1964; 23: 305-312.
5. Prescott LM, H, JP and Klein AK. Microbiology, sixth edition. Higher education. 2005, New York: Lange, M.J.
6. Rang HP, Dale MM, Ritter JM and Moore PK. Pharmacology. fifth ed, ed. C. Livingstone. 2003: Elsevier science limited.
7. Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC and Robicsek A. Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: a Multifaced Threat. Clinical Microbiology Reviews, Oct. 2009; p 664-689.
8. Drlica K. Mechanisms of fluoroquinolone action. Curr Opin Microbiol 2 (5): 504-508.
9. Jacoby GA. Mechanisms of resistance to quinolones. Clin Infect Dis 41 Suppl 41; 2: S120-S126.