

# Antibiotica; van werkingsmechanismen naar antibacteriële therapie Deel IV

Jobke van Hout-van Dijk<sup>1</sup> en Marielle Melchior<sup>II</sup>

Het doel van deze serie artikelen is een praktisch overzicht te geven 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 zijn de eiwitsyntheseremmers aan bod gekomen. In het derde deel stonden de DNA-interfererende antibioticagroepen fluorochinolonen, sulfonamiden en diaminopyrimidinen centraal. Tot slot komen in dit vierde, afsluitende deel de DNA-interfererende antibioticagroepen nitroimidazolen en rifamycinen aan bod, én de groep polymyxinenantibiotica.

I 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.

II 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@mbmelchior.nl.

Reacties op dit artikel kunnen aan beide auteurs gericht worden.

1. Nucleïnezuur = een keten van nucleotiden (een nucleotide bestaat uit een fosfaatgroep, een suikergroep en een purine of pyrimidine). DNA of RNA is opgebouwd uit meerdere nucleïnezuren.
2. Smalspectrum volgens de Werkgroep Veterinair Antibioticum Beleid (zie <http://www.knmvd.nl/over-knmvd/publicaties>).

## DNA-INTERFERENTIE – NITRO-IMIDAZOLEN EN RIFAMYCINEN

### Nitro-imidazolen

In Nederland is metronidazol het enige veterinaire geregistreerde nitroimidazolderivaat dat uitsluitend bij gezelschapsdieren mag worden toegepast. Hoewel het niet geregistreerd is voor paarden, wordt metronidazol genoemd voor de preventie van clostridiose (bijvoorbeeld bij dieren die ampicilline/gentamicine toegediend krijgen na plaatsing van een dauercatheter bij Salmonella-infecties). In verband met mogelijke carcinogene effecten bij de mens (via residuen in voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong), zijn nitroimidazolen verboden in voedselproducerende dieren binnen de EU.

### Het algemene werkingsmechanisme

Net zoals de andere antibiotica die ingrijpen op het DNA-metabolisme van de bacterie, moet ook metronidazol éérst de bacterie binnenkomen voordat het bactericide effect tot stand kan komen. Metronidazol beschikt over zogenaamde 'nitro'-groepen (-NO<sub>2</sub>) (zie figuur 1) die, eenmaal in de bacterie, worden gereduceerd waarbij (onder andere) antibacteriële producten ontstaan. Deze antibacteriële producten beschadigen de helixstructuur van het DNA van de bacterie zodanig dat de DNA-strengen breken. Hierdoor wordt de aanmaak van nieuwe nucleïnezuren<sup>1</sup> verstoord en sterft de bacterie. Overigens kan de reductie van de nitrogroepen alleen plaatsvinden onder anaerobe omstandigheden (dit verklaart de goede werkzaamheid van metronidazol tegen anaerobe bacteriën, zie hierna).

### Werkingspectrum en antimicrobiële activiteit

Metronidazol is smalspectrum<sup>2</sup> en uitstekend werkzaam tegen (Grampositieve en Gramnegatieve) anaerobe bacteriën zoals

diverse Clostridia, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium* spp. et cetera. Daarnaast is het ook zeer goed werkzaam tegen *Brachyspira hyodysenteriae* en een reeks protozoën waaronder *Giardia lamblia*, *Histomonas meleagridis* en *Trichomonas foetus*.

#### Farmacokinetiek

Metronidazol wordt na orale toediening goed en snel uit het maagdarmkanaal opgenomen. Bovendien is metronidazol lipofiel waardoor het na absorptie goed verspreidt en zich goed verdeelt over de weefsels. Zo worden werkzame concentraties metronidazol bijvoorbeeld ook bereikt in abscessen, bot en het centrale zenuwstelsel. Daarnaast kan metronidazol de placenta passeren en kan het in de melk terecht komen.

Metronidazol wordt grotendeels in de lever gemetaboliseerd. De gevormde metabolieten én een klein deel niet gemetaboliseerd metronidazol worden vervolgens met de urine en feces uitgescheiden.

Bijwerkingen die ten gevolge van het gebruik van metronidazol kunnen optreden zijn onder meer anorexie (paarden), braken, misselijkheid, levertoxiciteit, neutropenie en neurologische verschijnselen zoals toevallen, ataxie, parese en tremoren (hond en kat). Honden met neurologische verschijnselen ten gevolge van een metronidazolintoxicatie herstellen binnen één à twee weken na het stoppen van de metronidazoltoediening. Toediening van diazepam na het stoppen van de metronidazoltoediening versnelt het herstel van deze honden aanzienlijk (herstelduur slechts enkele dagen).

#### Resistentie

Resistentie tegen metronidazol komt weinig voor en is gebaseerd op verminderde intracellulaire activering van metronidazol. Bij *Clostridium difficile* en *Clostridium perfringens* afkomstig van honden en paarden is wél resistentie aangetoond. Bij patiënten met een Clostridiuminfectie is een gevoeligheidsbepaling dus gewenst, deze kan echter alleen in gespecialiseerde laboratoria worden uitgevoerd.

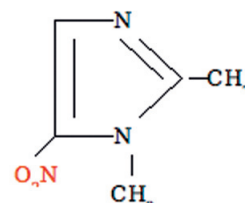
#### Combinatietherapie

Aangezien metronidazol wordt gemetaboliseerd in de lever, moet men niet alleen alert zijn op de leverfunctie van de patiënt, maar ook op combinaties met geneesmiddelen die óók via de lever worden gemetaboliseerd en/of het levermetabolisme beïnvloeden. Zo zal gelijktijdig gebruik van fenobarbital leiden tot verlaagde serumconcentraties van metronidazol omdat fenobarbital het levermetabolisme verhoogt. In combinatie met cimetidine mag men juist een vertraagde eliminatie van metronidazol verwachten en dus hogere serumconcentraties.

Metronidazol wordt wel in combinatie met beta-lactams en gentamicine of enrofloxacin ingezet ter behandeling van bijvoorbeeld een bacteriële pleuropneumonie of peritonitis in paarden.

#### Rifamycinen

Rifampicine is de belangrijkste, synthetisch gemodificeerde vertegenwoordiger van de rifamycinen. Rifampicine wordt in combinatie met een macrolide (azithromycine of erythromycine) gebruikt bij de behandeling van *Rhodococcus equi*-infecties bij veulens en methicillineresistente *Staphylococcus Pseudointermedi-*



**Figuur 1.** De structuur formule van metronidazol. In rood de nitrogroep, die verantwoordelijk is voor de werking van metronidazol.

us-infecties (MRSP) bij gezelschapsdieren. Ook wordt rifampicine in combinatietherapie gesuggereerd als behandelmogelijkheid voor *Lawsonia intracellularis* infecties bij het paard. Rifampicine is niet geregistreerd als diergeneesmiddel in Nederland.

#### Het algemene werkingsmechanisme

Rifampicine remt het DNA-afhankelijke RNA-polymerase-enzym binnen in bacteriën. In de therapeutische dosering is het selectief toxisch: rifampicine grijpt dus niet aan op het RNA polymerase van zoogdieren. Rifampicine is bactericide en is werkzaam tegen zowel extra- als intracellulaire pathogenen. Rifampicine kan neutrofielen en macrofagen binnengaan om daar intracellulaire bacteriën te doden, zonder de fagocytose te verstoren. Rifampicine kan gemakkelijker de buitenmembraan van Grampositieve doordringen dan die van Gramnegatieve bacteriën, wat een deel van het werkingsspectrum verklaart (zie hierna).

#### Werkingspectrum en antimicrobiële activiteit

Rifampicine is een smalspectrum<sup>3</sup> antibioticum met activiteit tegen veel Grampositieve en sommige Gramnegatieve aërobe bacteriën en enkele facultatief anaërobe organismen. In verband met onvoorspelbare gevoeligheid/resistentie, moeten gramnegatieve bacteriën als resistent worden beschouwd. Rifampicine wordt regelmatig toegediend in combinatie met andere antibiotica, waardoor het snelle ontstaan van resistentie wordt voorkomen.

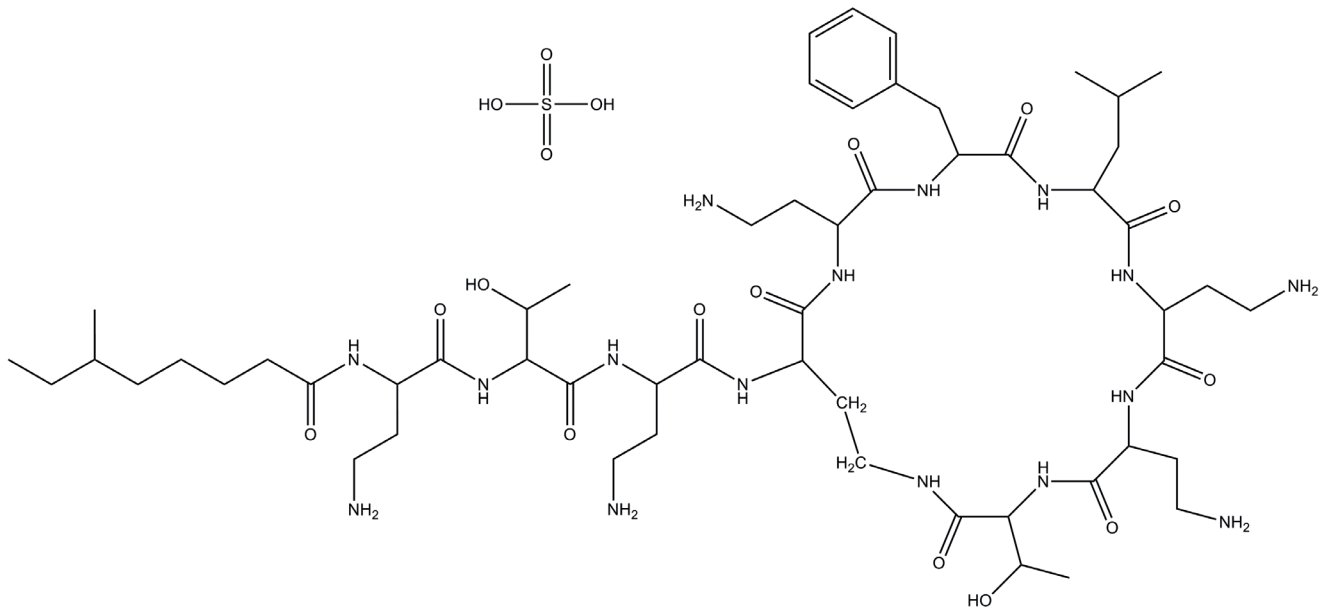
Rifampicine wordt in Nederland met name gebruikt bij *Rhodococcus equi*-infecties.

#### Farmacokinetiek

Rifampicine wordt na orale toediening snel opgenomen bij kalveren, honden en paarden, hoewel bij deze laatste de biologische beschikbaarheid laag is. Bij volwassen paarden verlengt de toediening met voer de tijd tot bereiken van de maximale serumconcentraties. Paarden vinden rifampicine niet lekker smaken.

Rifampicine is erg lipofiel en dringt tot de meeste weefsels door, inclusief melk, bot, abscessen en het centraal zenuwstelsel. Rifampicine dringt ook neutrofielen en macrofagen binnen. Rifampicine kan de placentabarrière passeren en is teratogeen (aangetoond in knaagdieren). Ontlasting, speeksel, zweet, tranen en urine kunnen rood-oranje verkleuren door (de metabolieten van) rifampicine en het wordt bij het paard in hoge mate aan plasmaeiwitten gebonden.

3. Smalspectrum volgens de Werkgroep Veterinair Antibioticum Beleid (zie <http://www.knmvd.nl/over-knmvd/publicaties>).



**Figuur 2.** De structuur van polymyxine, te weten: een positief geladen cyclisch decapeptide (rechts) dat via een alfa-amidebinding gebonden is aan een vetzuurketen (de staart aan de linkerzijde).

Er is weinig bekend over de biotransformatie en eliminatie van rifampicine in dieren. De voornaamste metabolieten zijn ook niet bekend. Wel is de metaboliet desacetyl-rifampicine (in kleine hoeveelheden) aangetoond in urine van het paard. In jonge veulens is de eliminatiehalfwaardetijd van rifampicine aanzienlijk verlengd vanwege het nog onderontwikkelde levermetabolisme. Daarnaast is bekend dat rifampicine een aanzienlijke inductie van leverenzymen geeft. Hierdoor brengt het ook z'n eigen metabolisme op gang, zodat meerdere doseringen oraal de eliminatiehalfwaardetijd significant verlagen. Het duurt een aantal dagen (5) voordat de enzyminductie op gang is maar deze kan vervolgens aanhouden tot twee weken na beëindiging van de therapie. De leverenzyminductie heeft ook gevolgen voor het combineren met andere geneesmiddelen (zie hierna).

#### Resistentie

Resistentie tegen rifampicine ontwikkelt snel en komt tot stand door chromosomale mutatie, die tot een hoge mate van resistentie leidt. Resistente mutanten kunnen concentratiegevoelig zijn (waarbij door blootstelling aan hogere concentraties rifampicine de bacterie in principe nog wel kan worden bestreden).

#### Combinatietherapie

Rifampicine induceert microsomale leverenzymen, wat kan leiden tot een kortere eliminatiehalfwaardetijd van andere geneesmiddelen die via de lever gemetaboliseerd worden, zoals chlooramfenicol, corticosteroiden, warfarine, ketoconazol, itraconazol, trimethoprim en barbituraten.

In vitro is rifampicine synergistisch met erythromycine en trimethoprim en heeft het een additief effect in combinatie met ampicilline of penicilline G.

4. Smalspectrum volgens de Werkgroep Veterinair Antibioticum Beleid (zie <http://www.knmvd.nl/over-knmvd/publicaties>).

#### Polypeptide antibiotica; Polymyxinen

Polymyxinen zijn polypeptideantibiotica, die bestaan uit vijf verschillende werkzame stoffen: polymyxine A tot en met E. Zowel polymyxine B-sulfaat als polymyxine E-sulfaat (=colistine) zijn in Nederland veterinair geregistreerd. Beide stoffen zijn het natuurlijke product van de bodembacterie *Bacillus polymyxa*.

#### Het algemene werkingsmechanisme

Polymyxinen zijn positief geladen, oppervlakteactieve antibiotica (zie figuur 2) die binden aan de negatief geladen buitenmembraan van bacteriën. Dit leidt tot een verstoring van de membraanintegriteit. Hierdoor raakt de celmembraan lek en sterft de bacterie uiteindelijk.

Polymyxinen binden specifiek aan de negatief geladen lipid A-regio van lipopolysacchariden (LPS, endotoxine) in de buitenmembraan van de bacterie. Dit leidt niet alleen tot de bovengenoemde cellekkage maar ook tot neutralisatie van de endotoxische capaciteit van LPS. Polymyxinen maken dus niet alleen de bacteriën dood, maar hebben, mits in voldoende hoge concentratie, ook endotoxineneutraliserende effecten. Omdat systemisch gebruik van polymyxinen vanwege hun toxiciteit wordt ontraden, spelen deze effecten met name op lokaal niveau (darm, oor).

Voor de binding aan het LPS is er competitie tussen polymyxinen en calcium en magnesium. Dit betekent dat de werking van polymyxinen kan verminderen in aanwezigheid van (bijvoorbeeld) calcium.

#### Werkingspectrum en antimicrobiële activiteit

Polymyxine is een smalspectrum<sup>4</sup>, bactericide antibioticum met activiteit tegen Gramnegatieve bacteriën (zoals *E. coli*, *Salmonella*, *P. aeruginosa*). Grampositieve bacteriën, Gramnegatieve kokken en anaerobe bacteriën zijn resistent.

*Farmacokinetiek*

Na orale toediening worden polymyxinen niet opgenomen uit het maag-darmkanaal. Om systemisch werkzame polymyxine-concentraties te bereiken, moet men dus kiezen voor een injectiepreparaat. Na opname vanuit de injectieplaats binden de polymyxinen slechts matig aan plasma-eiwitten, passeren ze biologische membranen zeer moeizaam en bereiken ze slechts in lage concentraties de transcellulaire vloeistoffen en melk. Ze dringen dan ook maar heel matig in weefsels door. Polymyxinen binden echter wel erg goed aan de membraanlipiden van zoogdiercellen van lever, long, hart, nier, hersenen en spieren. Polymyxinen komen daar maar langzaam weer van los, waardoor bij langdurige toediening stapeling in het dier kan optreden.

Polymyxinen worden, voornamelijk in onveranderde vorm, uitgescheiden in de urine via glomerulaire filtratie. Dit betekent dat bij patiënten met nierfalen polymyxinen snel kunnen stapelen door vertraagde excretie. Bovendien zijn polymyxinen zeer nefrotoxisch: ze beschadigen de renale tubulusepitheelcellen.

Bij systemische toediening van polymyxinen zijn naast de nefrotoxiciteit ook de neurotoxiciteit en neuromusculaire blokkade ernstige bijwerkingen. Hoewel colistine minder toxisch is bij systemische toediening dan polymyxine B, moet men polymyxinen vanwege hun toxiciteit in het algemeen niet parenteraal toedienen.

*Resistentie*

Verkregen resistentie tegen polymyxinen is zeldzaam maar wordt bijvoorbeeld aangetroffen in *P. aeruginosa*. Kruisresistentie tussen de polymyxinen is (nagenoeg) volledig: wanneer een bacterie resistent is tegen polymyxine B, is deze bacterie óók resistent tegen polymyxine E.

De resistentiemechanismen die zijn beschreven voor polymyxinen, hebben onder meer betrekking op veranderingen in de samenstelling en daarmee de lading van de lipid A-regio van het LPS en afname van de hoeveelheid LPS in de buitenmembraan. Als gevolg van de gewijzigde samenstelling is de lipid A regio minder negatief geladen. De gevolgen hiervan zijn tweeledig; de aantrekkingskracht voor het negatief geladen polymyxine is minder, en de afstoting van de lipid A regio's onderling is ook minder. Als gevolg van dit laatste fenomeen raken de

lipiden dichter opeen gepakt in de membraan, wat ook de bereikbaarheid voor polymyxine vermindert.

*Combinatietherapie*

Vanwege het verstoren van de buitenmembraan en het cytoplasmamembraan van bacteriën, zijn polymyxinen synergistisch met diverse andere antibiotica zoals sulfonamiden en trimethoprim.

**DANKWOORD**

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

**REFERENTIES**

1. Evans J, Levesque D, Knowles K, Longshore R and Plummer S. Diazepam as a treatment for metronidazole toxicosis in dogs: a retrospective study of 21 cases. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 304-310.
2. Falagas ME and Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Reviews of anti-infective agents*, 2005; (40): 1333-1341.
3. Giguère S, Prescott JF, Baggot JD, Walker RD and Dowling P.M. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Fourth ed. Blackwell scientific publications, ed. B. Publishing. 2006, Iowa: Blackwell.
4. Kaakoush NO, Asencio C, Mégraud F and Mendz GL. A redox basis for metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53 (5): 1884-1891.
5. Laan TTJM, Butler CM, Daha TJ, van Doorn DCK, Duijkeren E van, Goehring LS, Houwers DJ, Maanen C van, Picavet T, and Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM. Leidraad III – Infectieuze aandoeningen – respiratie. *Tijdschr Diergeneeskd* 2008; 133 (1): 20-25.
6. Landman D, Georgescu C, Martin DA and Quale J. Polymyxins revisited. *Clinical Microbiology Reviews* 2008; 21 (3): 449-465.
7. Olekhnovich IN, Goodwin A, and Hoffman PS. Characterization of the NAD(P)H oxidase and metronidazole reductase activities of the RdxA nitroreductase of *Helicobacter pylori*. *FEBS J* 2009; 276 (12): 3354-3364.
8. Picavet T, Butler CM, Daha TJ, Doorn DCK van, Duijkeren E van, Goehring LS, Houwers DJ, Laan TTJM, Maanen C van and Sloet van Oldruitenborgh-Oosterbaan MM. Leidraad III – Infectieuze aandoeningen – digestie (deel 1). *Tijdschr Diergeneeskd* 2008; 133 (3): 110-114.