

Kap. 20 – Mikrobiell vekstkontroll

Fokuset er her rettet mot reagenser og metoder som anvendes for vekstkontroll av mikrober *utenfor* kroppen

Et utvalg av stoffert benyttes i det daglige liv:

- såper/vaskemidler – kjøkken, klær, hender
- kjemikalier – i laboratoriet

KJEMISK ANTIMIKROBIELL KONTROLL

□ Antimikrobiell reagens

- naturlig eller syntetisk kjemikalie som dreper/inhiberer mikroorganismer
 - * Bacteriocidal / Bacteriostatic
 - * Fungicidal / Fungistatic
 - * Viricidal / Viristatic
- selektiv toksisitet – virker enten generelt på alle celler eller spesifikt

□ Antimikrobiell aktivitet – måles via

- MIC – minimum inhibitory concentration
- Agar diffusion assay

KJEMISK ANTIMIKROBIELL KONTROLL

□ Antiseptika

- kjemiske reagenser som dreper/inhiberer mikroorganismer og som er tilstrekkelig non-toksisk ved bruk på huden
 - * inkluderer de stoffer som anvendes for håndvask og overflate sår

□ Desinfiseringsmidler

- kjemikalier/metoder som anvendes for å drepe mikroorganismer på overflater
 - varmedesinfisering
 - germisider – sykehus, meierier mm.
 - kjøledesinfisering
 - stråling
 - gass

□ Steriliseringsmidler – variant av desinfiseringsmidler (f.eks. EtOH)

SYNTETISKE ANTIMIKROBIELL STOFFER

For kontroll av sykdommer kan kjemiske stoffer anvendes innvortes – slike forbindelser kalles **kjemoterapeutika**, og er viktige i klinisk og veterinær medisin så vel som i landbruk

Kjemoterapeutika klassifiseres iht. struktur og virkemåte – skiller også mellom **syntetiske stoffer** og **antibiotika**

Et godt kjemoterapeutikum kjennetegnes ut fra dens selektivitet, dvs. dens evne til å inhibere bakterier eller patogene mikrober uten å påvirke ”verten”

□ VEKSTFAKTOR ANALOGER

- syntetiske forbindelser som ligner strukturmessig men som hindrer funksjonen til vekstfaktorer i en celle
 - Sulfapreparater – de første stoffene som ble brukt til å inhibere bakterier, f.eks. **sulfanilamide**
 - Analoger av vitaminer, aminosyrer, baseanaloger mm., f.eks. **isoniazid** som virker selektivt på *Mycobacterium tuberculosis*
 - Quinoloner – interagerer med bakterie gyraser => hindrer DNA supercoiling

□ ANTIBIOTIKA

- kjemiske forbindelser som produseres av mikroorganismer og som inhiberer eller dreper andre mikroorganismer
- skiller seg fra vekstfaktor analoger i det de er naturlige stoffer, og ikke syntetiske produkter
- blant de viktigste stoffene som produseres i storskala
- har forskjellige mål ved bruk – < 1% er medisinsk viktige
- noen er mer effektive etter kjemisk modifiseringer – kalles da semisyntetiske antibiotika
- følsomheten ovenfor disse stoffene varierer – G⁺ vanligvis mer følsomme enn G⁻ arter
- noen er bredspektret, andre er smalspektret

□ β-LAKTAMER – penicillin varianter og cephalosporiner

- β-laktamer er blant de viktigste grupper antibiotika
- alle inneholder β-laktamring og inhiberer cellevegg syntese
 - penicillin – produseres av *Penicillium chrysogenum*
 - cephalosporin - produseres av ≠ *Cephalosporium* arter
- et stort utvalg av penicilliner finnes, og mange av disse er effektive mot G⁻ bakterier
- cephalosporiner skiller seg fra penicilliner ved tilstedeværelse av en dihydrothiazine-ring, og er ofte mer effektive siden de er mer bredspektret

□ PROKARYOTE ANTIBIOTIKA

- Mange antibiotika som er virksomme mot prokaryoter blir også produsert av slike organismer – skiller mellom 3 typer
 - aminoglykosider – antibiotika der aminosukkerer er forbundet via glykosid binding
 - **streptomycin, kanamycin, og neomycin**
 - inhiberer proteinsyntese, binder til ribosomets 30S subenhet
 - brukes klinisk til å inhiberer G⁻ bakterier
 - makrolider – antibiotika som inneholder store laktonringer bundet til sukkermoieter, store variasjoner finnes
 - best kjent: **erythromycin**
 - inhiberer proteinsyntese, binder til ribosomets 50S subenhet
 - brukes når folk er allergiske til penicillin
 - virksom på *Legionella pneumophila*
 - tetrasykliner – inneholder en naphthacene ring struktur, blant de første bredspektret antibiotika i bruk, inhiberer G⁻ og G⁺ bakterier
 - best kjent: **tetracycline**
 - variasjon fås ved forskjellige ring substitueringer
 - inhiberer proteinsyntese, binder til ribosomets 30S subenhet

KONTROLL AV VIRUS & EUKARYOTE PATOGENER

□ Antivirale medikamenter

- Vanskelig å få til pga. virusets virkested (eukaryote celler; er integrert i cellefunksjonene), men AIDS forskningen har bidratt til endringer
 - nukleosid analoger – vanligste medikament med best antiviral virkning
 - AZT – azidothymidine
 - første medikament mot HIV viruset
 - inhiberer revers transkripsjon og dermed dannelse av nye virus
 - toksisk for celler
 - Protease inhibitorer (PI)
 - naturlige antivirale medikamenter
 - effektiv mot HIV viruset
 - hindrer syntese av virus proteiner og modning av virus

KONTROLL AV VIRUS & EUKARYOTE PATOGENER

□ Interferoner

- Stoffer som dannes i animalske celler ved virus infeksjon
- Lavmolekylære forbindelser som hindrer virus dannelse ved syntese av antivirale proteiner – 3 typer:
 - IFN- α – dannes i leukocytter
 - IFN- β – dannes i fibroblaster
 - IFN- γ – dannes i lymfocytter
- Vertsspesifikke

□ SOPPMIDLER

- Som virus, oppstar det problemer ved behandling av sopp da disse er eukaryoter med mye av den samme cellemaskineri
- De fleste soppmidler anvendes overflatisk, men noen er også sopp spesifikke
- Ergosterol – inngår i cellemembranen til de fleste sopper istedenfor kolesterol
 - polyener – binder til ergosterol og ødelegger membranfunksjon => permeabilitet og celledød
 - produseres av forskjellige *Streptomyces* arter
 - allyminer og azoler – inhiberer selektivt hhv. ergosterol syntese og membransyntese; er bredspektrede soppmidler
 - andre soppmidler:
 - polyoxiner – inhiberer cellevegg syntese ved å hindre kitin dannelse

ANTIMIKROBIELL RESISTENS OG NYE MEDIKAMENTER

- Som følge av utstrakt bruk av antimikrobielle midler har mange mikroorganismer utviklet resistens mot virkestoffene
- De fleste resistensmekanismer involverer tilstedeværelsen av resistensgener som sørger for å nøytralisere eller ødelegge antibiotika
- Gener som koder for resistens kan overføres mellom stammer/arter som følge av ”genetic exchange”

□ RESISTENS MEKANISMER

- Ikke alle antibiotika er virksomme mot alle mikroorganismer – noen er naturlig resistente:
 - 1) de mangler strukturen/proteinet som antibiotikaen skal virke mot
 - 2) de kan være impermeable ovenfor antibiotikaen
 - 3) de kan inaktivere antibiotikaen ved å endre dens struktur
 - 4) de kan modifisere målet for antibiotikaen
 - 5) de kan endre en metabolske reaksjonsvei ved opptak av nye gener slik at antibiotikaens funksjon blokkeres
 - 6) de kan pumpe ut antibiotika som entrer cellen

□ R-plasmider

- I laboratorier isoleres ofte celler som er resistente pga. mutasjoner i gener på kromosomet
- De fleste resistente bakterier isolert fra pasienter inneholder plasmider med gener som koder for antibiotika resistens
- Førstnevnte skyldes modifisering av målet for antibiotikaen, mens sistnevnte inneholder nye gener som koder for enzymer som inaktiverer antibiotikaen
- Bevis finnes for at R-plasmider fantes FØR antibiotika æren (en *E. coli* art frosset ned i 1946 er resistent mot streptomycin og tetracycline!), men storstilt bruk verden over har bidratt til selektiv spredning av plasmidene
- Stopp FØR tiden vba. antibiotika har også ført til seleksjon av resistente arter
- Anvendelsen av antibiotika i landbruket som vekstfremmende middel har også resultert i den raske resistensutviklingen

□ NYE ANTIMIKROBIELLE MEDIKAMENTER

- Nye analoger av eksisterende antimikrobielle forbindelser er ofte ”rett-fram”: eksisterende modifiseres; eks: tetracycline, der derivater lages via kjemisk substituering av sidekjeder
- Derivater av eksisterende medikamenter er iblant langt mer effektive enn utgangsstoffet
- Nye medikamenter er lett å lage – men det er tidkrevende å få dem godkjent som legemidler
- Computer design – ved god kjennskap til metabolismen har nye virkestoffer blitt til vha. datasimuleringer; et godt eks. her er *saquinavir*, som virker mot HIV viruset og ble til vba. kjente 3-D strukturer av proteaser