

УДК 579:845:616-002.3

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЙ АНТИБІОТИКІВ НА МУЗЕЙНІ ПОЛІАНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІ ШТАМИ СИНЬОГНІЙНОЇ ПАЛИЧКИ

Дяченко В.Ф., Ягнюк Ю.А.,  
Марющенко А.М., Бомко Т.В.,  
Бакуменко А.В., Городницька Н.І.

ДУ “Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.  
Мечникова НАМН України”

На сьогоднішній час в клініках різного профілю виникають суттєві проблеми в боротьбі з антибіотикорезистентними збудниками інфекцій. Актуальною є проблема гнійно-запальних ускладнень для хірургічних стаціонарів. Незважаючи на стрімкий розвиток операційних технологій, широке використання сучасних антисептиків, антибактеріальних, імунокорегуючих препаратів, в Україні частота виникнення гнійно-септичних процесів після хірургічних втручань складає 14-16 % . Найчастіше збудниками тяжких гнійних ускладнень є грамнегативні бактерії, серед яких превалює синьогнійна паличка [1, 2, 3].

Стрімке зниження чутливості збудників гнійно-запальних інфекцій має велике соціальне та економічне значення, тому що поява в арсеналі лікарів нових ефективних протимікробних засобів обмежена довготривалістю та багатовартістю технологічного процесу їх винаходу та виробництва. Одним із шляхів вирішення даної проблеми є спосіб комбінування протимікробних препаратів різних фармакологічних груп. Багатьма дослідниками в різних країнах ведеться пошук синергічних комбінацій антибактеріальних препаратів, які дозволяють, у першу чергу, домогтися усунення важких інфекцій, викликаних полірезистентними збудниками.

Група вчених під керівництвом **Sh. Oie** вивчала [4] *in vitro* ефективність дії двох- та трьох-компонентних комбінацій антибіотиків на полірезистентні ізоляти *P.aeruginosa*. До експерименту добувались штами синьогнійної палички, виділені в різних регіонах Японії, які були резистентними до найбільш розповсюджених у світі антисиньогнійних препаратів ( піперациліну, меропенему, цефтазидиму, цефоперазону/сульбактаму, азтреонаму, амікацину і ципрофлоксацину). Отримані дані свідчили про потенційні можливості комбінацій бета-лактамних антибіотиків та амікацину в боротьбі з множинною стійкістю *P.aeruginosa* до протимікробних засобів.

Перспективи використання фторхінолону пазуфлоксацину в комбінації з піперациліном, тазобактамом/ піперациліном, цефтазидимом, цефпіромом, іміпенемом, меропенемом, паніпенемом, амікацином та аміноглікозидом ІV покоління ізепаміцином в лікуванні інфекцій, спричинених метици-

лін-резистентними стафілококами та полірезистентними штамами синьогнійної палички вивчались в експериментальних дослідженнях М. Masako, Т. Kazumi та ін. [ 5].

За іншими повідомленнями [6], ефективність лікування грамнегативних інфекцій, у тому числі показники летальності, суттєво не відрізняються при моно – та комбінованій антибіотикотерапії.

Розбіжність даних щодо ефективності або неефективності дії комбінацій антибіотиків на ті чи інші збудники може бути пов'язаною з тим, що, при дослідженні впливу комбінацій протимікробних засобів важливе значення мають дози та схеми сумісного введення препаратів [7].

Аналіз літературних джерел підтверджує необхідність продовження експериментальних досліджень з комбінованого випробування антибіотиків щодо полірезистентних збудників. Накоплення локальних експериментальних даних може стати підґрунтям для проведення цілеспрямованих клінічних досліджень з використанням комбінацій сучасних антибіотиків в лікуванні гнійної полірезистентної інфекції.

### Мета дослідження

Визначення ефективності дії комбінацій антибіотиків на музейні поліантибіотикорезистентні штами синьогнійної палички.

### Матеріали та методи дослідження

Проведене вивчення ефективності комбінацій антибіотиків по відношенню до 4-ох полірезистентних штамів синьогнійної палички, отриманих з музею мікроорганізмів ДУ “ІМІ НАМН” (штам *P.aeruginosa* «1 Порт», номер в колекції – 10726; штам *P.aeruginosa* «6 Порт», номер в колекції – 10727; штам *P.aeruginosa* «10 Порт», номер в колекції – 10728; штам *P.aeruginosa* «13 Порт», номер в колекції – 10729).

Дослідження проводилося шляхом визначення мінімальних інгібуючих концентрацій антибіотиків методом «шахової дошки» [7]. Для оцінки результатів використовували фракційний індекс інгібіції - Fix (the fraction inhibitory index).

$$Fix = FicA + FicB,$$

де Fic - фракційна інгібуюча концентрація.

$$FicA = Mic A \text{ в комбінації} / Mic A$$

Взаємодія антибіотиків оцінювалась наступним чином:

при  $Fix \leq 0,5$  - синергізм;

при  $Fix > 0,5$  і  $\leq 4,0$  - індиферентність;

при  $Fix > 4,0$  - антагонізм.

Ідентифікацію мікроорганізмів за морфологічними, тинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями та дослідження антибіотикорезистентності здійснювали загальноприйнятими методами [8, 9,10].

У дослідженнях використовувались поживні середовища:

- бульон Muller Hinton (виробник – “Himedia”); термін придатності – 11.2013 );

- середовище Ендо (виробник – НПО «Дагестанський завод поживних середовищ»; термін придатності – 02.2014 );

- мясопептонний агар (виробник – НПО «Дагестанський завод поживних середовищ»; термін придатності – 09.2014);

У комбінаціях досліджено антибіотики цефепім, амікацин, ципрофлоксацин, тіенам, доксіциклін.

Цефепім (діюча речовина – Cefepimium hydrochloride ) - порошок для ін'єкцій 1000 мг; виробництво - Індія.

Тіенам (діюча речовина - Imipenem & Cilastatin) - розчин для інфузій 500 мг; виробництво - Швейцарія.

Амитрекс (діюча речовина – Amikacin) - розчин в ампулах по 2 мл, що вміщує 500 мг амікацина сульфата; виробництво - Росія.

Ципролет (діюча речовина - Ciprofloxacin) - розчин для інфузій 200 мг/100 мл; виробництво - Індія.

Доксіциклін (діюча речовина - Doxycycline hydrochloride) - розчин для інфузій 200 мг/100 мл; виробництво - Росія.

### Результати та їх обговорення

Всі досліджені штами *P.aeruginosa* мали типові морфологічні, культуральні та біохімічні властивості та зберігали ознаки поліантибіотикорезистентності – були резистентними до 5-ти та більше груп антибіотиків.

Згідно з отриманими результатами, найбільш активним по відношенню до досліджених музейних штамів синьогнійної палички виявився тіенам та амікацин – резистентність до них встановлено у 25,0 та 50,0 % штамів відповідно, у той час як до цефепіму та ципрофлоксацину - у 75,0 % досліджених штамів *P.aeruginosa*. Протисиньогнійної активності у доксіцикліну не виявлено.

Таким чином, використані в експерименті антибіотики цефепім, амікацин, тіенам, ципрофлоксацин та доксіциклін виявили різну протимікробну активність та широкий діапазон МІК стосовно досліджуваних

музейних штамів *P.aeruginosa*. Найбільш активним по відношенню до досліджених штамів синьогнійної палички виявились тіенам та амікацин.

Встановлені значення МІК антибіотиків для кожного штаму були використані, як це передбачено методом «шахової дошки», в подальших дослідженнях з вивчення дії 10-ти комбінацій АБ. Результати проведених експериментальних досліджень наведені у таблиці 1.

Аналіз результатів комбінованого впливу цефепіму та амікацину (табл. 1) свідчить про синергічний ефект сумісного випробування зазначених антибіотиків в експериментах на всіх досліджених музейних штамів *P.aeruginosa* (  $FIX \leq 0,5$  ).

Результати проведених експериментальних досліджень комбінації цефепіму та ципрофлоксацину щодо полірезистентних штамів синьогнійної палички, наведені у таблиці 1, свідчать про те, що синергічний ефект дослідженої комбінації антибіотиків (  $FIX \leq 0,5$  ) виявлявся щодо 75,0 % досліджених штамів *P.aeruginosa* . На одному штамі зафіксовано ефект сумачі протимікробної дії антибіотиків зазначеної комбінації (  $FIX - \geq 0,5$  ).

Використання у складі комбінацій цефепіму та тіенаму не призвело до суттєвого зменшення МІК зазначених антибіотиків, тому розрахунок показника  $FIX$  підтвердив низьку ефективність комбінування цефепіму та тіенаму. На двох досліджених штамів *P.aeruginosa* виявився ефект сумачі дії антибіотиків (  $FIX - 0,5 - 1,0$  ) та на двох - індиферентність (  $FIX - \geq 1,0$  ).

При дослідженні комбінованого впливу на поліантибіотикорезистентні штами синьогнійної палички цефепіму та доксіцикліну розрахунок показника  $FIX$  свідчили про індиферентність сумісного випробування зазначених антибіотиків, і лише в експерименті на одному штамі зафіксовано ефект сумачі в комбінації. (Таблиця 1)

Таблиця 1–Характеристика ефективності комбінованого використання антибіотиків щодо музейних полірезистентних штамів *P.aeruginosa*

Склад комбінації	Ефекти від комбінації, %			
	Синергізм	Сумачія	Індиферентність	Антагонізм
Цефепім-амікацин	100,0	-	-	-
Цефепім-ципрофлоксацин	75,0	25,0	-	-
Цефепім-тіенам	-	50,0	50,0	-
Цефепім-доксіциклін	-	25,0	75,0	-
Амікацин-ципрофлоксацин	-	75,0	25,0	-
Ципрофлоксацин-тіенам	-	75,0	25,0	-

Тіснам-доксіциклін	-	-	100,0	-
Амікацин-доксіциклін	-	-	100,0	-
Тіснам-амікацин	25,0	75,0	-	-
Ципрофлоксацин-доксіциклін	-	25,0	75,0	-

При дослідженні комбінованого впливу на поліантибіотикорезистентні штами синьогнійної палички цефепіму та доксіцикліну розрахунок показника FIX свідчили про індиферентність сумісного випробування зазначених антибіотиків, і лише в експерименті на одному штамі зафіксовано ефект сумачії в комбінації.

При аналізі результатів комбінованого впливу ципрофлоксацину та амікацину підрахунок показника FIX виявив його великі значення, які підтверджують ефект сумачії та індиферентний ефект.

При розрахунку показника FIX в досліді по вивченню комбінації тіснаму та ципрофлоксацину щодо полірезистентних штамів синьогнійної палички також встановлено, що синергічного ефекту досліджена комбінація не створювала: щодо 75 % досліджених штамів *P.aeruginosa* зафіксовано ефект сумачії протимікробної дії антибіотиків зазначеної комбінації, а стосовно 25 % - індиферентність.

Розрахунок показника FIX також підтвердив неефективність комбінування тіснаму та доксіцикліну. В досліді на всіх використаних штамів *P.aeruginosa* виявився ефект індиферентності.

При дослідженні комбінованого впливу на поліантибіотикорезистентні штами синьогнійної палички амікацину та доксіцикліну було встановлено несуттєве зниження діапазону МІК амікацину в комбінації - з 2,0 – 64,0 мкг/мл до 1,0- 64 мкг/мл, а показники FIX також свідчили про індиферентність сумісного випробування зазначених антибіотиків в експериментах на 75 % досліджених штамів, і лише на 1 штамі *P.aeruginosa* в комбінації зафіксовано ефект сумачії.

Аналіз результатів комбінованого впливу тіснаму та амікацину виявив значення FIX, які підтверджують лише ефект сумачії дії антибіотиків на 75,0 % штамів *P.aeruginosa* та на 25,0 % - індиферентний ефект.

Результати проведених експериментальних досліджень комбінації ципрофлоксацину та доксіцикліну щодо полірезистентних штамів синьогнійної палички свідчать про те, що при розрахунку показника FIX синергічний ефект досліджена комбінація антибіотиків не створювала, щодо 25,0 % досліджених штамів *P.aeruginosa* зафіксовано ефект сумачії, а стосовно 75,0 % - індиферентність.

Підсумовуючи результати проведених експериментальних досліджень комбінованого застосування АБ з використанням методу «шахової дошки», можна заключити, що найбільш ефективними по відношенню до музейних поліантибіотикорезистентних штамів *P.aeruginosa* виявились

комбінації цефепіму з амікацином та цефепіму з ципрофлоксацином.

## References

1. Gorbunov V. A. Multi-center study of nosocomial antibiotic-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* in the Republic of Belarus / V. A. Gorbunov, L. P. Titov, T. S. Ermakova // Health Care . - 2007 . - № 1. - P. 28-31 .
2. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report data summary From January 1992 through June 2004, issued October 2004 // J. Infect Control. - 2004 . - Vol.32. - P. 470- 485 .
3. Shahinian I. A. Non-fermenting Gram-negative bacteria in the etiology of nosocomial infections: clinical, microbiological and epidemiological features / I.A. Shahinian, M. Yu. Chernuha // Mountain. microbiology antimicrobial. Chemotherapy . - 2005 . - Vol.7, № 3 . – P. 271 - 285.
4. Oie, S. In vitro effects of combinations of antipseudomonal agents against seven strains of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* / S. Oie [et al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2003. – V. 52, № 6. – P. 911-914.
5. Mazuski, J.E. The Surgical Infection Society guidelines on antimicrobial therapy for intra-abdominal infections: evidence for the recommendations [Text] / Mazuski J.E., Sawyer R.G., Nathens A.B., et al. // Surg. Infect. – 2002. – № 3. – P. 175-233.
6. Klibanov, O. Single Versus Combined Antibiotic Therapy for Gram-Negative Infections [Text] / Klibanov O., Ralph Raasch, John Rublein // The Annals of Pharmacotherapy. -2003.- Vol. 38, No. 2.- P. 332-337.
7. Joukhadar, C. Lack of bactericidal antagonism or synergism in vitro between oxacillin and vancomycin against methicillin-susceptible strains of *Staphylococcus aureus*. [Text] / Joukhadar C., Pillai S., et al. // J. Antimicrob Chemother. - 2010.- Vol. 54(2).- P. 773-777.
8. The study of the specific activity of the antimicrobial drug [Text]: guidelines // Gromashevskiy Institute of Epidemiology and Infectious Disease of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. - Delhi, 2004 . – P. 32.
9. Antibioticogram: disk diffusion method. Interpretation of the results [Text] / edited by Sidorenko S.V., Kolupava V.E. - M: [BV] - 1999 . – P. 34 .
10. Hult, D. Identification bakteriy Burgi [Text] / A. Hult, N.Krieg, P. Sneath [translation. from English. GA Zavarzin]. -Academic Press, 2001. – 800 p.

УДК 579:845:616-002.3

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНАЦИИ АНТИБИОТИКОВ НА МУЗЕЙНЫЕ ПОЛИАНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ**

**Дяченко В.Ф., Ягнюк Ю.А., Марющенко А.М., Бомко Т.В., Бакуменко А.В., Городницкая Н.И.**

По результатам экспериментального исследования с использованием метода «шахматной доски» установлена высокая эффективность комбинации цефепима и ципрофлоксацина, а также цефепима и амикацина в отношении 4 полирезистентных штаммов синегнойной палочки, полученных из Музея микроорганизмов ГУ «ИМИ НАМН».

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** : комбинации антибиотиков, полиантибиотико-резистентные штаммы, метод «шахматной доски».

УДК 579:845:616-002.3

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНАЦІЙ АНТИБИОТИКІВ НА МУЗЕЙНІ ПОЛІАНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНІ ШТАМИ СИНЬОГНІЙНОЇ ПАЛИЧКИ**

**Дяченко В.Ф., Ягнюк Ю.А., Марющенко А.М., Бомко Т.В., Бакуменко А.В., Городницька Н.І.**

Багатьма дослідниками в різних країнах ведеться пошук синергичних комбінацій антибактеріальних препаратів, які дозволяють, у першу чергу, домогтися усунення важких інфекцій, викликаних полірезистентними збудниками. Дослідженнями, проведеними під керівництвом Sh. Oie [4] та M. Masako, T. Kazumi та ін. [5] доведена ефективність дії двох- та трьохкомпонентних комбінацій антибіотиків на полірезистентні ізоляти *P.aeruginosa*. За іншими повідомленнями [6], ефективність лікування грамнегативних інфекцій, у тому числі показники летальності, суттєво не відрізняються при моно – та комбінованій антибіотикотерапії. Розбіжність даних щодо ефективності або неефективності дії комбінацій антибіотиків на ті чи інші збудники може бути пов'язаною з тим, що, при дослідженні впливу комбінацій протимікробних засобів важливе значення мають дози та схеми сумісного введення препаратів [7]. Тому накоплення локальних експериментальних даних може стати підґрунтям для проведення цілеспрямованих клінічних досліджень з використанням комбінацій сучасних антибіотиків в лікуванні гнійної полірезистентної інфекції. Метою дослідження стало визначення

ефективності дії комбінації антибіотиків на музейні поліантибіотикорезистентні штами синьогнійної палички. За результатами експериментального дослідження з використанням методу «шахової дошки» встановлена висока ефективність комбінації цефепіму та ципрофлоксацину і цефепіму та амікацину по відношенню до 4 музейних полірезистентних штамів синьогнійної палички, отриманих з Музею мікроорганізмів «ІМІ НАМН».

**Ключові слова**: комбінації антибіотиків, поліантибіотикорезистентні штами, метод «шахової дошки».

UDC 579:845:616-002.3

**THE STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTION OF COMBINATION OF ANTIBIOTICS AGAINST POLYANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA BY OF CHECKERBOARD METHOD**

**Dyachenko V.F. , Yagnyuk Yu.A., Mariushchenko A.M., Bomko T.V., Bacumenko A.V., Gorodnitskaya N.I.**

Many researchers from different countries are searching synergistic combinations of antimicrobial preparations that allow, first of all, to achieve the elimination of severe infections caused by multiresistant pathogens. Research conducted under the direction of Sh. Oie and M. Masako, T. Kazumi et al. demonstrated the effectiveness of two- and three-component combinations of antibiotics for multidrugresistant strains of *P.aeruginosa*. The result of experimental study by of method “time-bactericidal effect” was shown the high effectiveness of the combinations of cefepime and ciprofloxacin in relation to four museums multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains obtained from the Museum of microorganisms of State Establishment “Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”.

**Key woards**: combinations of the antibiotics, polyantibiotic-resistant strains, method “time-bactericidal effect”.