

УДК 579:845:616-002.3

**ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ
КОМБІНАЦІЙ ФОСФОМЦИНУ З
ЦЕФЕПІМОМ ТА ФОСФОМЦИНУ З
ТІСНАМОМ ЩОДО
ПОЛІАНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНИХ
ШТАМІВ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ**

**Дяченко В.Ф., Марюшенко А.М.,
Чигиринська Н.А., Куцай Н.М.**

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

Вступ

Одним із шляхів вирішення проблеми антибіотикорезистентності збудників гнійно-запальних захворювань є спосіб комбінування протимікробних препаратів різних фармакологічних груп. В багатьох країнах ведеться пошук синергідних комбінацій, які значно підвищують антимікробну ефективність препаратів. В цьому відношенні перспективними вбачаються препарати з групи фосфонової кислоти. Фосфоміцин є структурним аналогом фосфоенолапірувата, вступає в конкурентну взаємодію з ферментом N-ацетил-D-глюкозаміно-3-о-енолпірувил-трансферазою, що призводить до специфічного незворотного інгібування цього фермента та порушення початкового етапу синтезу клітинної стінки бактерій [1].

Крім того, фосфоміцин та його похідні здатні глибоко проникати в біологічні плівки і мікробні клітини та посилювати антибактеріальну дію інших протимікробних засобів [2, 3].

Мета дослідження: визначення ефективності дії комбінації антибіотиків фосфоміцину з цефепімом та фосфоміцину з тісنامом на поліантибіотикорезистентні штами ентеробактерій.

Матеріали та методи

Проведено вивчення ефективності комбінацій антибіотиків фосфоміцину з цефепімом та фосфоміцину з тісنامом по відношенню до збудників гнійно-септичних захворювань – 10 полірезистентних штамів *E. coli* та 4 полірезистентних штамів *K. pneumoniae*, виділених у стаціонарах м. Харкова (відділення урології та хірургії) в 2014-2015 рр., які були типовими за своїми видовими властивостями та відрізнялись поліантибіотикорезистентністю (були резистентними до трьох та більше груп антибіотиків, які широко використовуються для боротьби з грамнегативними збудниками гнійно-септичних захворювань: аміноглікозидів, цефалоспоринів, фторхінолонів, карбапенемів). Ідентифікацію мікроорганізмів проводили за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними властивостями [4].

Дослідження ефективності комбінацій антибіотиків проводилося шляхом визначення мінімальних інгібуючих концентрацій в пробірках за методом «шахової дошки». Для цього готували серії розведень антибіотиків в інтервалі концентрацій, значення яких були в 4 рази нижче і в 2 рази вище отриманих Міс досліджуваних препаратів по відношенню до тестованих мікроорганізмів. Застосовували послідовні дворазові розведення кожного антибіотика. Готували також пробірки, в яких вивчали моноантибіотик, без додавання другого компонента. Приклад розведення показано на рисунку 1.1.

Антибіотик В	2,0	$\frac{2,0}{0}$	$\frac{2,0}{0,06}$	$\frac{2,0}{0,12}$	$\frac{2,0}{0,25}$	$\frac{2,0}{0,5}$	$\frac{2,0}{1,0}$	$\frac{2,0}{2,0}$	
	1,0	$\frac{1,0}{0}$							
	0,5	$\frac{0,5}{0}$							
	0,25	$\frac{0,25}{0}$			$\frac{0,25}{0,50}$				
	0,12	$\frac{0,12}{0}$							
	0,06	$\frac{0,06}{0}$							
	0	$\frac{0}{0}$							
			0	0,06	0,12	0,25	0,5	1,0	2,0

Рис.1.1. - Метод шахової дошки. Приклад серії розведень двох антибіотиків, зроблених відповідно до їх Міс.

Шахова дошка складалась з пробірок, які по осі Х містили фіксовану кількість досліджуваної речовини А, а по осі Y - речовини В.

У результаті кожна пробірка «шахової дошки» містила відповідне співвідношення досліджуваних компонентів. В якості середовища використовували бульйон Мюлера-Хінтона. Розчини антибіотиків готували таким чином, щоб при внесенні в пробірки виходила їх бажана кінцева концентрація. Ми використовували кінцевий об'єм 1 мл, при цьому вносили 0,5 мл середовища, що містило антибіотики по 0,25 мл кожного, і 0,5 мл середовища, що містило суспензію мікроорганізмів, концентрація яких у кінцевому обсязі становила 2×10^5 КУО/мл. Суттєвим або значним зниженням Міс антибіотиків в комбінаціях вважалось зниження у 4 та більше разів відносно показників Міс антибіотиків при окремому використанні. [5]. Для оцінки результатів використовували фракційний індекс інгібіції - Fіх (the fraction inhibitory index). Комбінація вважалась ефективною, якщо створювала синергійний антимікробний ефект для більше, ніж 50 % перевірених штамів [6].

$$Fіх = FісА + FісВ,$$

де Fіс - фракційна інгібуюча концентрація.

$$FісА = Міс А \text{ в комбінації} / Міс А$$

Взаємодія антибіотиків оцінювалась наступним чином:

при $Fіх \leq 0,5$ - синергізм;

при $Fіх > 0,5$ і $\leq 1,0$ - сумація;

при Fіх від 1 до 2 - індіферентність

при $Fіх \geq 4,0$ - антагонізм.

У комбінаціях використано антибіотики торгових марок:

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

Урофосфабол (діюча речовина - Disodium phosphonomycin), порошок для ін'єкцій 1000 мг; виробництво - Росія.

Тіенам (діюча речовина - Imipenem & Cilastatin) – порошок для виготовлення розчину для инфузій, 500 мг; виробництво - Швейцарія.

Результати досліджень

Результати проведених експериментальних досліджень дії комбінації цефепіму та фосфоміцину на полірезистентні штами ентеробактерій, наведені у таблиці 1, свідчать, що згідно з величиною показника Fіх, для переважної більшості досліджених штамів (71,43 %) застосування цієї комбінації антибіотиків створювало ефект синергії, для 21,43 % штамів відмічалась індіферентність взаємодії цих антибіотиків, а для 7,14 % штамів - спостерігався ефект сумації. Таким чином, кількість штамів, для яких відмічався ефект синергії, більше ніж вдвічі перевищувала кількість штамів, для яких виявлявся ефект сумації та індіферентність.

При вивченні антимікробної дії комбінованого застосування фосфоміцину з тіенамом слід відмітити, що синергійний ефект спостерігався для незначної кількості перевірених штамів ентеробактерій (28,57 %), для основної частини штамів (42,86 %) – відмічався ефект сумації, для 28,57 % штамів – спостерігалась індіферентна взаємодія антибіотиків. В результаті кількість штамів, для якої виявлявся ефект синергії була майже в 2 рази нижчою ніж кількість штамів, для яких відмічався ефект сумації та індіферентність.

Таблиця 1. – Характеристика ефективності комбінованого використання антибіотиків проти полірезистентних штамів ентеробактерій

Склад комбінації	Ефекти від комбінації, % штамів		
	Синергія	Сумація	Індіферентність
фосфоміцин - цефепім	71,43	7,14	21,43
фосфоміцин - тіенам	28,57	42,86	28,57

Таким чином, підсумовуючи результати проведених досліджень слід відмітити, що комбінування фосфоміцину з цефепімом призвело до синергійного ефекту взаємодії для більшості перевірених штамів ентеробактерій. Такі результати співпадають з нашими попередніми дослідженнями відносно полірезистентних штамів синьогнійної палички [7].

Висновок

Перевірка за допомогою метода «шахової дошки» антимікробної дії комбінації фосфоміцину з цефепімом та фосфоміцину з тіенамом на поліантибіотикорезистентні штами ентеробактерій показала синергійність комбінації фосфоміцину з цефепімом для більшості досліджених штамів. При комбінуванні фосфоміцину з тіенамом для більшості перевірених штамів ентеробактерій відмічався ефект

сумації та індивідуальність, синергія відмічалась для незначної кількості штамів.

References

1. Cai, Y. Synergistic effects of aminoglycosides and fosfomycin on *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and biofilm infections in a rat model. [Text] / Y. Cai, Y. Fan, R. Wang, M.M. An, B.B. Liang // J. Antimicrob Chemother. - 2009. - Vol. 64 (3). - P.421-423.
2. Kastoris, A. C. Synergy of fosfomycin with other antibiotics for Gram-Positive and Gram-negative bacteria [Text] / A. C. Kastoris, P. I. Rafailidis, E. K. Vouloumanou [et al.] // Eur. J. Clin. Pharmacol. - 2010. - Vol. 66. - P.359-368.
3. Michalopoulos, A. S. The revival of fosfomycin [Text] / A. S. Michalopoulos, I. G. Livaditis, V. Gougoutas // Int J Infect Dis. - 2011. - Vol. 15, №11, P. 732-739.
4. Hult, D. Identification bakteriy Burgi [Text] / A. Hult., N. Krieg, P. Sneath [translation. from English. GA. Zavarzin]. // Academic Press. - 2001. - 800 p. 12.
5. Eliopoulos, G. M. Antimicrobial combinations, in Antibiotics in Laboratory Medicine, 1996, 4th edn (Lorian, V., Ed.), Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD, USA. P. 330-396.
6. Tsyganenko A.Ya., Girich O.V. Investigation of synerge antibiotics, wick are use for purulent-inflammatory diseases of skin and soft tissues.// Exspermental and clinical medicin. - 2009. - № 3. - P. 25-27.
7. Dyachenko, V.F. The study of antimicrobial activity of combinations of fosfomycin with cefepime and fosfomycin with tienam in respect polyantibiotic-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* [Text] / V.F. Dyachenko, Y.A. Yagniuk, A.M. Mariushchenko, N.M. Kutsay // Journal Annals of Mechnikov's Institute (AMI). - 2014. - № 4. - С. 78-82. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2014_4_13

UDC 579:845:616-002.3

THE STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COMBINATIONS OF FOSFOMYCIN WITH CEFEPIME AND FOSFOMYCIN WITH TIENAM IN RESPECT POLYANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF ENTEROBACTERIA

Dyachenko V..F. Mariushchenko A.M.

,ChygyrynskaN.A. ,Kutsay N.

Introduction. The rapid decrease in sensitivity of pathogens of septic infections to antimicrobial agents has led to significant difficulties in the treatment of antibiotic-resistant infections. One solution of this problem is the method of combining of antimicrobial medications from different pharmacological groups. Antimicrobial synergy resulting from antibiotic combination therapy is often important in the treatment of serious bacterial infections. The aim of the study is investigation of combined antimicrobial action of fosfomycin with cefepim and fosfomycin with tienam in respect polyantibiotic-resistant strains of enterobacteria.

Materials and methods. The polyantibiotic-resistant strains used in this study were isolated from patients hospitalised in the Hospital of Kharkov. The study of

combinations of antibiotics efficacy was carried out by determining the minimum inhibitory concentrations using routine in vitro "checkerboard" method. **Results and discussion.** Calculation of the fraction inhibitory index showed that the combination of fosfomycin with cefepime demonstrated synergistic inhibitory activity against 71,43 % of enterobacteria strains tested; combination of fosfomycin with tienam result in summation or indifferent effect against 71,43 % polyantibiotic-resistant strains of enterobacteria. **Conclusion.** Thereby combination of fosfomycin with cefepime may be considered as synergistic and perspective for further experimental in vivo studies and studies of their clinical effectiveness against polyantibiotic-resistant strains of enterobacteria – causative agents of pyoinflammatory diseases.

Key words: combinations of the antibiotics, polyantibiotic-resistant strains, "checkerboard" method.