

УДК 579:845:616-002.3

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДУ  
“ШАХОВОЇ ДОШКИ” ТА МЕТОДУ  
“ЧАС - БАКТЕРИЦИДНИЙ ЕФЕКТ” В  
ОЦІНЦІ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИМІКРОБНОЇ  
ДІЇ КОМБІНАЦІЙ АНТИБІОТИКІВ НА ПОЛІ-  
РЕЗИСТЕНТНІ ШТАМИ СИНЬОГНІЙНОЇ  
ПАЛИЧКИ**

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

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

Одним із шляхів вирішення проблеми боротьби з антибіотикорезистентними штамми-збудниками ГСІ є пошук ефективних синергідних комбінацій антибіотиків [1,2,3,4]. В комбінації антибіотики можуть підсилювати антимікробну дію один одного – створювати синергідний ефект, послаблювати цю дію – антагоністичний ефект, виявляти несуттєве відхилення в бік підвищення або послаблення цієї дії – індиферентний ефект.

Оцінити антимікробну дію комбінації антибіотиків в експерименті можливо різними методами: методом “шахової дошки”, методом Е-тесту, методом кривої “час – бактерицидний ефект” [5,6,7].

Метод “час-бактерицидний ефект” є більш об’єктивним, тому що відображає кількісні показники взаємодії антибіотиків та на відміну від інших методів дозволяє оцінити бактерицидну антимікробну дію комбінації антибіотиків. Оцінка бактерицидної дії є найбільш важливою з точки зору кореляції антимікробного ефекту в експерименті та дієвістю антибіотиків під час лікування. Недоліком цього методу можна вважати його досить складну, об’ємну постановку (метод передбачає підрахунок колоній живих мікробних культур через окремі проміжки часу) [8,9,10].

Враховуючи все вищесказане, ми використовували метод “час-бактерицидний ефект” для оцінки синергідного потенціалу комбінацій антибіотиків як допоміжний, вибіркового методу.

В попередніх дослідженнях, проведених за допомогою методу “шахової дошки”, нами було встановлено, що серед 10 двокомпонентних комбінацій антибіотиків (цефепім, амікацин, ципрофлоксацин, доксіциклін, тіенам) виявляли синергідну взаємодію на полірезистентні штами синьогнійної палички цефепім – амікацин (77,8 % вивчених штамів) та цефепім – ципрофлоксацин (66,7 % вивчених штамів).

З метою уточнення отриманих результатів ці комбінації були перевірені методом “час-бактерицидний ефект”.

### Матеріали і методи

Всього було випробувано 9 полірезистентних штамів синьогнійної палички, виділених в клініках м. Харкова в 2008-2010 роках. Досліджена комбінована дія цефепіму з амікацином та цефепіму з ципрофлоксацином.

Антибіотики вносили в поживне середовище в кількості 0,5 МІК. Мікробну суміш додавали до кінцевої концентрації  $10^6$  КУО/мл. Для підрахунку живих мікробних клітин з вихідної суміші робили ряд послідовних десятикратних розведень з наступним висівом на тверде поживне середовище та підрахунок вирослих колоній. Повторний підрахунок колоній проводили через 24 години взаємодії мікробної суміші з антибіотиками.

Вираховували зменшення або збільшення  $\log_{10}$  КУО / мл відносно кожного антибіотика окремо.

Бактеріостатичний та бактерицидний ефект визначали таким чином:

- при зменшенні кількості вирослих колоній по відношенню до вихідної культури  $< 3 \log_{10}$  КУО/мл – бактериостатичний ефект;

- при зменшенні кількості вирослих колоній по відношенню до вихідної культури  $> 3 \log_{10}$  КУО / мл – бактерицидний ефект.

Ефективність комбінації антибіотиків, її синергідний потенціал оцінювали як зменшення або збільшення кількості живих мікробних культур під впливом комбінації антибіотиків порівняно з впливом кожного антибіотика окремо. Результати оцінювали за формулою:

$$\frac{\log_{10}\text{КУО/мл (антибіотик в комбінації)}}{\log_{10}\text{КУО/мл (антибіотик окремо)}} \quad (1.1)$$

Якщо зменшення кількості живих мікробних культур складало  $\geq 2 \log_{10}$  КУО / мл – синергія. Якщо збільшення кількості живих мікробних клітин складало  $\geq 2 \log_{10}$  КУО – антагонізм. Якщо зміна кількості живих мікробних клітин була від зменшення живих клітин  $\leq 2 \log_{10}$  КУО / мл до збільшення живих клітин  $\geq 2 \log_{10}$  КУО/ мл – індиферентність.

### Результати та обговорення

При дослідженні ефективності протимікробної дії комбінації цефепіму та амікацину на полірезистентні штами синьогнійної палички методом “шахової дошки” було встановлено, що зазначені антибіотики створювали синергідну комбіновану дію ( $\text{Fix} \leq 0,5$ ) щодо семи штамів *Pseudomonas aeruginosa* з дев’яти досліджених (табл. 1.1).

При використанні методу “час-бактерицидний ефект” синергідний ефект дослідженої комбінації у порівнянні з дією цефепіму зафіксовано також по відношенню до семи штамів синьогнійної палички. У той же час при перерахунку ефекту комбінації відносно амікацину встановлено си-

нергідний потенціал по відношенню до шести досліджених штамів синьогнійної палички.

**Таблиця 1. Порівняння методу “шахової дошки” та методу “час бактерицидний ефект” в оцінці ефективності протимікробної дії комбінації цефепіму та амікацину на полірезистентні штами *P. aeruginosa***

Штам №	Метод “шахової дошки”		Метод “час-бактерицидний ефект”			
	Fix	Ефект	log <sub>10</sub> КУО/мл відносно цефепіму	Ефект	log <sub>10</sub> КУО/мл відносно амікацину	Ефект
418	0,375	S	- 3,56	S	- 4,12	S
419	0,5	S	- 2,32	S	- 3,65	S
425	0,375	S	- 3,58	S	- 3,74	S
435	0,75	I	+ 1,18	I	+ 0,12	I
437	0,5	S	- 2,78	S	- 1,89	I
448	0,375	S	- 4,21	S	- 3,86	S
457	0,75	I	+ 0,79	I	+ 1,64	I
480	0,5	S	- 2,89	S	- 2,86	S
492	0,288	S	- 4,02	S	- 3,24	S

**Примітки :** Fix – фракційний індекс інгібіції, S – синергія, I – індіферентність, “ - “ – зменшення КУО/мл, “ + “ – збільшення КУО/мл.

За результатами досліджень комбінованого впливу цефепіму та ципрофлоксацину на полірезистентні штами синьогнійної палички ( табл. 1.2) встановлено синергідний ефект комбінації антибіо-

тиків, який підтверджувався методом “шахової дошки” на шести штаммах *Pseudomonas aeruginosa* та методом “час-бактерицидний ефект” на п’яти штаммах синьогнійної палички.

**Таблиця 2. Порівняння методу “шахової дошки” та методу “час бактерицидний ефект” в оцінці ефективності протимікробної дії комбінації цефепіму та ципрофлоксацину на полірезистентні штами *P. aeruginosa***

Штам №	Метод “шахової дошки”		Метод “час-бактерицидний ефект”			
	Fix	Ефект	log <sub>10</sub> КУО/мл відносно цефепіму	Ефект	log <sub>10</sub> КУО/мл відносно ципрофлоксацину	Ефект
418	0,75	I	- 1,82	I	+ 0,98	I
419	0,5	S	- 2,24	S	- 2,74	S
425	0,375	S	- 2,26	S	- 3,68	S
435	0,75	I	+ 1,24	I	+ 1,86	I
437	0,313	S	- 2,65	S	- 2,24	S
448	0,625	I	- 1,89	I	- 1,78	I
457	0,5	S	+ 1,64	I	+ 1,86	I
480	0,375	S	- 2,86	S	- 3,26	S
492	0,375	S	- 2,64	S	- 2,86	S

**Примітки :** Fix – фракційний індекс інгібіції, S – синергія, I – індіферентність, “ - “ – зменшення КУО/мл, “ + “ – збільшення КУО/мл.

Таким чином, за методом “ шахової дошки “ штам № 457 виявляв синергідний ефект, а за методом “час-бактерицидний ефект” –індіферентний. А на восьми штаммах, що складають 88,8 % від досліджених штамів *P. aeruginosa*, результати, отримані різними методами, повністю співпадали. Узагальнюючи отримані дані, можна констатувати, що потенціал синергідного ефекту співпадає при дослідженні різними методами ( “час-бактерицидний ефект” та метод “шахової дошки”).

### Висновки

1. При використанні різних методів дослідження комбінованої дії антибіотиків на полірезистентні штами синьогнійної палички ( методу “ шахової дошки “ та методу “час-бактерицидний ефект “) отримані співставимі результати.
2. Метод “шахової дошки” є більш простим у виконанні та обчислюванні і може бути використаний у скринінгових дослідженнях. Метод “час-бактерицидний ефект”, незважаючи на складність виконання та проведення обчислення отриманих результатів, може бути використаний для підтвер-

дження синергидної дії комбінації антибіотиків, встановленої іншими методами.

#### References

1. Gorbunov, V. A. Multicenter study of antibiotic-resistant nosocomial strains of *Pseudomonas aeruginosa* in the Republic of Belarus / V. A. Gorbunov, L. P. Titov, T. S. Ermakova // Health. – 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. Chernukha / Clin. Microbiology and antimicrobial. chemotherapy. – 2005. – V.7, № 3. – P. 271 – 285.
4. Mostovoy, Yu. M. Pharmaco-epidemiology analiz of antibiotics to treat community-acquired pneumonia [Text] / Yu. M. Mostovoy, A. V. Demchuk // Ukrainian pulmonary journal. – 2008. – № 3. – P. 63–66.
5. Rudnov, V. A. Combination therapy of severe infections: changing views [Text] / V. A. Rudnov // Surgery. – 2006. – Т.6. – № 2.
6. Betalactam and fluoroquinolone combination antibiotic therapy for bacteremia caused by gram-negative bacilli [Text] / M. N. Al-Hasan, J. W. Wilson, B. D. Lahr, et al. // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2009. – Vol. 53, (4), P. 1386–1394.
7. Eliopoulos G. M., Moellering R. C. Antimicrobial combinations. In Antibiotics in Laboratory Medicine, 1996, 4th edn (Lorian, V., Ed.), Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD, USA. P. 365–412.
8. Studying the specific activity of antimicrobial drugs [Text]: guidelines / Institute of Epidemiology and Infectious Diseases named L. V. Gromashevsky of AMS of Ukraine. – Kiev. – 2004. – P. 32.
9. Antibiotogram: disco-diffusion method. Interpretation of the results [Text] / Edited by Sidorenko S. V., Kolupava V. E. – M. – 1999. – P. 34.
10. Evaluation of the synergistic potential of vancomycin combined with other antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus spp* strains [Text] / Livia Viganor da Silva, Manuela Tedesco Araujo, Katia Regina Netto dos Santos et al. // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. – Rio de Janeiro – 2011. – Vol.106, (1), P. 534–556.

УДК 579:845:616-002.3

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА “ШАХМАТНОЙ ДОСКИ” И МЕТОДА “ВРЕМЯ - БАКТЕРИЦИДНЫЙ ЭФФЕКТ” В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИЙ АНТИБИОТИКОВ НА ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ**

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

По результатам экспериментального исследования с использованием разных методов установлена высокая эффективность комбинации цефепима и ципрофлоксацина, а также цефепима и амикацина в отношении 9 полирезистентных штаммов синегнойной палочки, выделенных в хирургических стационарах г. Харькова в 2008-2010 гг.

**Ключевые слова:** комбинации антибиотиков, полиантибиотико-резистентные штаммы, метод “время - бактерицидный эффект”.

УДК 579:845:616-002.3

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДУ “ШАХОВОЇ ДОШКИ” ТА МЕТОДУ “ЧАС - БАКТЕРИЦИДНИЙ ЕФЕКТ” В ОЦІНЦІ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИМІКРОБНОЇ ДІЇ КОМБІНАЦІЙ АНТИБІОТИКІВ НА ПОЛІРЕЗИСТЕНТНІ ШТАМИ СИНЬОГНІЙНОЇ ПАЛИЧКИ**

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

За результатами експериментального дослідження з використанням методу «шахової дошки» та методу «час-бактерицидний ефект» встановлена висока ефективність комбінації цефепіму та ципрофлоксацину, а також цефепіму та амикацину по відношенню до 9 полірезистентних штамів синьогнійної палички, виділених у хірургічних стационарах м. Харкова у 2008-2010 р.р.

**Ключові слова:** комбінації антибіотиків, поліантибіотикорезистентні штами, метод “час-бактерицидний ефект”.

UDC 579:845:616-002.3

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF CHECKERBOARD METHOD AND METHOD “TIME-BACTERICIDAL EFFECT” IN THE EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTION OF A COMBINATION OF ANTIBIOTICS AGAINST POLYANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF *P. AERUGINOSA***

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

Bacumenko A.V.

The result of experimental study by of method “time-bactericidal effect” was shown the high effectiveness of the combinations of cefepime and ciprofloxacin, as well as cefepime and amikacin against 9 polyantibiotic-resistant strains of the *Pseudomonas aeruginosa*, wich was obtained in surgery hospitals in Kharkiv in 2008-2010 years.

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