

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD**

Antimikrobní účinek jako vedlejší efekt antidepresiv II

(diplomová práce)

Hradec Králové, 2007

Petr Jánošík

Děkuji svému školiteli PharmDr. Petru Jílkovi, CSc. za odborné vedení, pomoc a cenné poznatky, které jsem získal během diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat Doc. RNDr. Petru Klemmerovi, CSc. z katedry biofyziky a fyzikální chemie FaF UK za vytvoření makra pro výpočty CRIC koeficientu. Nakonec bych chtěl poděkovat paní Idě Dufkové za ochotu a pomoc při práci v laboratoři.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| OBSAH | 3 |
| 1 SOUHRN | 5 |
| 2 ABSTRACT..... | 6 |
| 3 ZKRATKY | 7 |
| 4 ÚVOD..... | 8 |
| 5 TEORETICKÁ ČÁST..... | 9 |
| 5.1 SSRI..... | 9 |
| 5.1.1 <i>Obecná charakteristika SSRI.....</i> | <i>9</i> |
| 5.1.2 <i>Mechanismus účinku SSRI.....</i> | <i>9</i> |
| 5.1.3 <i>Farmakokinetika SSRI</i> | <i>10</i> |
| 5.1.4 <i>Antimikrobní účinek psychotropních látek</i> | <i>11</i> |
| 5.1.5 <i>Mechanismus antimikrobních účinků SSRI.....</i> | <i>12</i> |
| 5.1.6 <i>Kombinované antimikrobní účinky SSRI a ATB</i> | <i>12</i> |
| 5.2 ANTIBAKTERIÁLNÍ LÁTKY | 14 |
| 5.2.1 <i>Chinolony.....</i> | <i>14</i> |
| 5.2.2 <i>Tetracykliny</i> | <i>15</i> |
| 5.3 TESTOVÁNÍ KOMBINOVANÉHO ÚČINKU ANTIBIOTICKÝCH LÁTEK..... | 16 |
| 5.3.1 <i>Metoda checkerboard</i> | <i>16</i> |
| 5.3.2 <i>Hodnocení výsledků kombinovaného účinku dvou látek.....</i> | <i>20</i> |
| 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST..... | 22 |
| 6.1 MATERIÁL | 22 |
| 6.1.1 <i>Bakteriální kmeny</i> | <i>22</i> |
| 6.1.2 <i>Roztoky, činidla, média.....</i> | <i>22</i> |
| 6.1.3 <i>Pomůcky a přístroje.....</i> | <i>23</i> |
| 6.2 PRACOVNÍ POSTUP | 23 |
| 6.2.1 <i>Příprava živného média</i> | <i>23</i> |
| 6.2.2 <i>Příprava živného média s antimikrobní látkou.....</i> | <i>24</i> |
| 6.2.3 <i>Postup při průkazu kombinovaného antimikrobního účinku</i> | <i>24</i> |
| 6.3 VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ | 28 |
| 7 VÝSLEDKY | 33 |
| 7.1 KMENY CCM..... | 33 |
| 7.1.1 <i>Escherichia coli CCM.....</i> | <i>33</i> |
| 7.1.2 <i>Staphylococcus aureus CCM.....</i> | <i>34</i> |
| 7.1.3 <i>Bacillus subtilis CCM.....</i> | <i>34</i> |
| 7.1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa CCM.....</i> | <i>34</i> |
| 7.2 KMENY IZOLOVANÉ OD PACIENTŮ | 35 |
| 7.2.1 <i>Escherichia coli</i> | <i>35</i> |
| 7.2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>37</i> |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 8 | DISKUSE | 38 |
| 8.1 | KMENY CCM..... | 38 |
| 8.1.1 | <i>Escherichia coli</i> CCM..... | 38 |
| 8.1.2 | <i>Staphylococcus aureus</i> CCM..... | 38 |
| 8.1.3 | <i>Bacillus subtilis</i> CCM..... | 39 |
| 8.1.4 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM..... | 39 |
| 8.2 | KMENY IZOLOVANÉ OD PACIENTŮ | 40 |
| 8.2.1 | <i>Escherichia coli</i> | 40 |
| 8.2.2 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 41 |
| 9 | ZÁVĚR | 43 |
| 10 | POUŽITÁ LITERATURA | 44 |
| 11 | PŘÍLOHY | 46 |

1 SOUHRN

Zabývali jsme se vzájemným ovlivněním antibakteriálního účinku antibiotik a SSRI antidepresiv in vitro. Rozhodli jsme se zjistit typ jejich interakce a případné ovlivnění rezistence vůči antibiotiku.

Ze skupiny SSRI jsme zvolili paroxetin a fluoxetin, z antibiotik tetracyklin a nalidixin (chinolon). Používali jsme čtyři „standardní“ kmeny CCM (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*) a osm kmenů rezistentních na tetracyklin, které byly izolovány od pacientů (kmeny *Pseudomonas aeruginosa* a *E. coli*).

Pro testování kombinovaného účinku SSRI a ATB jsme používali metodu checker-board na mikrotitračních destičkách 8x12 jamek. V každé jamce jsme zaznamenali nárůst nebo inhibici růstu mikroorganismů, určili jsme body ohraničující plochu nárůstu a převedli je na grafické zobrazení. Podle obsahu plochy pod křivkou jsme určili koeficient CRIC, který udával typ interakce.

U bakteriálních kmenů CCM i u kmenů izolovaných od pacientů jsme ve většině případů pozorovali adici antimikrobních účinků ATB a SSRI, v malém počtu měření také indiferenci. U kmenu *E. coli* 2468 (tetracyklin-paroxetin a tetracyklin-fluoxetin), *S. aureus* CCM (nalidixin-fluoxetin) a *Pseudomonas aeruginosa* 421 (tetracyklin-fluoxetin) jsme pozorovali synergismus antimikrobních účinků.

Snížení rezistence na ATB díky kombinaci s SSRI se nám podařilo prokázat pouze u kmene *E. coli* 2468 (tetracyklin-paroxetin), jednalo se o výrazné zvýšení citlivosti na tetracyklin v přítomnosti SSRI, ovšem potřebná koncentrace SSRI přesahovala hodnoty dosažitelné in vivo.

Minimální inhibiční koncentrace SSRI u kmenů CCM odpovídaly hodnotám MIC u kmenů rezistentních na testovaná ATB, citlivost vůči SSRI tedy nebyla ovlivněna citlivostí na námi testovaná antibiotika.

2 ABSTRACT

We've investigated the in vitro synergistic antibacterial potential of selective serotonin reuptake inhibitors (paroxetine and fluoxetine) and antibiotics (represented by tetracycline and nalidixine).

Activity has been measured against four bacterial CCM strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) and eight tetracycline-resistant strains (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*).

Synergy tests were performed using checkerboard method. We've observed growth or growth inhibition of bacteria, marked the "border" points area out and converted these points to values of relative concentrations in a graph. According to the under-graph area we've counted the CRIC. This coefficient has shown us the type of antibacterial interaction of the SSRI and antibiotics.

In most cases we have observed addition of antimicrobial activity of the SSRI and antibiotics (either CCM strains or tetracycline-resistant strains), sometimes indifference and in rare cases also synergism (tetracycline-paroxetine and tetracycline-fluoxetine against *E. coli* 2468, nalidixine-fluoxetine against *S. aureus* CCM, tetracycline-fluoxetine against *Pseudomonas aeruginosa* 421).

We have observed a decrease of resistance to tetracycline only in one case (tetracycline-paroxetine against *E. coli* 2468). There has been a significant increase of sensitivity to the tetracycline, but needed concentration of the SSRI has exceeded in vivo values.

Minimal inhibitory concentration of the SSRI in CCM strains have corresponded with values of MIC of the resistant strains (the sensitivity to the SSRI hasn't been influenced by the sensitivity to tested antibiotics).

3 ZKRATKY

- ATB – léčiva s antibiotickými účinky
- CCM – Česká sbírka mikroorganismů
- CRIC – koeficient relativních inhibičních koncentrací
- DMSO – dimethylsulfoxid
- FIC – inhibiční koncentrační index (fractional inhibitory concentration)
- MHB – Mueller-Hintonův bujón
- MIC – minimální inhibiční koncentrace
- RNA – ribonukleová kyselina
- SSRI – selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

4 ÚVOD

Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu jsou relativně novou skupinou antidepresiv, která má široké uplatnění díky nízkým nežádoucím účinkům na CNS, širokému terapeutickému indexu a účinnosti srovnatelné s předchozí generací antidepresiv.

Bylo zjištěno, že SSRI mají kromě antidepresivních účinků také účinky antimikrobní. Tyto vlastnosti nebyly důležité jen z hlediska nežádoucích účinků, ale především z hlediska možného uplatnění v oblasti antimikrobních terapie.

Na stále větší počet běžných antibiotik vzniká u mikroorganismů rezistence. Proto je důležitý vývoj nových léčiv, dále také využití „vedlejších“ antibiotických účinků již známých léčiv a v neposlední řadě možnost potenciace klasických ATB jinými látkami.

Náš výzkum se zaměřil na poslední (výše uvedenou) možnost. SSRI mají vlastní antimikrobní aktivitu a potenciál k možným interakcím s antimikrobními látkami.

Cílem naší práce bylo testováním kombinovaného účinku SSRI a ATB zjistit typ interakce antimikrobních účinků mezi SSRI a vybranými ATB. Z klinického hlediska by byly významné především interakce antagonistické nebo synergistické u pacientů užívajících látky SSRI dlouhodobě, zatímco potvrzení synergistických účinků by bylo významné z hlediska dalšího výzkumu v oblasti potenciace účinků ATB pomocí SSRI.

Dále bylo naším cílem zjistit, zda bude kombinací SSRI a ATB ovlivněna rezistence mikroorganismů vůči ATB, tedy zda-li by se mohly bakteriální kmeny, které jsou již na dané ATB rezistentní, léčit kombinací tohoto ATB a příslušného SSRI.

5 TEORETICKÁ ČÁST

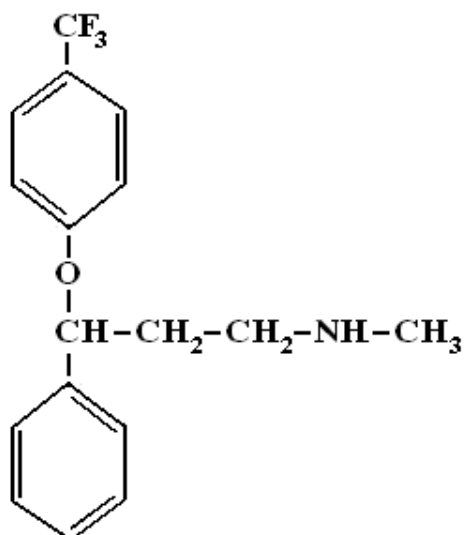
5.1 SSRI

5.1.1 Obecná charakteristika SSRI

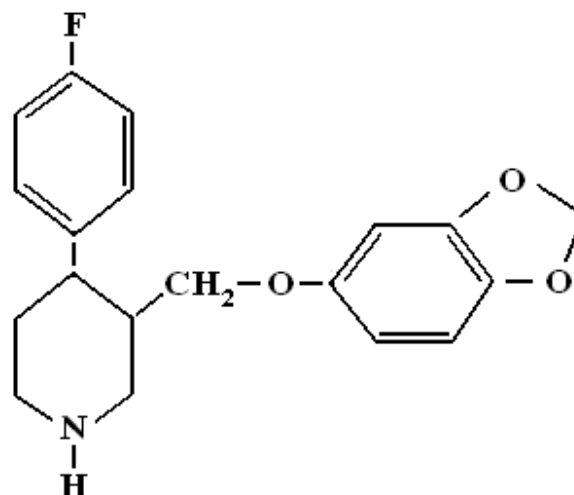
SSRI neboli selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu patří do třetí generace antidepresiv. Používají se nejen při léčbě různých typů depresí, ale s úspěchem jsou podávány také při bulímii, anxietě, sociální fobii, posttraumatických poruchách, premenstruální dysforii aj. (Lincová a kol., 2005).

Mezi nejběžnější zástupce patří paroxetin, fluoxetin, sertralin, fluvoxamin a citalopram.

Fluoxetin



Paroxetin



5.1.2 Mechanismus účinku SSRI

Jak již napovídá jejich název, SSRI působí pomocí selektivní inhibice zpětného vychytávání serotoninu v synaptické štěrbině neuronu. Selektivnost inhibice je zprostředkována tím, že se specificky váží na proteinový transportér (spojený se sodíko-chloridovou pumpou), který je přítomný jen v serotoninergních nervových buňkách (Lincová a kol., 2005).

Jejich účinnost z hlediska antidepresivního působení je srovnatelná s tricyklickými antidepresivy. Nemají však afinitu k adrenergním α -receptorům ani k cholinergním muskarinovým receptorům, díky tomu se minimalizují

nežádoucí účinky typické pro tricyklická antidepresiva (poruchy funkce vegetativního systému) (Lüllman a kol., 2002). Jsou navíc méně toxické než antidepresiva první a druhé generace a předávkování nemá letální následky (Lincová a kol., 2005).

SSRI tedy můžeme řadit mezi látky relativně bezpečné, které mají široký terapeutický index. Nebyla totiž pozorována významná závislost mezi dávkou podávaného SSRI, jeho dosaženou plazmatickou koncentrací, terapeutickým účinkem a nežádoucími účinky (De Vane, 1999).

5.1.3 Farmakokinetika SSRI

Jedná se o látky lipofilní povahy, po perorálním podání jsou velmi dobře vstřebávány, v přítomnosti potravy je vstřebávání zpomaleno. Fluoxetin má nízkou biodostupnost díky presystémové eliminaci, maximální plazmatické koncentrace dosahuje za šest až osm hodin po perorálním podání. Vstřebávání sertralinu je pomalé, maxima v plazmě dosahuje za čtyři až osm hodin. Paroxetin dosahuje maxima asi za pět hodin po perorálním podání (De Vane, 1999).

Vazba na krevní bílkoviny je u SSRI velmi výrazná, zatímco u fluvoxaminu a citalopramu se pohybuje kolem 80%, u fluoxetinu dosahuje 93%, u paroxetinu 95% a u sertralinu může být dokonce vyšší než 98% (De Vane, 1999).

SSRI jsou v organismu hojně metabolizovány a některé jejich metabolity mají farmakologickou aktivitu (inhibují vychytávání serotoninu a/nebo ovlivňují cytochrom P450). Renální clearance je malá, v nezměněné podobě se ledvinami vyloučí méně než 10% podané dávky. (De Vane, 1999)

Paroxetin i fluoxetin jsou látky chirální, zatímco paroxetin má farmakologicky účinný pouze jeden isomer, u fluoxetinu výrazné rozdíly mezi oběma enantiomery R a S nejsou. Zajímavostí je, že norfluoxetin, na který se fluoxetin metabolizuje, má také dva enantiomery, a přestože oba enantiomery ovlivňují cytochrom P450, pouze jeden vykazuje SSRI účinky (Baumann, 1996).

5.1.4 Antimikrobní účinek psychotropních látek

Je to téměř půlstoletí, co byl poprvé popsán antimikrobní účinek u psychotropních látek (1959 u chlorpromazinu). Od té doby byla antimikrobní aktivita popsána u řady neantibiotických látek např. u nesteroidních antiflogistik, cytostatik nebo psychotropních látek. Ve studii (Hendricks a kol., 2003) byla testována vybraná fenothiazinová neuroleptika (thiorodazin) a tricyklická antidepresiva (amitriptylin, imipramin) na *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*. U testovaných kmenů vykazovaly antimikrobní aktivitu.

Další skupinou psychotropních látek, která vykazuje antimikrobní aktivitu je relativně nová skupina antidepresiv SSRI. Jedná se především o sertralin, fluoxetin a paroxetin (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Studie ukázaly, že SSRI mají výraznou antimikrobní aktivitu proti grampozitivním bakteriím. Přesto byla prokázána citlivost také u některých gramnegativních bakterií jako *Haemophilus influenzae*, *Morganella catarrhalis*, *Campylobacter jejuni* a dokonce i u problematicky léčitelných mikroorganismů jako je *Acinetobacter*. Zajímavostí je, že u *Acinetobacter* bylo prokázáno, že jeho citlivost na SSRI nezávisí na tom, zda je kmen rezistentní na jiná antibiotika (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Dobrá citlivost na SSRI je u stafylokoků a enterokoků, ovšem streptokoky (*Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*) se jeví jako odolné. S výjimkou *Pseudomonas aeruginosa* a *Citrobacter* nevykazují SSRI významnou aktivitu proti enterobakteriím. Vysoká antimikrobní aktivita byla popsána i u některých anaerobů jako např. *Bacteroides fragilis* (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Kromě antibakteriálních účinků vykazují SSRI také účinky antifungální. Studie (Lass-Flörl a kol., 2003) zkoumala vliv sertralinu na *Candida spp.* in vitro. Sertralin v nižších dávkách snižoval aktivitu fosfolipáz, bránil elongaci vláken a snížil produkci aspartyl proteináz. Ve vyšších dávkách bránil růstu kandid.

Studie (Zouny a kol., 2003) zkoumala účinky SSRI a analogů na *Candida spp.* a potvrdila antifungální účinky sertralinu, ale také dalších SSRI (paroxetinu a fluoxetinu). Analogy sertralinu (enantiomery a diastereomery), vykazovaly

stejnou aktivitu proti *Candida spp.*, přestože měly oproti setrelinu výrazně snížený antidepresivní účinek.

U SSRI byly zkoumány také antivirotické účinky. Ve studii (Kristiansen a kol., 2000) se zabývali psychoterapeutiky a jejich vlivem na replikaci viru HIV u pacientů trpících demencí (spojenou s onemocněním AIDS). Mezi látky, které inhibovaly replikaci HIV-1, patřil i paroxetin.

5.1.5 Mechanismus antimikrobních účinků SSRI

Mechanismus antimikrobního účinku SSRI není stále dostatečně objasněn. Předpokládá se, že mechanismus účinku na bakteriální buňku je podobný jako na lidskou nervovou buňku, a že se tedy jedná o inhibici efluxních pump. Tím by se dal vysvětlit synergismus jejich účinku s některými antibiotiky. Nevysvětluje to však okolnost, že SSRI mají vlastní antimikrobní účinky. Jiné látky jako reserpin nebo verapamil, které díky inhibici efluxních pump také vykazují v kombinaci ATB synergistické účinky, však vlastní antimikrobní účinky nemají (Munoz-Bellido a kol., 2000).

Studie ukázaly, že SSRI mohou ovlivňovat fyziologické procesy bakterií např. blokují produkci slizu nebo skupinový pohyb bakterií. Dosud však není známo, jakým mechanismem tyto účinky probíhají (Munoz-Bellido a kol., 2000).

5.1.6 Kombinované antimikrobní účinky SSRI a ATB

Použití SSRI samotných jako antimikrobních látek je značně limitováno, kvůli maximálním sérovým koncentracím. Ty se pohybují okolo 1 µg/ml, zatímco MIC citlivých kmenů se pohybují v koncentracích vyšších a to i o několik řádů (Munoz-Bellido a kol., 2000). SSRI však mohou být použity k potenciaci účinku jiných antimikrobních látek. Koncentrace k tomu potřebné jsou obvykle mnohem nižší než příslušné MIC a mohou dosahovat reálných (dosažitelných) hodnot.

Kombinace SSRI s antibiotiky vedla u *Corynebacterium urealyticum* k zesílení antibiotického účinku především u kombinace setralinu s tetracykliny nebo fluorochinolony (ciprofloxacin). U kmenů rezistentních na chinolony klesly MIC antibiotik na polovinu (Munoz-Bellido a kol., 1996).

Synergický účinek u SSRI lze vysvětlit podle studie (Kristiansen a kol., 1997) následujícím způsobem. Látky inhibující bakteriální efluxní pumpy mohou vykazovat synergický antibiotický efekt v kombinaci s antibiotiky, jejichž koncentrace v bakteriální buňce závisí právě na efluxním transportním mechanismu bakterie. Inhibicí bakteriálních efluxních pump se zvýší koncentrace antibiotika uvnitř bakterie. Mezi antibiotika eliminovaná tímto efluxním mechanismem patří např. tetracykliny.

Studie (Kaatz a kol., 2003) popisuje bakteriální efluxní pumpy jako membránové proteiny, jež jsou schopny s různou mírou selektivity přenést léčiva přes membránu do vnějšího prostředí (jedná se léčivo-protonový antiport), čímž se snižuje citlivost bakterie vůči danému léčivu nebo skupině léčiv.

Zatímco efluxní pumpy mohou značně zvýšit rezistenci vůči ATB, zdá se, že citlivost na SSRI neovlivňují. Ve studii (Kaatz a kol., 2003) to potvrdili pro *Staphylococcus aureus* testováním účinků SSRI na kmen s aktivními a kmen s inhibovanými efluxními pumpami. V obou případech byla citlivost na SSRI stejná. SSRI nebyly substrátem pro efluxní pumpy.

Ve stejné studii byla obdobně testována samotná ATB (tetracykliny, fluorchinolony aj.) a ATB kombinovaná s nízkými dávkami SSRI. U kmenů s inaktivními efluxními pumpami nebyly patrné rozdíly v citlivosti vůči ATB, u kmenů s aktivními efluxními pumpami došlo u kombinace ATB-SSRI ke zvýšení citlivosti vůči ATB (Kaatz a kol., 2003).

Vlivem antidepresiv na rezistenci na chlorochin u *Plasmodium falciparum* se zabývala studie (Taylor a kol., 2000). Citalopram nevykazoval antimikrobní účinnost na plasmodia, v kombinaci s chlorochinem však vedl u plasmodií ke zvýšení citlivosti na chlorochin. Měřením koncentrací chlorochinu uvnitř plasmodií se ukázalo, že v kombinaci s citalopramem se několikanásobně zvýšila koncentrace chlorochinu uvnitř plasmodií.

Pro testování kombinovaných antimikrobních účinků jsme ze skupiny SSRI zvolili paroxetin a fluoxetin.

5.2 Antibakteriální látky

Pro kombinaci s paroxetinem a fluoxetinem jsme se rozhodli vybrat dvě různá ATB, každé z jiné skupiny a s jiným mechanismem účinku. ATB skupiny jsme vybrali takové, které již byly spolu s SSRI testovány a vykazovali interakce antimikrobních účinků. Navíc se jednalo o skupiny, jejichž koncentrace v bakteriální buňce souvisí s ovlivněním efluxních pump bakterií a pravděpodobnost výskytu možných interakcí s antidepresivy se tak podle našich předpokladů zvýšila.

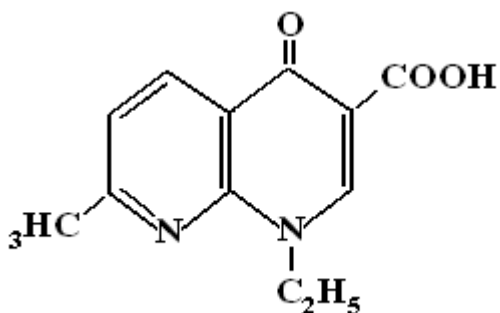
Obě námi vybrané ATB látky (tetracyklin, nalidixin) byly dlouho používány v praxi, takže existuje řada kmenů na tyto látky rezistentní. Naším cílem nebylo jen prokázat interakce mezi SSRI a ATB, ale také zjistit, zda-li se u rezistentních kmenů znatelně nezvyší citlivost bakterií na dané ATB.

5.2.1 Chinolony

Chinolony patří mezi antibakteriální látky, jejichž mechanismem účinku je interference s bakteriální DNA (inhibují gyrázu bakterií). Výchozí látkou této skupiny je kyselina nalidixová (nalidixin). Používá se především k terapii infekcí močových cest gramnegativními bakteriemi. Novější látky, které jsou odvozené od nalidixinu, získávají zavedením atomu fluoru vyšší účinnost (norfloxacin) a po dalších modifikacích i širší spektrum účinku (levofloxacin, sparfloxacin, trovafloxacin). Na chinolony může vzniknout rezistence, ale kmeny odolné vůči nalidixinu mohou být opět citlivé na novější fluoroquinolony (Lüllman a kol., 2002).

Chinolony mají řadu nežádoucích účinků: periferní neuropatie, poruchy funkcí CNS, ledvin, jater či alergické reakce. Mezi velmi závažné nežádoucí účinky patří to, že poškozují buňky chrupavky v epifyzárních štěrbinách a kloubech a vyvolávají tak poruchy růstu (proto jsou kontraindikovány u žen v období těhotenství, laktace a u dětí před ukončením růstu) (Lüllman a kol., 2002).

Nalidixin



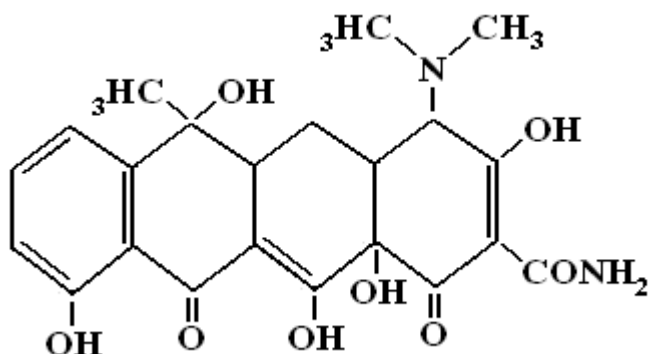
5.2.2 Tetracykliny

Mechanismem účinku tetracyklinů je inhibice bakteriální proteosyntézy (na komplex mediátorové RNA a ribozomu se nemůže navázat transportní RNA). Tetracykliny působí bakteriostaticky, a to na mikroorganismy citlivé na penicilin a na značné množství gramnegativních patogenů. Díky širokému antibakteriálnímu spektru a dobré snášenlivosti jsou v ambulantní praxi hojně využívány (Lüllman a kol., 2002).

Na tetracyklin se u řady bakterií vyvinula rezistence např. u stafylokoků, enterokoků, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*. Rezistence vůči konkrétnímu tetracyklinu znamená rezistenci vůči celé skupině (Lüllman a kol., 2002).

Mezi tetracykliny patří kromě samotného tetracyklinu také doxycyklin, minocyklin či oxytetracyklin.

Tetracyklin



5.3 Testování kombinovaného účinku antibiotických látek

Pokud kombinujeme látky, které mají antibiotický účinek, může dojít k vzájemnému ovlivnění šíře účinku. Většinou se bude jednat o součet účinků obou látek tzv. adici. Pokud však bude výsledný efekt vyšší než jen součet účinků obou látek, mluvíme o synergismu. Může však dojít i k negativnímu ovlivnění, kdy kombinace látek sníží jejich účinek, dojde k tzv. antagonismu.

Podobně jako při testování antibiotického účinku jedné látky můžeme i při testování účinků kombinace dvou látek použít metody difuzní nebo diluční (mezi které patří metoda checkerboard).

5.3.1 Metoda checkerboard

Metoda checkerboard se hojně využívá k testování kombinovaného účinku dvou antibakteriálně působících látek, je poměrně jednoduchá, není náročná na přístrojové vybavení a výsledky se dají dobře interpretovat.

Připravíme si řadu koncentrací obou látek. Při přípravě vycházíme z hodnoty MIC. První (nejvyšší) koncentrace je obvykle o jedno až dvě ředění vyšší než je MIC. Nižších ředění (než MIC) se připravuje 5 a více v závislosti na velikosti mikrotitrační destičky resp. počtu sloupců a řádků. Celá řada koncentrací se navíc musí připravit dvakrát koncentrovanější než je požadovaná hodnota. V mikrotitrační destičce se totiž smísí připravené roztoky obou antimikrobních látek v poměru 1:1, výsledná koncentrace antimikrobních látek tedy bude v dané jamce poloviční.

Nárůst mikrobů (resp. baktericidní či bakteriostatické působení látek na mikroby) v jednotlivých jamkách mikrotitrační destičky převedeme na formu isobologramu. Na osu x a osu y nanese hodnoty nejnižších koncentrací látky, které již působí baktericidně (bakteriostaticky) a to pro jednotlivé sloupce a řádky.

Spojením jednotlivých minimálních inhibičních koncentrací se projeví typ účinku viz tab. 1-3, graf 1-3. Vyklenutí linie směrem od osy x nebo y naznačuje antagonismus, prohnutí linie směrem k ose x nebo y zase adici či synergismus.

Isobologram může být matematicky vyjádřen pomocí jednotlivých inhibičních koncentračních indexů FIC:

$$FIC = A/MIC_A + B/MIC_B$$

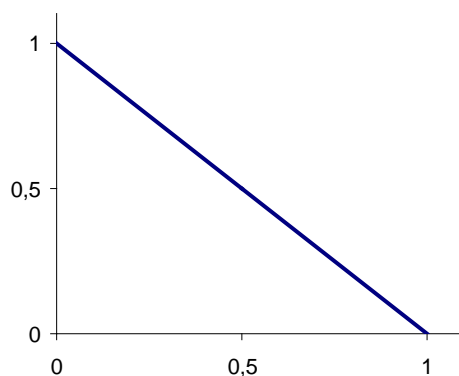
A, B ... nejnižší koncentrace léčiva A či B, které inhibují růst v přítomnosti druhého léčiva
 MIC_A, MIC_B ... minimální inhibiční koncentrace léčiva A či B testované samostatně

Tab. 1 Tabulka znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - adice

- ... inhibiční působení látek (baktericidní či bakteriostatické účinky)
 + ... nárůst mikrobů

| | | látka A | | | | | |
|---------|-----|---------|----|----|---|---|---|
| | | mg/ml | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 |
| látka B | 512 | - | - | - | - | - | + |
| | 256 | - | - | - | - | + | + |
| | 128 | - | - | - | + | + | + |
| | 64 | - | - | + | + | + | + |
| | 32 | - | + | + | + | + | + |
| | 0 | + | + | + | + | + | + |

Graf 1 Isobologram znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - adice



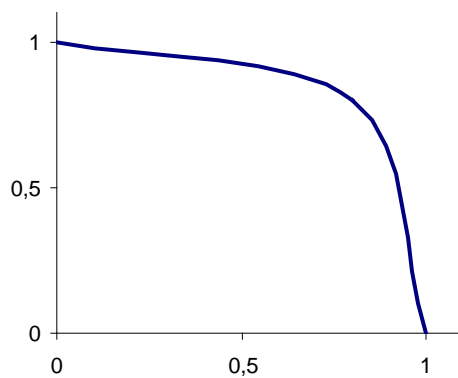
Tab. 2 Tabulka znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - antagonismus

- ... inhibiční působení látek (baktericidní či bakteriostatické účinky)

+ ... nárůst mikrobů

| | | látka A | | | | | |
|---------|-----|---------|----|----|---|---|---|
| | | mg/ml | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 |
| látka B | 512 | - | - | - | - | + | + |
| | 256 | - | - | + | + | + | + |
| | 128 | - | + | + | + | + | + |
| | 64 | - | + | + | + | + | + |
| | 32 | + | + | + | + | + | + |
| | 0 | + | + | + | + | + | + |

Graf 2 Isobologram znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - antagonismus



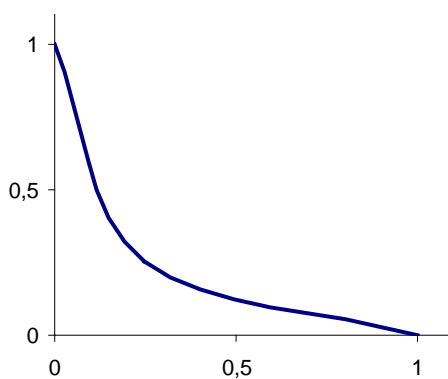
Tab. 3 Tabulka znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - synergismus

- ... inhibiční působení látek (baktericidní či bakteriostatické účinky)

+ ... nárůst mikrobů

| | | látka A | | | | | |
|---------|-----|---------|----|----|---|---|---|
| | | mg/ml | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 |
| látka B | 512 | - | - | - | - | - | + |
| | 256 | - | - | - | - | - | + |
| | 128 | - | - | - | - | + | + |
| | 64 | - | - | - | - | + | + |
| | 32 | - | - | + | + | + | + |
| | 0 | + | + | + | + | + | + |

Graf 3 Isobologram znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek – synergismus



5.3.2 Hodnocení výsledků kombinovaného účinku dvou látek

Standardním hodnocením kombinace antimikrobních účinků dvou látek je stanovení koeficientu FIC. Protože jsme se věnovali skupině SSRI antidepresiv ve dvou souběžných studiích (Antimikrobní účinek jako vedlejší efekt antidepresiv I a II), rozhodli jsme se první vyhodnotit pomocí FIC koeficientu a druhou (tuto práci) vyhodnotit alternativní metodou.

Doc. Klemmerou byl vytvořen v programu MS Excel program pro výpočet koeficientu pracovně nazvaného CRIC (koeficient relativních inhibičních koncentrací), který je od FIC koeficientu odvozen. CRIC koeficient odpovídá dvojnásobku plochy pod křivkou, jejíž body tvoří dvojice hodnot relativních inhibičních koncentrací.

Relativní inhibiční koncentrace je nejmenší koncentrace látky působící inhibičně na růst bakterií v přítomnosti látky druhé a je vztažena na svoji MIC. Křivka je tedy tvořena dvojicemi souřadnic (X, Y) , kde:

| | |
|---------------|--|
| $X = A/MIC_A$ | $A, B \dots$ nejnižší koncentrace léčiva A či B, které inhibují růst v přítomnosti druhého léčiva $MIC_A, MIC_B \dots$ minimální inhibiční koncentrace léčiva A či B testované samostatně |
| $Y = B/MIC_B$ | |

Pro k datových bodů (X, Y) při označení

| | | | | | | |
|-------|---|-------|-------|-----|-------|-------|
| i | 0 | 1 | 2 | ... | k | $k+1$ |
| X_i | 0 | X_1 | X_2 | ... | X_k | 1 |
| Y_i | 1 | Y_1 | Y_2 | ... | Y_k | 0 |

je výpočetní vztah pro plochu S následující:

$$S = \sum_{i=1}^{k+1} \frac{Y_i - Y_{i-1}}{2} \cdot (X_i - X_{i-1})$$

Jde o součet ploch lichoběžníků pod jednotlivými úsečkami spojujícími sousední body, kde pro $X_i > X_{i-1}$ má plocha kladné znaménko, pro $X_i < X_{i-1}$ znaménko záporné.

Pokud známe plochu pod křivkou, je výpočet koeficientu CRIC již velmi snadný. Koeficient CRIC odpovídá dvojnásobku obsahu plochy pod křivkou (viz následující vztah):

$$\text{CRIC} = 2 \times S$$

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Materiál

6.1.1 Bakteriální kmeny

K testování kombinovaného antibakteriálního účinku jsme použili kontrolní kmeny CCM (Česká sbírka mikroorganismů) z Přírodovědecké fakulty Masarykovy Univerzity v Brně a kmeny resistantní na tetracyklin izolované od pacientů v Ústavu klinické mikrobiologie ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové.

Použité kmeny CCM:

Escherichia coli CCM 4517

Pseudomonas aeruginosa CCM 1961

Staphylococcus aureus CCM 4516

Bacillus subtilis CCM 1999

Použité rezistentní kmeny izolované od pacientů:

Escherichia coli č. 4180 (rok 2006)

Escherichia coli č. 4208 (rok 2006)

Escherichia coli č. 4290 (rok 2006)

Escherichia coli č. 2468 (rok 2006)

Pseudomonas aeruginosa č. 400 (rok 2006)

Pseudomonas aeruginosa č. 417 (rok 2006)

Pseudomonas aeruginosa č. 421 (rok 2006)

Pseudomonas aeruginosa č. 448 (rok 2006)

6.1.2 Roztoky, činidla, média

Testované látky

Paroxetin - paroxetin hydrochlorid hemihydrát, 214-140

Fluoxetin – fluoxetin hydrochlorid, Zentiva, 0443H021

Nalixin – sodná sůl kyseliny nalidixové, Sigma Aldrich Chemie, N4382-5G

Tetracyklin – tetracyklin hydrochlorid, Sigma Aldrich Chemie, T7660-56

Živná média

Mueller - Hintonův bujón – HiMedia Laboratoriem limited, Mumbai, India
Fyziologický roztok - Spofa

6.1.3 Pomůcky a přístroje

Laminární box Woerden Clean air DLF 360
Termostat Laboratorní přístroje Praha TCH 100
Horkovzdušný sterilizátor HA 61A
Autokláv AUT 26/II
Lednice Calex 170 R, 220 R
Analytické váhy Owa labor
Pipeta BIOHT Proline (100 – 1000 μ l), m 5000 (500 – 5000 μ l)
Pipeta Eppendorf research 300 (30 – 300 μ l)
Pipeta Socorex Calibra 852 (10 – 100 μ l)
Sterilní mikrotirační desky, Petriho misky, Erlemayerovy kádinky, zkumavky
Program MS Excel

6.2 Pracovní postup

6.2.1 Příprava živného média

Jako živnou půdu pro kultivaci bakteriálních kmenů jsme použili Mueller-Hintonův bujón.

Postup přípravy MHB

Potřebné množství Mueller-Hintonova bujónu jsme navážili na analytických vahách a doplnili destilovanou vodou na potřebný objem, aby vznikl 2,1% roztok. Vzniklý roztok jsme mírně zahřáli do rozpuštění a vysterilizovali v autoklávu při teplotě 121°C po dobu 20 minut.

Složení MHB:

| | |
|-----------------------------|-------------|
| Masový extrakt | 10,0 |
| Kyselý kaseinový hydrolyzát | 14,5 |
| Rozpustný škrob | 1,5 |
| Destilovaná voda | ad 1000,0 g |

6.2.2 Příprava živného média s antimikrobní látkou

Příprava média s fluoxetinem nebo paroxetinem

Na analytických vahách jsme odvážili potřebné množství účinné látky a přidali malé množství DMSO, abychom usnadnili rozpuštění. Poté jsme doplnili potřebným množstvím Mueller-Hintonova bujónu, abychom získali roztok o požadované koncentraci. Vždy jsme připravili roztok o nejvyšší potřebné koncentraci, který jsme následně ředili na požadované nižší koncentrace.

Abychom minimalizovali možný vliv DMSO na výsledky měření, používali jsme při rozpouštění co nejmenší množství DMSO (jeho koncentrace v zásobním roztoku byla vždy menší než 2%, takže v prvním sloupci mikrotitrační destičky pak byla koncentrace DMSO menší než 1%, v druhém sloupci menší než 0,5% a ve třetím, kde obvykle byla hodnota MIC pro SSRI, menší než 0,25%; v dalších sloupcích pochopitelně koncentrace DMSO dále klesala dvojkovým ředěním).

Příprava média s tetracyklinem nebo nalidixinem

Na analytických vahách jsme odvážili potřebné množství účinné látky a doplnili potřebným množstvím Mueller-Hintonova bujónu, abychom získali roztok o nejvyšší požadované koncentraci pro dané měření.

6.2.3 Postup při průkazu kombinovaného antimikrobního účinku

Při přípravě jednotlivých médií s účinnou látkou, při jejich ředění i pipetování jsme používali sterilní laboratorní nádoby a pracovali v laminárním boxu, abychom zamezili možné kontaminaci.

Pro měření kombinovaného antimikrobního účinku jsme používali sterilní mikrotitrační destičky s dvanácti sloupci a osmi řádky. Kombinovali jsme vždy jedno z antibiotik (tetracyklin, nalidixin) s jedním z SSRI antidepresiv (fluoxetin, paroxetin).

Koncentrace antidepresiva klesala v mikrotitrační destičce postupně zleva doprava po sloupcích geometrickou řadou a to tak, že v každém následujícím sloupci byla vždy poloviční koncentrace než v předchozím sloupci

(tzv. dvojkové ředění). Obdobně klesala koncentrace antibiotika ovšem po řádcích shora dolů (také dvojkové ředění). Poslední sloupec (zcela vpravo) neobsahoval antidepresivum, posledním řádek (zcela dole) neobsahoval antibiotikum.

Ředění tetracyklinu

Připravili jsme si 8 sterilních zkumavek. Do první a druhé jsme napipetovali potřebný objem MHB média s tetracyklinem. Do druhé až osmé potom stejný objem MHB média bez účinné látky. V první zkumavce jsme tak měli nejvyšší koncentraci samotného „zásobního“ roztoku tetracyklinu, v druhé zkumavce jsme měli dvojnásobný objem, ale poloviční koncentraci roztoku tetracyklinu. Pomocí pipety jsme odebrali polovinu z druhé zkumavky a přenesli ji do třetí zkumavky. Poté jsme odebrali polovinu z třetí zkumavky a přenesli ji do čtvrté zkumavky atd. Ze sedmé zkumavky jsme sice odebrali polovinu objemu roztoku, ale tu jsme osmé nepipetovali, v osmé zkumavce zůstalo MHB médium bez tetracyklinu.

Pokud jsme připravili zásobní médium s koncentrací tetracyklinu 128 $\mu\text{g/ml}$, měly pak jednotlivé zkumavky koncentrace viz tab. 4.

Obdobně jsme postupovali při ředění média s nalidixinem.

Tab. 4 Ředění MBH média s tetracyklinem

| č. zkumavky | koncentrace $\mu\text{g/ml}$ |
|-------------|------------------------------|
| 1 | 128 |
| 2 | 64 |
| 3 | 32 |
| 4 | 16 |
| 5 | 8 |
| 6 | 4 |
| 7 | 2 |
| 8 | 0 |

Ředění MHB média s paroxetinem

MHB médium s paroxetinem jsme ředili přímo v mikrotitrační destičce. Princip byl podobný jako při ředění tetracyklinu. Do prvního a druhého sloupce jsme napipetovali zásobní roztok paroxetinu (100 µl), do druhého až dvanáctého sloupce stejný objem samotného MHB média (100 µl). Pomocí pipety jsme pak přenášeli polovinu objemu (tedy 100 µl) nejprve z druhého do třetího sloupce, následně z třetího do čtvrtého atd.; s výjimkou posledního sloupce, kam jsme již žádné médium nepřenášeli. Takto jsme získali řadu koncentrací, z nichž vždy v následujícím sloupci byla koncentrace poloviční oproti předchozímu sloupci, jen v posledním sloupci byla koncentrace paroxetinu nulová. V každé jamce mikrotitrační destičky byl konečný objem média MHB s paroxetinem (nebo samotného MHB média) 100 µl.

Pokud jsme připravili zásobní médium s koncentrací paroxetinu 1024 µg/ml, měly pak jednotlivé sloupce mikrotitrační destičky koncentrace viz tab. 5.

Obdobně jsme postupovali při ředění MHB média s fluoxetinem.

Tab. 5 Ředění MHB média s paroxetinem

| č. sloupce | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|-------------------|------|-----|-----|-----|----|----|----|---|---|----|----|----|
| koncentrace µg/ml | 1024 | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 0 |

Kombinace dvou látek

Po naředění antibiotika i antidepresiva jsme přistoupili k samotné kombinaci obou látek. Antidepresivum jsme již měli v mikrotitrační destičce napipetované, pipetovali jsme tedy antibiotikum z připravených zkumavek. Z první zkumavky (nejvyšší koncentrace) jsme odebrali 100 µl a postupně napipetovali do všech jamek prvního řádku mikrotitrační destičky. Následně z druhé zkumavky do druhého řádku atd. V každé jamce nakonec byl objem 200 µl MHB média s různou koncentrací obou látek. Nakonec jsme do každé jamky dané mikrotitrační destičky napipetovali 10 µl fyziologického roztoku, v kterém byl suspendován příslušný bakteriální kmen. Mikrotitrační destičku jsme uzavřeli sterilním krytem a vložili do termostatické boxu na 48 hodinovou kultivaci při 37°C.

Pokud jsme připravili zásobní médium s koncentrací paroxetinu 1024 µg/ml a tetracyklinu 128 µg/ml měly pak jednotlivé sloupce mikrotitrační destičky koncentrace viz tab. 6.

Kombinací stejného objemu obou látek jsme v každé jamce získali poloviční koncentraci (ale dvojnásobný objem), než jakou jsme do jamky pipetovali. Proto je v tab. 6 nejvyšší koncentrace paroxetinu 512 µg/ml (namísto připravené 1024 µg/ml) a nejvyšší koncentrace tetracyklinu 64 µg/ml (namísto připravované 128 µg/ml).

Tab. 6 Koncentrace paroxetinu a tetracyklinu v mikrotitrační destičce

| | Tetracyklin (mg/ml) | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|
| | paroxetin (mg/ml) | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| A | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| B | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| C | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| D | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| E | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| F | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| G | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| H | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |

6.3 Vyjádření výsledků

Z mikrotitrační destičky jsme odečítali výsledky oproti černému pozadí. Zákal v jamce znamenal nárůst mikroorganismů. Pokud byla jamka čirá, došlo zde k inhibici růstu nebo usmrcení mikroorganismů. Nárůst nebo inhibice každé jamky jsme zaznamenali po dvoudenní kultivaci (v termostatickém boxu při teplotě 37°C) do tabulky viz tab. 7.

Tab. 7 Nárůst mikroorganismů v mikrotitrační destičce (paroxetin a tetracyklin na *Pseudomonas aeruginosa* CCM)

- ... inhibiční působení látek (baktericidní či bakteriostatické účinky)

+ ... nárůst mikrobů

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| B | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| C | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| D | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| E | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| F | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| G | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| H | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

V tabulce jsme označili body, které zevně ohraničovaly plochu nárůstu mikroorganismů. Jednalo se o jamky, kde byla vždy nejmenší inhibiční koncentrace v přítomnosti druhého léčiva. Ve dvanáctém sloupci jsme odečetli MIC pro antibiotikum a v osmém řádku (označen „H“) MIC pro antidepresivum. V tabulce 8 jsou uvedeny koncentrace obou látek a zvýrazněny jsou jamky, ohraničující plochu nárůstu mikroorganismů.

Tab. 8 Koncentrace paroxetinu a tetracyklinu v mikrotitační destičce (*Pseudomonas aeruginosa* CCM).

| | Tetracyklin (mg/ml) | | | | | | | | | | | |
|----------|---------------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|
| | paroxetin (mg/ml) | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| A | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 | 64 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| B | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| C | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 | 16 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| D | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| E | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| F | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| G | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |
| H | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 1/2 | 0 |

Pro grafické vyhodnocení jsme nepoužívali absolutní hodnoty koncentrací. Všechny hodnoty koncentrací jsme vydělili hodnotou MIC dané látky, tím jsme získali hodnoty relativních koncentrací. Tento poměr pak udával kolikanásobně je daná koncentrace vyšší (resp. nižší) než byla hodnota MIC viz tab. 9.

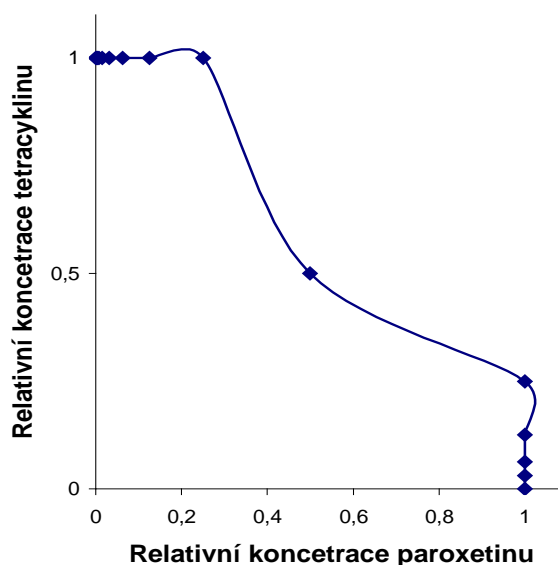
Tab. 9 Body grafu vyjádřené v násobcích MIC (paroxetin a tetracyklin na *Pseudomonas aeruginosa* CCM)

| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin |
|--|-----------|-----------|-------------|
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 64 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 32 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 |

Hodnoty relativních inhibičních koncentrací SSRI antidepresiv jsme vložili na osu x, hodnoty relativních koncentrací antibiotik na osu y grafu v aplikaci MS Excel, a tak jsme získali grafické znázornění kombinovaného účinku obou látek viz graf 4.

Oba krajní body křivky odpovídají jamkám mikrotitrační destičky, které obsahovaly pouze jednu látku. Koncentrace látky v této jamce je rovna hodnotě MIC, relativní koncentrace je tedy rovna jedné ($MIC/MIC=1$). Protože koncentrace druhé látky je nulová, mají tyto krajní body souřadnice x,y (0;1) a (1;0). V krajních bodech se tedy křivka dotýká osy x v bodu 1 a osy y v bodu 1.

Graf 4 Kombinovaný účinek paroxetinu a tetracyklinu (u *Pseudomonas aeruginosa* CCM)



Pro výpočet koeficientu CRIC byl Doc. Klemrou vytvořen program v MS Excelu, který používal relativní hodnoty koncentrací „hraničních“ bodů (hodnoty koncentrace vztažené k MIC dané látky viz tab. 9). Program vypočítal plochu pod křivkou grafu a z ní pak odvodil koeficient. Koeficient CRIC odpovídá dvojnásobku hodnoty plochy pod křivkou.

CRIC ~ 2x plocha pod křivkou

Interakci antibiotika a antidepresiva jsme na základě zjištěných hodnot CRIC koeficientu rozdělili na synergismus, adici, indiferenci a antagonismus viz tab. 10. Meze těchto kategorií jsme určili empiricky tak, aby se pokud možno co nejvíce blížili skutečnosti. Pro lepší přehlednost jsme synergismus rozdělili na slabý a silný. Oblast hodnot CRIC nazvaná jako indiference odpovídá oblasti, kde je vzájemné ovlivnění obou látek relativně slabé.

Tab. 10 Rozmezí hodnot koeficientu CRIC pro jednotlivé typy interakcí

| typ interakce | rozmezí hodnot koeficientu CRIC |
|-------------------|---------------------------------|
| silný synergismus | $CRIC < 0,5$ |
| slabý synergismus | $0,5 \leq CRIC < 0,7$ |
| adice | $0,7 \leq CRIC < 1,33$ |
| indiference | $1,33 \leq CRIC < 2$ |
| antagonismus | $CRIC \geq 2$ |

7 VÝSLEDKY

7.1 Kmeny CCM

Kontrolní kmeny CCM sloužili při testování kombinovaného ATB účinku jako modelové mikroorganismy. Testovali jsme na nich čtyři kombinace látek (tetracyklin s paroxetinem nebo fluoxetinem; nalidixinem s paroxetinem nebo fluoxetinem).

Hodnoty CRIC koeficientů včetně jednotlivých bodů křivky, z kterých byly počítány, jsou pro kmeny CCM uvedeny v kapitole 11 (Přílohy) v tabulkách č. 13 až 28.

V tabulce č. 11 je uveden přehled hodnot MIC antibiotik i SSRI pro kmeny CCM.

Tab. 11 Hodnoty MIC antimikrobně působících látek pro jednotlivé bakteriální kmeny CCM

| bakteriální kmen | hodnoty MIC (µg/ml) | | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------|-----------|-------------|
| | paroxetin | fluoxetin | nalidixin | tetracyklin |
| <i>Escherichia coli</i> CCM | 64 | 64 | 4 | 1 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM | 256 | 256-512 | 512-1024 | 32 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> CCM | 64 | 64 | 64-128 | 0,5 |
| <i>Bacillus subtilis</i> CCM | 64 | 64 | 8-16 | 0,25 |

7.1.1 *Escherichia coli* CCM

Kmen *E. coli* vykazoval u kombinace nalidixinu s SSRI antidepresivy adici antimikrobních účinků, při jednom testování nalidixinu s fluoxetinem také silný synergismus.

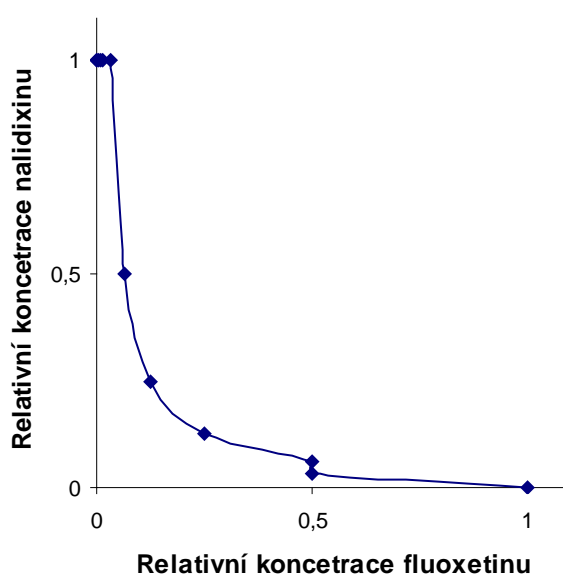
Při kombinaci tetracyklinu s antidepresivy se jednalo hlavně o indifferenci, přestože jedno měření (tetracyklinu s fluoxetinem) vykazovalo adici účinků obou látek.

7.1.2 *Staphylococcus aureus* CCM

Kombinovaný antibakteriální účinek tetracyklinu s SSRI antidepresivy měl u kmenu *S. aureus* především adiční charakter. A to u obou antidepresiv paroxetinu i fluoxetinu.

Zatímco kombinace nalidixinu a paroxetinu vedla také k adici antimikrobních účinků, u kombinace nalidixinu s fluoxetinem se jednalo o silný synergismus viz graf 5.

Graf 5 Kombinované účinky nalidixinu a fluoxetinu na kmen *S. aureus* CCM



7.1.3 *Bacillus subtilis* CCM

Kombinace tetracyklinu a SSRI antidepresiv u kmenu *Bacillus subtilis* vykazovala adici antibakteriálních účinků ve všech našich měřeních.

Na rozdíl od tetracyklinu, u kombinace nalidixinu s antidepresivy se objevily v různých měřeních odlišné typy interakcí. U paroxetinu to byla adice a antagonismus, u fluoxetinu slabý synergismus a indiference.

7.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* CCM

U kmenu *Pseudomonas aeruginosa* vedla kombinace tetracyklinu s paroxetinem či fluoxetinem k adici antibakteriálních účinků.

Kombinace nalidixinu s SSRI antidepresivy vykazovala v některých případech slabý synergismus, v jiných adici antibakteriálních účinků.

7.2 Kmeny izolované od pacientů

Měli jsme k dispozici kmeny izolované od pacientů, které byly rezistentní na tetracyklin. Jednalo se o 4 kmeny *E. coli* a 4 kmeny *Pseudomonas aeruginosa*. Všechny kmeny byly také velmi odolné vůči nalidixinu. Kmeny *E. coli* měly hodnoty MIC mezi 1024 a 4096 µg/ml, u *Pseudomonas aeruginosa* byly hodnoty MIC dokonce vyšší než 4096 µg/ml a nepodařilo se nám je stanovit. Byli jsme limitováni rozpustností nalidixinu, a tak jsme se zaměřili především na kombinace tetracyklinu s paroxetinem a fluoxetinem, kde byly MIC řádově nižší.

Hodnoty CRIC koeficientů včetně jednotlivých bodů křivky, z kterých byly počítány jsou pro kmeny CCM uvedeny v kapitole 11 (Přílohy) v tabulkách č. 29 až 50. V tabulce č. 12 je uveden přehled hodnot MIC antibiotik i SSRI antidepresiv u námi testovaných kmenů izolovaných od pacientů.

Tab. 12 Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek pro jednotlivé bakteriální kmeny izolované od pacientů

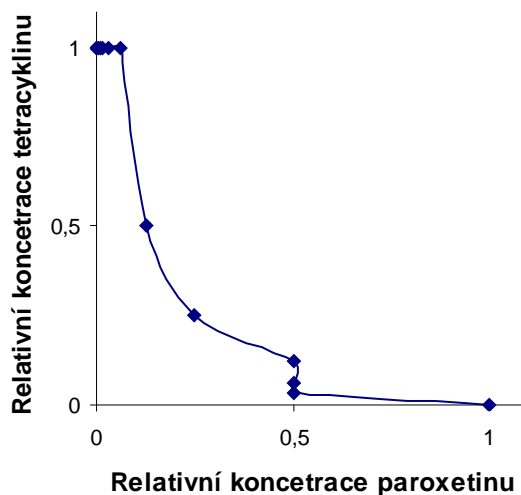
| bakteriální kmen | hodnoty MIC (µg/ml) | | | |
|-----------------------------------|---------------------|-----------|-----------|-------------|
| | paroxetin | fluoxetin | nalidixin | tetracyklin |
| <i>Escherichia coli</i> 4180 | 64-128 | 64 | 4096 | 256 |
| <i>Escherichia coli</i> 4208 | 64-128 | 64 | 4096 | 128 |
| <i>Escherichia coli</i> 4290 | 64 | 64 | 1024 | 512 |
| <i>Escherichia coli</i> 2468 | 64-128 | 64 | 2048-4096 | 256 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 400 | 256 | 256 | > 4096 | 64 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 417 | 512 | 256 | > 4096 | 64 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 421 | 512 | 512 | > 4096 | 32 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 448 | 512 | 256 | > 4096 | 32-64 |

7.2.1 *Escherichia coli*

Kombinace tetracyklinu s antidepresivy vedla u kmenů *E. coli* 4180 a 4290 ve především k adici antibakteriálních účinků. U kmenu *E. coli* 4208 převládala indiference. Synergismus účinků jsme pozorovali u kmene *E. coli*

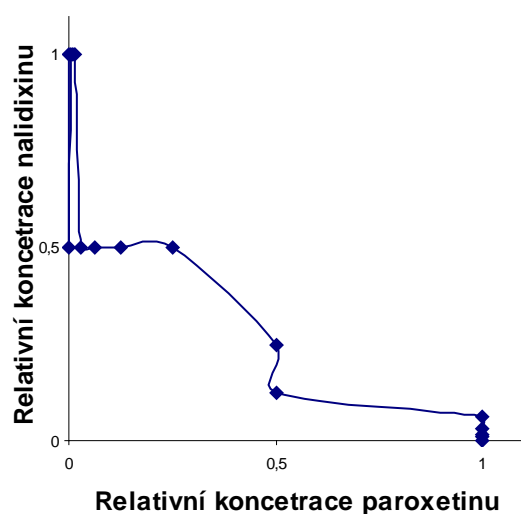
2468, kde kombinace tetracyklinu s paroxetinem vykazovala silný synergismus viz graf 6, tetracyklin s fluoxetinem slabý synergismus nebo adici.

Graf 6 Kombinované účinky tetracyklinu a paroxetinu na kmen *E. coli* 2468



V kombinaci nalidixinu a antidepresiv vykazovaly látky adici antimikrobních účinků u kmenů *E. coli* 4180, 4208 i 4290. U kmenu *E. coli* 4180 byla pozorována i indiference. U kmenu *E. coli* 2468 vedla kombinace nalidixinu s paroxetinem k slabému synergismu viz graf 7, kombinace nalidixinu s fluoxetinem k indiferenci.

Graf 7 Kombinované účinky nalidixinu a paroxetinu na kmen *E. coli* 2468

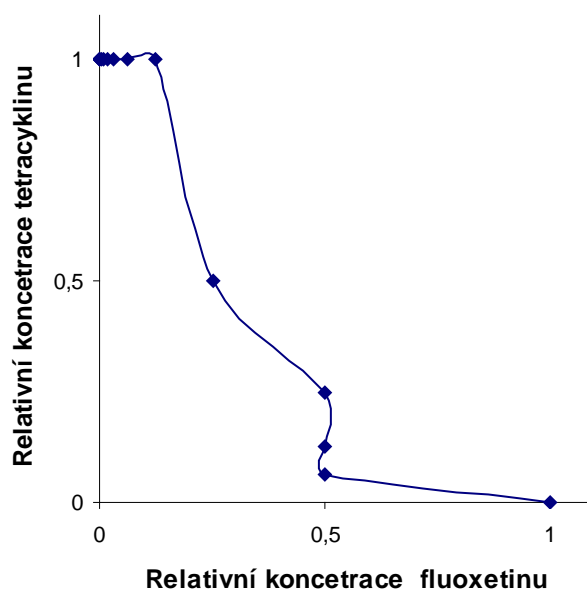


7.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

U kmenů *Pseudomonas aeruginosa* 400, 417 a 421 vedla kombinace tetracyklinu s paroxetinem k adici antibakteriálních účinků. U kmenu *Pseudomonas aeruginosa* 448 jsme pozorovali adici i slabý synergismus.

U kombinace tetracyklinu s fluoxetinem se projevil větší spektrum interakcí. Zatímco u kmenu *Pseudomonas aeruginosa* 417 byla patrná indiference, u kmenů *Pseudomonas aeruginosa* 400 a 448 došlo k adici antibakteriálních účinků a u kmenu *Pseudomonas aeruginosa* 421 vedla kombinace tetracyklinu s fluoxetinem dokonce k slabému synergismu viz graf 8.

Graf 8 Kombinované účinky tetracyklinu a fluoxetinu na kmen *Pseudomonas aeruginosa* 421



8 DISKUSE

8.1 Kmeny CCM

Testováním hodnot MIC jednotlivých látek, jsme potvrdili předpoklad, že všechny čtyři kmeny CCM jsou citlivé na SSRI (i ATB). Měli jsme možnost porovnat námi zjištěné hodnoty MIC paroxetinu a fluoxetinu se studií (Vlach J., 2006), kde byly tyto látky také testovány, a na stejných kmenech CCM byli MIC obou látek srovnatelné s našimi hodnotami.

MIC paroxetinu i fluoxetinu byly pro daný kmen vždy stejné (pouze v jednom měření u *Pseudomonas aeruginosa* CCM dvojnásobné). Podobné výsledky také vykazovala u CCM kmenů studie (Vlach J., 2006).

8.1.1 *Escherichia coli* CCM

Kombinace nalidixinu s paroxetinem vedla k adici antimikrobních účinků. U kombinace nalidixinu s fluoxetinem není interpretace výsledků jednoznačná, zjistili jsme totiž silný synergismus a adici. Obě hodnoty CRIC koeficientu leží blízko rozmezí hodnot označeného jako slabý synergismus, takže pravděpodobný typ interakce se nám jeví právě jako slabý synergismus. Přesněji by to mohlo určit až rozsáhlejší testování.

U tetracyklinu kombinovaného s SSRI můžeme jako druh interakce označit indifferenci, přestože v jednom měření jsme pozorovali také adici. Hodnota CRIC koeficientu v tomto případě byla na pomezí adice a indiference, nejspíše se jednalo o nepřesnost měření.

8.1.2 *Staphylococcus aureus* CCM

U kombinace nalidixinu s paroxetinem jsme sice naměřili adici, ale v obou případech se hodnoty CRIC koeficientu blížily oblasti slabého synergismu. U kombinace s fluoxetinem jsme jako typ interakce popsali silný synergismus, tyto výsledky se jeví jako velmi slibné pro případné další testování.

U kombinace SSRI s tetracyklinem jsme pozorovali adici antimikrobních účinků a v jednom měření velmi silný antagonismus viz tab. 15 (v kapitole 11).

To bylo nejspíše způsobeno nepřesností měření, takže odečet jamky označující MIC paroxetinu bylo posunutý o jednu jamku (jedno ředění) doprava a měl poloviční koncentraci. Následujících několik bodů grafu pak vykazovalo dvojnásobnou inhibiční koncentraci paroxetinu oproti MIC, čímž se objevil antagonismus. Pokud srovnáme hodnotu MIC paroxetinu ve dvou měřeních, zjistíme že v případě „antagonismu“ byla hodnota MIC opravdu poloviční než u druhého měření.

Synergismus účinků SSRI a fluorochinolonů byl popsán ve studii (Kaatz a kol., 2003), kde prokázali, že se jednalo o inhibici efluxních pump u *S. aureus*. Kombinace SSRI s tetracyklinem synergistické účinky nevykazovala, z čehož bychom mohli usuzovat, že tetracyklin nebyl substrátem pro efluxní pumpy námi testovaného kmenu.

8.1.3 *Bacillus subtilis* CCM

U kmene *Bacillus subtilis* vykazovala kombinace SSRI a tetracyklinu adici antibakteriálních účinků a to ve všech našich měřeních.

U nalidixinu v kombinaci s SSRI jsme zjistili různé typy interakcí. Od slabého synergismu přes adici, indiferenci až mírný antagonismus. Mohlo se jednat pouze o nepřesnosti měření, ale vzhledem k malému počtu měření, nemůže s jistotou tvrdit, jaký typ interakce u kombinace nalidixinu a SSRI převažoval.

8.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* CCM

U *Pseudomonas aeruginosa* převažovala z interakcí SSRI a ATB adice antimikrobních účinků. Zatímco u tetracyklinu se hodnota CRIC koeficientu blížila indiferenci, u nalidixinu byly hodnoty CRIC koeficientu blízko oblasti slabého synergismu a v některých případech slabého synergismu dosáhly.

8.2 Kmeny izolované od pacientů

Hodnoty MIC fluoxetinu a paroxetinu byly pro daný kmen stejné nebo byly nejvíce dvojnásobkem (resp. polovinou) MIC druhého SSRI.

Hodnoty MIC obou SSRI u kmenů rezistentních na tetracyklin odpovídaly hodnotám MIC SSRI u kmenů CCM. Snížená citlivost na tetracyklin či nalidixin tedy neovlivnila citlivost na SSRI. Ke stejnému závěru různé kombinace SSRI a ATB došla např. studie (Munoz-Bellido a kol., 2000) zkoumající účinky SSRI na *Acinebacter*, nebo studie (Kaatz a kol., 2003) zkoumající účinky SSRI v kombinaci s tetracykliny nebo fluorochinolony u kmenů *Staphylococcus aureus* různě citlivých na ATB.

MIC tetracyklinu se u kmenů *E. coli* se zvýšila oproti kmenu CCM 128x až 512x, MIC nalidixinu dokonce 256x až 1024x. Zvýšení citlivosti tetracyklinu je pochopitelné vzhledem k tomu, že jsme používali klinicky izolované kmeny rezistentní na tetracyklin, zvýšení rezistence na nalidixin ukazuje na multi-rezistenci mikroorganismů.

8.2.1 *Escherichia coli*

Kombinace tetracyklinu a prometazinu na kmeny *E. coli* vykazovala ve studii (Gunics a kol., 2000) synergismus antimikrobních účinků obou látek. V naší práci vedla kombinace tetracyklinu s SSRI především k adici antimikrobních účinků (kmeny 4180, 4290) nebo k indiferenci (kmen 4208). Pouze u jediného kmene *E. coli* (2468) jsme pozorovali podobný typ interakce jako ve studii (Gunics a kol., 2000) - synergismus účinků. Dvakrát jsme synergismus vyhodnotili jako silný (paroxetin), jednou jako slabý (fluoxetin). U obou měření paroxetin-tetracyklin stačila čtvrtinová hodnota MIC obou látek k dosažení stejného efektu, jakou by měly látky samotné. Interakce ATB a SSRI u kmene *E. coli* 2468 se jevila jako velmi slibná z hlediska možného dalšího výzkumu.

U nalidixinu v kombinaci SSRI jsme tak zajímavé výsledky nepozorovali. Naprostá většina interakcí byla adičního typu, zřídka se objevila i indiference. U kmenu *E. coli* (nalidixin-paroxetin) jsme pozorovali také slabý synergismus.

Výsledky kombinovaného působení nalidixinu a SSRI nejsou bohužel zcela legitimní. Kvůli vysoké MIC nalidixinu u těchto kmenů jsme měli problémy s rozpustností nalidixinu, měření jsme proto provedly méně a měly sloužit spíše screeningově než jako plnohodnotná měření. U kmenu *E. coli* 4290 byly hodnoty MIC nalidixinu dvakrát až čtyřikrát nižší oproti ostatním kmenům *E. coli* (izolovaných od pacientů) a výsledky těchto měření se dají považovat za legitimní. Kmen 4290 vykazoval adici antimikrobních účinků a to u kombinace nalidixin-paroxetin i nalidixin-fluoxetin.

U kmene *E. coli* 2468 bychom silný synergismus SSRI a tetracyklinu mohli přisuzovat inhibici efluxních bakteriálních pump. Vlivem paroxetinu dochází ke snížení inhibiční koncentrace tetracyklinu o jeden až dva řády v závislosti na koncentraci paroxetinu, což by potvrzovalo teorii o zvýšení koncentrace ATB uvnitř bakterie vlivem inhibice bakteriálních efluxních pump.

V rozporu s tím je však hodnota koncentrace paroxetinu, která se blíží své MIC (poloviční až čtvrtinová oproti MIC) a dá se tedy očekávat, že při této koncentraci měl paroxetin vlastní antimikrobní účinky (ovlivnění fyziologie bakterie), nejen účinky potenciační (inhibice efluxních pump). Otázka mechanismu synergismu a kombinovaného antimikrobního účinku zůstává stále nezodpovězena.

8.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

U kmenu *Pseudomonas aeruginosa* jsme testovali pouze kombinaci tetracyklinu s SSRI. Hodnoty MIC nalidixinu byly u námi testovaných kmenů tak vysoké, že se nám je s ohledem na rozpustnost léčiva nepodařilo stanovit (MIC nalidixinu byla vyšší než 4096 µg/ml).

Kombinované účinky tetracyklinu s paroxetinem vykazovaly ve většině případů adici účinků. U jednoho měření s kmenem *Pseudomonas aeruginosa* 448 jsme pozorovali kromě adice také slabý synergismus.

Větší rozmanitost kombinovaného účinku se projevila u kombinace s fluoxetinem, ovšem i zde převažovala adice účinků. U kmene *Pseudomonas aeruginosa* 417 jsme pozorovali také indiferenci, zde tedy k vzájemnému ovlivnění antimikrobních účinků fluoxetinu a paroxetinu docházelo minimálně.

Slabý synergismus byl patrný pouze kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421 (u obou měření).

Převládající adice antimikrobních účinků odpovídá studii (Gunics a kol., 2000), kde na klinicky izolovaných kmenech *Pseudomonas aeruginosa* testovali kombinaci tetracyklinu a prometazinu. Synergismus pozorován nebyl.

Efluxní pumpy u kmenů *Pseudomonas aeruginosa* nejsou stále dostatečně prozkoumány. Z převládající adice účinků SSRI-tetracyklinu a chybění synergismu jejich účinků můžeme usuzovat, že rezistence vůči tetracyklinům není u testovaných kmenů zprostředkovaná pouze efluxními *Staphylococcus aureus* pumpami (které jsou inhibovány SSRI), nebo SSRI tyto efluxní pumpy dostatečně neinhibují.

9 ZÁVĚR

Potvrdili jsme předpoklad, že námi testované kmeny byly citlivé na SSRI (paroxetin, fluoxetin). Zjistili jsme, že citlivost testovaných kmenů na SSRI nesouvisela s jejich citlivostí vůči testovaným ATB.

Podařilo se nám prokázat, že při kombinaci SSRI (paroxetinu nebo fluoxentinu) s ATB (tetracyklinem nebo nalidixinem) dochází k vzájemné interakci antimikrobních účinků. Nejčastěji se jednalo o adici, což se z praktického hlediska příliš využít nedá. Abychom dosáhli snížení MIC antibiotika na polovinu, museli bychom totiž dosáhnout několikanásobně vyšších plazmatických koncentrací SSRI než jsou maximální fyziologické hladiny.

Synergismus antimikrobních účinků vykazovala kombinace ATB s SSRI spíše vzácně (nalidixin-fluoxetin u *S. aureus* CCM; tetracyklin-fluoxetin u *Pseudomonas aeruginosa* 421; tetracyklin-paroxetin a tetracyklin-fluoxetin u *E. coli* 2468).

Na druhou stranu neprokázali jsme ani antagonismus antimikrobních účinků (a tedy potřebu zvýšení dávky ATB při současném podání fluoxetinu či paroxetinu). Použití tetracyklinu a nalidixinu u pacientů užívající fluoxetin nebo paroxetin se u námi testovaných bakteriálních kmenů jeví jako relativně bezpečné z hlediska ovlivnění antimikrobní aktivity.

Zvýšení citlivosti na ATB (nalidixin, tetracyklin) při kombinaci s SSRI u rezistentních kmenů bakterií se nám podařilo prokázat pouze v jediném případě a to u kombinace tetracyklinu s paroxetinem u kmene *E. coli* 2468. Poloviční hodnota MIC paroxetinu stačila ke snížení MIC tetracyklinu až o dva řády (koncentrace SSRI však přesahovala hodnoty dosažitelné in vivo).

SSRI a jejich analogy můžeme stále považovat za nadějnou skupinu léčiv pro kombinovanou antimikrobní terapii a další výzkum v oblasti potenciace účinků antibiotik nebo zvýšení citlivosti na antibiotika u rezistentních kmenů může přinést praktické výsledky.

10 POUŽITÁ LITERATURA

BAUMMANN P.: Pharmacokinetic-Pharmacodynamic relationship of selective serotonin reuptake inhibitors; *Clinical pharmacokinetic* 31 (6), Dec. r. 1996, s. 444-469

DE VANE C. L.: Metabolism and Pharmacokinetics of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors; *Cellular and Molecular Neurobiology*, Vol 19, No. 4, r. 1999, s. 443-466

GUNICS G., MOTOHASHI N., AMARAL L., FARKAS S., MOLNÁR J.: Interaction between antibiotics and non-conventional antibiotics on bacteria; *International Journal of Antimicrobial Agents*; 14, r. 2000, s. 239-242

HENDRICKS O., BUTTERWORTH T. S., KRISTIANSEN J. E.: The in-vitro antimicrobial effect of non-antibiotics and putative inhibitors of efflux pump on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*; *International Journal of Antimicrobial Agents* 22, r. 2003, s. 262-264

KAATZ G. W., MOUDGAL V. V., SEO S. M., HANSEN J. B., KRISTIANSEN J. E.: Phenylpiperidine selective serotonin reuptake inhibitors interfere with multidrug efflux pump activity in *Staphylococcus aureus*; *International Journal of Antimicrobial Agents*; 22, r. 2003, s. 254-261

KRISTIANSEN J. E., HANSEN J. B.: Inhibition of HIV replication by neuroleptic agents and their potential use in HIV infected patients with AIDS related dementia; *International Journal of Antimicrobial Agents* 14, r. 2000, s. 209-213

KRISTIANSEN J. E., AMARAL L.: The potential management of resistant infections with non-antibiotics; *International Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 40, r. 1997, s. 319-327

LASS-FLORL C., LEDOCHOWSKI M., FUCHS D., SPETH C., KACANI L., DIERICH M. P., FUCHS A., WURZNER R.: Interaction of sertraline with *Candida* species selectively attenuates fungal virulence in vitro; *FEMS Immunology and medical microbiology* 35; r. 2003, s. 11-15

LINCOVÁ D., FARGHALI H.: *Základní a aplikovaná farmakologie*; Galén r. 2005, s.170-176

LÜLLMAN H., MOHR K., WEHLING M.: *Farmakologie a toxikologie*; Grada r. 2002, s. 381-382, 490-491, 498-499

MUNOZ-BELLIDO J.L., MUNOZ-CRIADO S., GARCIA-RODRIGUEZ: Antimicrobial activity of psychotropic drugs Selective serotonin reuptake inhibitors; *International Journal of Antimicrobial Agents* 14, r. 2000, s. 177-180

MUNOZ-BELLIDO J.L., MUNOZ-CRIADO S., GARCIA-RODRIGUEZ: In-vitro activity of psychiatric drugs against *Corynebacterium urealyticum* (*Corynebacterium* group D2); *International Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 37, r. 1996, s. 1005-1009

TAYLOR D., WALDEN J. C., ASHLEY H. R., SMITH P. J.: Role of the neurotransmitter reuptake-blocking activity of antidepressants in reversing chloroquine resistance in vitro in *Plasmodium falciparum*; *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Oct. r. 2000, s. 2689-2692

VLACH J.: Antimikrobiální účinek selektivních inhibitorů zpětného vychytávání serotoninu (diplomová práce), FaF UK, r. 2006

YOUNG T. J., OLIVER G. P. , PRYDE D., PERROS M., PARKINSON T.: Antifungal activity of selective serotonin reuptake inhibitors attributed to non-specific cytotoxicity; *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51, r. 2003, s. 1045-1047

11 PŘÍLOHY

Pokud je hodnota relativní koncentrace (poměr koncentrace a příslušné MIC látky) menší než jedna, nejsou číselné hodnoty uvedené v desetinném tvaru, ale ve tvaru zlomku (obecně 1/X). Např. 1/64 odpovídá hodnotě 0,015625. Důvodem je větší přehlednost, protože hodnoty bodů klesají geometrickou řadou.

Tab. 13 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu na *S. aureus* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Paroxetin | Nalidixin | Paroxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 256 µg/ml | 128 µg/ml | 256 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 64 µg/ml | 64 µg/ml | 128 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 2 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1/2 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 0 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | - | - | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,43 | | 0,36 | |
| koeficient CRIC | | 0,859 | | 0,719 | |

Tab. 14 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *S. aureus* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 256 µg/ml | 128 µg/ml | 256 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 128 µg/ml | 64 µg/ml | 128 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1/2 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1/4 | 1/8 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/8 | 1/8 | 1/4 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/16 | 1/4 | 1/8 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/32 | 1/4 | 1/16 |
| | bod č. 12 | 1 | 0 | 1/2 | 1/32 |
| | bod č. 13 | - | - | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,13 | | 0,15 | |
| koeficient CRIC | | 0,266 | | 0,305 | |

Tab. 15 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *S. aureus* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 4 µg/ml | 128 µg/ml | 4 µg/ml |
| MIC | | 32 µg/ml | 1 µg/ml | 64 µg/ml | 1 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1 | 1 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 2 | 1/2 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 2 | 1/4 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 2 | 1/8 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 2 | 1/16 | 1 | 0 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | - | - |
| plocha pod křivkou | | 1,72 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 3,438 | | 1,250 | |

Tab. 16 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *S. aureus* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 4 µg/ml | 128 µg/ml | 4 µg/ml |
| MIC | | 128 µg/ml | 1 µg/ml | 128 µg/ml | 1 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 1 | 1/1024 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1/2 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 15 | - | - | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,36 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 0,719 | | 1,250 | |

Tab. 17 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Escherichia coli* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Paroxetin | Nalidixin | Paroxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 8 µg/ml | 128 µg/ml | 8 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 4 µg/ml | 64 µg/ml | 4 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,53 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,063 | |

Tab. 18 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 8 µg/ml | 128 µg/ml | 8 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 8 µg/ml | 64 µg/ml | 4 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1/2 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1/2 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1/2 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1/2 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1/2 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1/2 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1/2 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/8 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/16 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/32 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/64 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,20 | | 0,41 | |
| koeficient CRIC | | 0,407 | | 0,813 | |

Tab. 19 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 2 µg/ml | 128 µg/ml | 2 µg/ml |
| MIC | | 32 µg/ml | 1/2 µg/ml | 64 µg/ml | 1/2 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 2 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1 | 1/2 | 1 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/2 | 1 | 1/2 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,88 | | 0,88 | |
| koeficient CRIC | | 1,762 | | 1,750 | |

Tab. 20 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 2 µg/ml | 128 µg/ml | 2 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 1 µg/ml | 64 µg/ml | 1 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 2 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/2 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/4 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/8 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/16 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/32 | 1 | 0 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 | - | - |
| plocha pod křivkou | | 0,97 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 1,938 | | 1,250 | |

Tab. 21 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Bacillus subtilis* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Paroxetin | Nalidixin | Paroxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 64 µg/ml | 16 µg/ml | 64 µg/ml | 16 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 8 µg/ml | 64 µg/ml | 8 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 2 | 1/1024 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 2 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 2 | 1/32 | 2 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 2 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/2 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/4 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/8 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/16 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 16 | 1 | 1/32 | 1 | 0 |
| | bod č. 17 | 1 | 0 | - | - |
| plocha pod křivkou | | 1,09 | | 0,65 | |
| koeficient CRIC | | 2,177 | | 1,297 | |

Tab. 22 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Bacillus subtilis* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 64 µg/ml | 16 µg/ml | 64 µg/ml | 16 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 16 µg/ml | 64 µg/ml | 8 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 1 | 1/1024 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 1 | 1/512 | 2 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 1/2 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1/2 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1/2 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/4 | 1 | 1/2 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/64 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,28 | | 0,81 | |
| koeficient CRIC | | 0,555 | | 1,628 | |

Tab. 23 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Bacillus subtilis* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 1 µg/ml | 128 µg/ml | 1 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 1/4 µg/ml | 64 µg/ml | 1/4 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,53 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,063 | |

Tab. 24 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Bacillus subtilis* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 128 µg/ml | 1 µg/ml | 128 µg/ml | 1 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 1/4 µg/ml | 64 µg/ml | 1/4 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,53 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,063 | |

Tab. 25 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Pseudomonas aeruginosa* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|------------|--------------|-----------|
| účinné látky | | Paroxetin | Nalidixin | Paroxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 512 µg/ml | 512 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 1024 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1/2 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1/2 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1/2 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1/2 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1/2 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 | 1/4 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/8 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/64 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/128 | 1 | 1/64 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,27 | | 0,38 | |
| koeficient CRIC | | 0,546 | | 0,750 | |

Tab. 26 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 512 µg/ml | 512 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 512 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1/2 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/64 | 1 | 1/64 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,31 | | 0,53 | |
| koeficient CRIC | | 0,625 | | 1,063 | |

Tab. 27 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 64 µg/ml | 512 µg/ml | 64 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 32 µg/ml | 256 µg/ml | 32 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,63 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 1,250 | | 1,250 | |

Tab. 28 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 64 µg/ml | 512 µg/ml | 64 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 32 µg/ml | 256 µg/ml | 32 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,63 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 1,250 | | 1,250 | |

Tab. 29 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4180

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|------------|--------------|------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 2048 µg/ml | 256 µg/ml | 2048 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 4096 µg/ml | 64 µg/ml | 4096 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 2 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 2 | 1/32 | 2 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 2 | 1/64 | 2 | 1/64 |
| | bod č. 15 | 2 | 1/128 | 1 | 1/128 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,71 | | 0,57 | |
| koeficient CRIC | | 1,430 | | 1,133 | |

Tab. 30 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4180

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 128 µg/ml | 64 µg/ml | 256 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 2 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 2 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 2 | 1/16 | 1/2 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 13 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,59 | | 0,38 | |
| koeficient CRIC | | 1,176 | | 0,766 | |

Tab. 31 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4180

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 256 µg/ml | 64 µg/ml | 256 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1/2 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1/2 | 1/8 | 1/2 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/8 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/16 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/32 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 0 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | - | - | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,34 | | 0,48 | |
| koeficient CRIC | | 0,672 | | 0,969 | |

Tab. 32 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4208

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 2048 µg/ml | 256 µg/ml | 2048 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 4096 µg/ml | 64 µg/ml | 4096 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 | 1 | 1/64 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/64 | 1 | 1/128 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/128 | 1 | 0 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 | - | - |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,41 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 0,813 | |

Tab. 33 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4208

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 128 µg/ml | 64 µg/ml | 128 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 2 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 2 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 2 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,63 | | 0,77 | |
| koeficient CRIC | | 1,262 | | 1,531 | |

Tab. 34 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4208

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 128 µg/ml | 64 µg/ml | 128 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 2 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 2 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1 | 1/2 | 1 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/2 | 1 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,88 | | 0,89 | |
| koeficient CRIC | | 1,762 | | 1,773 | |

Tab. 35 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Escherichia coli* 4290

| č. měření | | 1. měření | |
|---|-----------|------------------|------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 2048 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 1024 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 2 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 2 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,61 | |
| koeficient CRIC | | 1,219 | |

Tab. 36 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4290

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 2048 µg/ml | 256 µg/ml | 2048 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 1024 µg/ml | 64 µg/ml | 1024 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 2 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,55 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,109 | |

Tab. 37 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4290

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 512 µg/ml | 64 µg/ml | 512 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/8 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/16 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/32 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/64 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 1/64 |
| | bod č. 15 | - | - | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,41 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 0,813 | | 1,250 | |

Tab. 38 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4290

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 512 µg/ml | 64 µg/ml | 512 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/64 | 1 | 1/64 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,53 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,063 | |

Tab. 39 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Escherichia coli* 2468

| č. měření | | 1. měření | |
|---|-----------|------------------|------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 2048 µg/ml |
| MIC | | 128 µg/ml | 4096 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1/2 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1/2 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1/2 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/64 |
| | bod č. 15 | 1 | 1/128 |
| | bod č. 16 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,28 | |
| koeficient CRIC | | 0,553 | |

Tab. 40 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 2468

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Nalidixin | Fluoxetin | Nalidixin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 2048 µg/ml | 256 µg/ml | 2048 µg/ml |
| MIC | | 64 µg/ml | 2048 µg/ml | 64 µg/ml | 2048 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 2 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 2 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 2 | 1/32 | 2 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 2 | 1/64 | 2 | 1/64 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,69 | | 0,71 | |
| koeficient CRIC | | 1,375 | | 1,422 | |

Tab. 41 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 2468

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 128 µg/ml | 256 µg/ml | 128 µg/ml | 256 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1/2 | 1/8 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/4 | 1/4 | 1/4 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/8 | 1/2 | 1/8 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/16 | 1/2 | 1/16 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/32 | 1/2 | 1/32 |
| | bod č. 13 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,21 | | 0,21 | |
| koeficient CRIC | | 0,422 | | 0,422 | |

Tab. 42 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 2468

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 256 µg/ml | 512 µg/ml | 256 µg/ml | 512 µg/ml |
| MIC | | 128 µg/ml | 256 µg/ml | 64 µg/ml | 256 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1/2 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,32 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 0,641 | | 1,250 | |

Tab. 43 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 400

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 1024 µg/ml | 128 µg/ml | 1024 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 64 µg/ml | 256 µg/ml | 64 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 12 | 2 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 13 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | bod č. 14 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| plocha pod křivkou | | 0,44 | | 0,41 | |
| koeficient CRIC | | 0,875 | | 0,813 | |

Tab. 44 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 400

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 1024 µg/ml | 128 µg/ml | 1024 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 64 µg/ml | 256 µg/ml | 64 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,63 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 1,250 | | 1,250 | |

Tab. 45 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 417

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 1024 µg/ml | 128 µg/ml | 1024 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 512 µg/ml | 64 µg/ml | 512 µg/ml | 64 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/8 | 1/2 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1/2 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,46 | | 0,48 | |
| koeficient CRIC | | 0,922 | | 0,969 | |

Tab. 46 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 417

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 1024 µg/ml | 128 µg/ml | 1024 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 256 µg/ml | 64 µg/ml | 256 µg/ml | 64 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/2 | 1 | 1/2 | 1 |
| | bod č. 10 | 1 | 1/2 | 1 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,88 | | 0,88 | |
| koeficient CRIC | | 1,750 | | 1,750 | |

Tab. 47 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 421

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 128 µg/ml | 512 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 512 µg/ml | 32 µg/ml | 512 µg/ml | 32 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 1 | 1/1024 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,53 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,063 | |

Tab. 48 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 421

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 128 µg/ml | 512 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 512 µg/ml | 32 µg/ml | 512 µg/ml | 32 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 1 | 1/1024 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/8 | 1/2 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1/2 | 1/16 | 1/2 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,33 | | 0,33 | |
| koeficient CRIC | | 0,656 | | 0,656 | |

Tab. 49 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 448

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| účinné látky | | Paroxetin | Tetracyklin | Paroxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 128 µg/ml | 512 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 512 µg/ml | 32 µg/ml | 512 µg/ml | 64 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/1024 | 1 | 1/1024 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1/2 |
| | bod č. 10 | 1/4 | 1 | 1/4 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1/2 | 1/4 | 1/2 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1/2 | 1/8 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/16 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,48 | | 0,31 | |
| koeficient CRIC | | 0,969 | | 0,625 | |

Tab. 50 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 448

| č. měření | | 1. měření | | 2. měření | |
|---|-----------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| účinné látky | | Fluoxetin | Tetracyklin | Fluoxetin | Tetracyklin |
| nejvyšší koncentrace | | 512 µg/ml | 128 µg/ml | 512 µg/ml | 128 µg/ml |
| MIC | | 512 µg/ml | 32 µg/ml | 512 µg/ml | 32 µg/ml |
| jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC | bod č. 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | bod č. 2 | 1/512 | 1 | 1/512 | 1 |
| | bod č. 3 | 1/256 | 1 | 1/256 | 1 |
| | bod č. 4 | 1/128 | 1 | 1/128 | 1 |
| | bod č. 5 | 1/64 | 1 | 1/64 | 1 |
| | bod č. 6 | 1/32 | 1 | 1/32 | 1 |
| | bod č. 7 | 1/16 | 1 | 1/16 | 1 |
| | bod č. 8 | 1/8 | 1 | 1/8 | 1 |
| | bod č. 9 | 1/4 | 1/2 | 1/4 | 1 |
| | bod č. 10 | 1/2 | 1/2 | 1/2 | 1/2 |
| | bod č. 11 | 1 | 1/4 | 1 | 1/4 |
| | bod č. 12 | 1 | 1/8 | 1 | 1/8 |
| | bod č. 13 | 1 | 1/16 | 1 | 1/16 |
| | bod č. 14 | 1 | 1/32 | 1 | 1/32 |
| | bod č. 15 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| plocha pod křivkou | | 0,53 | | 0,63 | |
| koeficient CRIC | | 1,063 | | 1,250 | |