

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Farmacie

Autor: Nina Netíková

Školitel: RNDr. Klára Konečná, Ph.D.

Název diplomové práce: Studium vlivu vzájemné interakce vybraných antibakteriálních léčiv *in vitro* na aktivitu vůči enterokokům

Cíl práce: Cílem experimentální části této diplomové práce bylo zhodnotit vliv vzájemné interakce dvou vybraných, v praxi zavedených antibiotik v kombinaci na dva vybrané bakteriální kmeny bakterií rodu *Enterococcus*. Účinek kombinace byl hodnocen prostřednictvím parametru FIC indexu. Na základě výpočtu FIC indexu byla dále vzájemná interakce klasifikována jako synergní, aditivní, indiferentní či antagonistická.

Metody: K hodnocení vzájemného působení antibakteriálních léčiv v kombinaci byla vybrána čtyři antibiotika, jež byla dána do dvojkombinace. Stěžejním antibiotikem byl daptomycin, který byl kombinován s tigecyklinem, linezolidem a vankomycinem. Účinek dvojkombinací byl sledován vůči klinickému izolátu *Enterococcus faecium* a vůči sbírkovému bakteriálnímu kmenu *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Stanovení hodnot MIC bylo provedeno s využitím mikrodiluční bujónové techniky podle metodiky EUCAST. Pro zjišťování hodnot MIC byl volen způsob odečtu nárůstu bakterií pouhým okem a pomocí spektrofotometrické detekce. Hodnocení probíhalo po 24hodinové, případně 48hodinové inkubaci. U klinického izolátu pro potvrzení antibakteriálního účinku antibiotik v kombinaci byla také volena metoda stanovení metabolické aktivity pomocí indikátoru Alamar Blue. Vzájemná interakce antibiotik v kombinaci byla kategorizována jako synergní, aditivní, indiferentní či antagonistická, a to na základě výpočtu parametru FIC indexu.

Výsledky: Byly testovány kombinace antimikrobiálních látek, a to vůči dvěma bakteriálním kmenům (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, klinický izolát *Enterococcus faecium*). Nejslibnější výsledky na

základě hodnocení FIC indexu s určením aditivního účinku byly zaznamenány pro kombinaci daptomycinu a vankomycinu vůči *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) v koncentračních poměrech 0,25 : 4 (mg/L); 0,5 : 4 (mg/L); 1 : 4 (mg/L); 2 : 2 (mg/L) a 4 : 2 (mg/L). Dále bylo zaznamenáno aditivní působení pro kombinaci daptomycinu s linezolidem, v koncentračním poměru 1 : 4 (mg/L). Pro kombinace daptomycinu a tigecyklinu byla zaznamenána aditiva v poměrech 0,25 : 4 (mg/L) a 0,25 : 0,25 (mg/L). Vůči kmenu *Enterococcus faecium* bylo zhodnoceno aditivní působení u kombinace daptomycinu s linezolidem v koncentračním poměru 2 : 64 (mg/L). V ostatních dalších testovaných koncentračních poměrech vůči obou kmenům pak kombinace antibiotika vykazovala indiferentní efekt. U žádné z vybraných testovaných kombinací nebyl prokázán v jakémkoliv koncentračním poměru synergní účinek.

Závěr: Enterokoky se řadí mezi „superbugs“, neboli také mezi kmeny bakterií s vysokou úrovní rezistence vůči několika třídám antibiotik. Nastává tak problém s infekcemi způsobenými enterokoky, které se stávají těžce léčitelnými. Nevhodné a nadměrné užívání antibiotik může vést až k selhání farmakoterapie v důsledku vzniku antimikrobiální rezistence. Proto je žádoucí hledat nové terapeutické možnosti v léčbě enterokokových infekcí. Jedním z možných přístupů pro dosažení úspěšné léčby může být racionální kombinační terapie. Ve snaze navodit racionální kombinační terapii je žádoucí volit do kombinace taková antibiotika, jež vykazují při vzájemné interakci synergní účinek. V rámci hodnocení kombinovaného antienterokokového účinku dvojkombinací, ze čtyř vybraných antimikrobních látek byl prokázán aditivní účinek pro kombinaci antibiotik daptomycinu s vankomycinem. Dále byl aditivní účinek prokázán u kombinace daptomycinu s linezolidem a daptomycinu s tigecyklinem vůči sbírkovému kmenu *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a u kombinace daptomycinu s linezolidem vůči klinickému izolátu *Enterococcus faecium*. U žádné z vybraných kombinací v žádném koncentračním poměru vybraných antimikrobiálních látek nebyl zaznamenán synergní účinek.

Klíčová slova: enterokoky, checkerboard studie, ESKAPE, mikrodiluční bujónová technika