

## Sinergistički efekat aminoglikozidnih i penicilinskih antibiotika na *Staphylococcus epidermidis*

---

*Sinergistički efekat definisan je kao efekat koji pri kombinovanju dva ili više faktora daje različit rezultat od pojedinačnog ili aditivnog dejstva. Učestalom terapijom, baktericidna svojstva antibiotika vremenom se smanjuju. Nova istraživanja pokazuju da je moguć sinergistički efekat među antibioticima, čime u određenoj meri rešavamo problem razvijene rezistentnosti bakterija. U sprovedenom eksperimentu obuhvaćeni su aminoglikozidni i penicilinski antibiotici. Korišćeni su ampicilin, amoksicilin, penicilin (penicilini) i streptomycin, gentamicin, amikacin (aminoglikozidi). Studija je vršena metodom „chequerboard” in vitro. Tretiran soj Staphylococcus epidermidis je stavljen na inkubaciju, nakon čega je posmatrana zona inhibicije oko diskova sa antibioticima. Dobijeni rezultati indiciraju da do sinergističkog efekta ne dolazi, te se ne savetuje kombinovanje ispitanih antibiotika u kliničkim tretmanima protiv soja Staphylococcus epidermidis.*

---

### Uvod

Bakterijska oboljenja pre prve polovine 20. veka tretirala su se narodnim lekovima spravljениh od biljaka sa biocidnim svojstvima (Lindblad 2008). Savremena farmaceutska industrija proizvodi lekove polusintetičkim putem, od prirodnih komponenti koje su hemijski modifikovane. Danas su antibiotici poput penicilina i eritromicina značajno manjeg efekta nego u vreme njihovog otkrića, zbog razvijanja rezistentnosti kod bakterija (Waksman 1947). Rezistentnost bakterija na biocidne osobine antibiotika stvara se na više načina. Evolucioni proces

razvijanja rezistentnosti podrazumeva nasleđivanje osobina roditelja, koji su zbog određenih mutacija preživeli ekstremne uslove života (Cowen 2008), na primer razmenom plazmida između bakterija. Rezistentnost bakterija na antibiotike usporava proces lečenja ljudi, a rešenje ovog problema možda leži u sinergističkom efektu antibiotika sa različitim mehanizmima delovanja. Kada je u pitanju kombinovanje antibiotika nameće se pitanje brzine stvaranja rezistentnosti bakterija na sve sastojke te kombinacije.

Moderna istraživanja sinergizma među antibioticima baziraju se na eksperimentalnom kombinovanju antibiotika različitih koncentracija i utvrđivanju efekta na preživljavanje bakterija (Wang *et al.* 2002). Pristupi u istraživanju mogu se zasnivati na periodičnom posmatranju zona inhibicija na osnovu kojih se opisuje „time-kill curve” ili na metodi „chequerboard”. Sinergizam se određuje po tačno definisanim kriterijumima (Wang *et al.* 2002).

Aminoglikozidi su bazni oligosaharidi glikozidnog karaktera i dobijaju se iz streptomyceta. Spektar antimikrobnog dejstva aminoglikozida zahvata prvenstveno Gram negativne bakterije u koje spadaju *Acinetobacter*, *Pseudomonas* i enterobakterije (Varagić i Milošević 1987), poput većine sojeva *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. Ukoliko su bakterijski sojevi rezistentni na aminoglikozide, baktericidni efekat aminoglikozida se može postići u kombinaciji sa penicilinima (Lowy *et al.* 1983; Sande i Irvin 1974). Mehanizam antibakterijskog delovanja aminoglikozida na bakterije zasniva se na ireverzibilnoj inhibiciji sinteze proteina u ribozomima, čime dolazi do poremećenog metabolizma kompletne ćelije.

---

*Hristina Zlateska (1991), Beograd, Bulevar Zorana Đinđića 18, 11000 Beograd, učenica 4. razreda Matematičke gimnazije u Beogradu*

*MENTOR: Jelena Savić, dipl. biolog*

Penicilini su jedinjenja koja poseduju kao „jezgro” 6-aminopenicilinsku kiselinu. Aktivni centar penicilina leži u beta-laktamskom prstenu. Baktericidno dejstvo penicilina ispoljava se u sprečavanju sinteze mureina u fazi izgradnje ćelijskog zida bakterija (Varagić i Milošević 1987). Samim tim, bakterije u stanju mirovanja imune su na dejstvo ovog antibiotika, te pri tretmanu patogenih sojeva ne treba kombinovati peniciline sa bakteriostatskim lekovima.

**Cilj** ovog istraživanja je ispitivanje i opis sinergističkog efekta aminoglikozidnih i penicilinskih antibiotika na soj bakterija *Staphylococcus epidermidis*.

## Materijal i metode

Za utvrđivanje sinergizma između aminoglikozidnih i penicilinskih antibiotika izabrana je metoda „chequerboard” (Wang *et al.* 2002). Antibiotici su bili dostupni u obliku sterilnih diskova od filter papira sa tačno određenim koncentracijama antibiotika. Od aminoglikozidnih antibiotika u ovom eksperimentu korišćeni su gentamicin (koncentracije 10 mcg), streptomycin (10 mcg) i amikacin (30 mcg), a od penicilinskih antibiotika penicilin (10 U), ampicilin (10 mcg) i amoksicilin (25 mcg). Penicilinski antibiotici koji su korišćeni u ovom eksperimentu spadaju u peniciline proširenog spektra dejstva. Pogodni su za farmakodinamijska istraživanja sinergističkih efekata sa drugim antibioticima (Van Bambeke 1999). Bakterijski soj *Staphylococcus epidermidis* dobijen je sa Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Hranljivi agar (proizvođača HIMEDIA Laboratories, kategorija M001, Nutrient Agar) je sterilisan u autoklavu na temperaturi od 121°C pod pritiskom 120 kPa, tokom 20 minuta. Podloga je zatim razlivena u Petrijeve šolje, ostavljene u termostatu preko noći radi utvrđivanja sterilnosti. Na sterilne podloge staklenim štapićem razmazano je 0.1 mL prekonocne bakterijske kulture *Staphylococcus epidermidis*. Na obeleženim mestima na podlogama su stavljan po tri mozaik-tablete. Svaki antibiotski disk sterilnim skalpelom je podeljen na četiri dela i sklapana je mozaik-tableta od unakrs spojenih četvrtina dva različita tipa antibiotika. Kontrolnim grupama utvrđivana su delovanja pojedinačnih antibiotika na bakterije. Izvršena su tri ponavljanja svih grupa.

Podloge sa antibioticima stavljene su na inkubaciju 18 h u termostatu na temperaturu 37°C. Nakon inkubacije mereni su prečnici zona inhibicija oko svake tablete. Radi preciznijih rezultata biocidnog dejstva antibiotika na bakterijske kulture merena su po dva poluprečnika svih ponavljanja i računata je srednja vrednost svih merenja. T-testom je proverena različitost među parovima poluprečnicima zona inhibicija.

## Rezultati i diskusija

Svi antibiotici i njihove kombinacije imale su efekat na smanjenje rasta bakterijskih kolonija – oko svake tablete uočena je zona inhibicije. Srednje vrednosti izmerenih poluprečnika zona inhibicija za svaki antibiotik, kao i za kombinacije antibiotika, predstavljene su u tabeli 1. Na osnovu poređenja poluprečnika zone inhibicije sa referentnim vrednostima, pokazana je: a) rezistentnost uzgojene bakterijske kulture na ampicilin, amoksicilin i penicilin; b) indermedijarna senzitivnost na streptomycin i c) senzitivnost na gentamicin i amikacin.

Tabela 1. Srednje vrednosti poluprečnika zone inhibicije

Antibiotik	Poluprečnik zone inhibicije (mm)
Penicilinski antibiotici	
Ampicilin (Amp)	10.33
Amoksicilin (Amo)	10.17
Penicilin (Pen)	8.64
Aminoglikozidni antibiotici	
Amikacin (Ami)	20.42
Gentamicin (Gen)	18.83
Streptomycin (Str)	14.97
Kombinacije	
Amp + Ami	19.67
Amp + Gen	18.89
Amp + Str	13.17
Amo + Ami	18.89
Amo + Gen	18.50
Amo + Str	11.28
Pen + Ami	18.31
Pen + Gen	17.17
Pen + Str	12.50

Tabela 2. Statistička značajnost razlika među zonama inhibicije.

	Amp+Str	Amp+Gen	Amp+Ami	Amo+Str	Amo+Gen	Amo+Ami	Pen+Str	Pen+Gen
Amp+Gen	0.0000							
Amp+Ami	0.0000	0.0337						
Amo+Str	0.0001	0.0000	0.0000					
Amo+Gen	0.0000	0.4095	0.0091	0.0000				
Amo+Ami	0.0000	1.0000	0.0346	0.0000	0.4095			
Pen+Str	0.1117	0.0000	0.0000	0.0048	0.0000	0.0000		
Pen+Gen	0.0000	0.0134	0.0005	0.0000	0.0610	0.0134	0.0000	
Pen+Ami	0.0000	0.2158	0.0027	0.0000	0.7062	0.2158	0.0000	0.1056

Nijedna kombinacija korišćenih antibiotika nema veće baktericidno dejstvo na soj *Staphylococcus epidermidis* od pojedinačnog aminoglikozidnog antibiotika. Verovatno je dejstvo antibiotika u eksperimentu bilo nezavisno jedan od drugoga, tj. nije došlo do adicije efekata, kao ni do sinergije antibiotika. Može se uočiti, štaviše, neznatno smanjenje prosečnog radijusa zone inhibicije aminoglikozida, što može da ukaže na blago inhibitoran uticaj penicilina na dejstvo aminoglikozida.

Utvrđena je visoka značajnost ( $p < 0.01$ ) razlika među veličinama zona dejstava pojedinačnih antibiotika, izuzev u parovima Amo/Amp i Amo/Pen. Istim testom su utvrđene i razlike među efektima kombinacija antibiotika (tabela 2). Uočava se veoma značajna razlika između efekata penicilinskih antibiotika sa streptomycinom u odnosu na ostale kombinacije. Kombinacije sa streptomycinom su sa najmanjim zonama inhibicije (tabela 1), te kao takve ne mogu biti preporučene za tretiranje infekcija.

## Zaključak

Soj *Staphylococcus epidermidis* pokazao je rezistentnost na penicilinske antibiotike, dok je značajno osetljivije reagovao na antibiotke aminoglikozidnog karaktera. Uočene su značajne razlika među zonama inhibicije za kombinacije antibiotika, pri čemu je utvrđeno da se efekat kombinacije streptomycin sa penicilinskim antibioticima razlikuje u odnosu na sve ostale kombinacije. Kombinacije sa streptomycinom su sa najmanjim zonama inhibicije. Sinergističko dejstvo aminoglikozidnih i penicilinskih antibiotika u ovom eksperimentu nije pokazano, kao ni aditivnost njihovih efekata. Stoga se ne može sa-

vetovati tretman bakterija *Staphylococcus epidermidis* kombinovanjem antibiotika iz grupa penicilina i aminoglikozida.

## Literatura

- Cowen L. E. 2008. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. *Nat. Rev. Microbiol.*, **6** (3): 187.
- Lindblad W. J. 2008. Considerations for Determining if a Natural Product Is an Effective Wound-Healing Agent. *International Journal of Lower Extremity Wounds*, **7** (2): 75.
- Lowy F. D., Chang D. S., Lash P. R. 1983. Synergy of combinations of vancomycin, gentamicin, and rifampin against methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **23** (6): 932.
- Sande M. A., Irvin R. G. 1974. Penicillin-Aminoglycoside Synergy in Experimental Streptococcus viridans Endocarditis. *The Journal of Infectious Diseases*, **129** (5): 572.
- Van Bambeke F. 1999. Mechanisms of action. U *Infectious diseases* (ur. D. Armstrong i J. Cohen). London: Mosby, str. 7/1.1-7/1.14.
- Varagić V., Milošević M. 1987. *Farmakologija*. Beograd-Zagreb: Medicinska knjiga
- Waksman S. A. 1947. What Is an Antibiotic or an Antibiotic Substance?. *Mycologia*, **39** (50): 565.
- Wang J. Z. Y., Nightingale C. H., Sweeney K. S., Xi N. Z., Wang D. M. 2002. An approach for the evaluation of synergy between antimicrobials. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **21**: 274.

---

Hristina Zlateska

## Synergistic Effect Between Aminoglycoside and Penicillin Antibiotics on *Staphylococcus epidermidis*

A synergistic effect is defined as two or more agents working together to produce a result which differs from the independent effect of each of them. If frequently used, bactericidal properties of antibiotics are lowered. Modern studies show that there are

possibilities of a synergistic effects between antibiotics, which may partly be a solution in treating developed bacterial resistance. The experiment covered aminoglycoside and penicillin antibiotics. Ampicillin, amoxicillin, penicillin (penicillins) and streptomycin, gentamicin, and amikacin (aminoglycosides) were used. The study was conducted in vitro by “checkerboard” method. The treated *Staphylococcus epidermidis* was incubated, after which the zone of inhibition around each antibiotic disc was measured. Neither synergistic, nor cumulative effects were found. Therefore, the combination of these two antibiotic types is not recommended in clinical treatments of *Staphylococcus epidermidis*. 