

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

**Baktericidní a bakteriostatický účinek kombinace  
paroxetinu nebo fluoxetinu s tetracyklinem nebo  
nalidixinem**

**(rigorózní práce)**

Hradec Králové, 2008

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 Klemerovi, 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

<b>OBSAH</b> .....	<b>3</b>
<b>1 SOUHRN</b> .....	<b>5</b>
<b>2 ABSTRACT</b> .....	<b>6</b>
<b>3 ZKRATKY</b> .....	<b>7</b>
<b>4 ÚVOD</b> .....	<b>8</b>
<b>5 TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>9</b>
5.1 SSRI.....	9
5.1.1 <i>Obecná charakteristika SSRI</i> .....	9
5.1.2 <i>Mechanismus účinku SSRI</i> .....	9
5.1.3 <i>Farmakokinetika SSRI</i> .....	10
5.1.4 <i>Antimikrobní účinek psychotropních látek</i> .....	11
5.1.5 <i>Mechanismus antimikrobních účinků SSRI</i> .....	12
5.1.6 <i>Kombinované antimikrobní účinky SSRI a ATB</i> .....	12
5.2 ANTIBAKTERIÁLNÍ LÁTKY.....	14
5.2.1 <i>Chinolony</i> .....	14
5.2.2 <i>Tetracykliny</i> .....	15
5.3 BAKTERICIDNÍ A BAKTERIOSTATICKÉ ÚČINKY.....	16
5.4 BAKTERIÁLNÍ KMENY.....	17
5.4.1 <i>Escherichia coli</i> .....	17
5.4.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
5.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
5.4.4 <i>Bacillus subtilis</i> .....	20
5.5 TESTOVÁNÍ KOMBINOVANÉHO ÚČINKU ANTIBIOTICKÝCH LÁTEK.....	21
5.5.1 <i>Metoda checkerboard</i> .....	21
5.5.2 <i>Hodnocení výsledků kombinovaného účinku dvou látek</i> .....	25
<b>6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>27</b>
6.1 MATERIÁL.....	27
6.1.1 <i>Bakteriální kmeny</i> .....	27
6.1.2 <i>Roztoky, činidla, média</i> .....	27
6.1.3 <i>Pomůcky a přístroje</i> .....	28
6.2 PRACOVNÍ POSTUP.....	28
6.2.1 <i>Příprava živného média</i> .....	28
6.2.2 <i>Příprava živného média s antimikrobní látkou</i> .....	29
6.2.3 <i>Postup při průkazu kombinovaného antimikrobního účinku</i> .....	29
6.2.4 <i>Postup při přeočkování</i> .....	33
6.3 VYJÁDRĚNÍ VÝSLEDKŮ.....	33
<b>7 VÝSLEDKY</b> .....	<b>40</b>
7.1 KMENY CCM.....	40
7.1.1 <i>Escherichia coli CCM</i> .....	41
7.1.2 <i>Staphylococcus aureus CCM</i> .....	42
7.1.3 <i>Bacillus subtilis CCM</i> .....	43
7.1.4 <i>Pseudomonas aeruginosa CCM</i> .....	44

7.2	KMENY IZOLOVANÉ OD PACIENTŮ.....	46
7.2.1	<i>Escherichia coli</i> .....	46
7.2.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	49
<b>8</b>	<b>DISKUSE.....</b>	<b>51</b>
8.1	KMENY CCM.....	51
8.1.1	<i>Escherichia coli</i> CCM.....	52
8.1.2	<i>Staphylococcus aureus</i> CCM.....	53
8.1.3	<i>Bacillus subtilis</i> CCM .....	54
8.1.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CCM .....	55
8.2	KMENY IZOLOVANÉ OD PACIENTŮ.....	56
8.2.1	<i>Escherichia coli</i> .....	56
8.2.2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	58
<b>9</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>60</b>
<b>10</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA .....</b>	<b>61</b>
	<b>PŘÍLOHY.....</b>	<b>64</b>

# 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 a to po 24, 48 hodinách a 48 hodin po přeočkování. 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 vykazoval fluoxetin, paroxetin i nalidixin baktericidní účinky, zatímco tetracyklin většinou účinky bakteriostatické.

Časový vliv na změnu typu antimikrobní interakce se projevil výjimečně - u *E. coli* CCM a *Pseudomonas aeruginosa* 417 (u obou kmenů kombinace tetracyklin-paroxetin i tetracyklin-fluoxetin), kde došlo k růstu CRIC; u *E. coli* 2468 (tetracyklin-fluoxetin) zase naopak ke znatelnému poklesu CRIC.

Nezaznamenaly jsme žádný případ, kdy se antimikrobní účinek SSRI nebo ATB změnil v přítomnosti druhé látky z bakteriostatického na baktericidní a to ani u kmenů CCM ani u izolovaných kmenů.

SSRI se projeví jako antimikrobní látky s baktericidními účinky, jejich interakce s tetracyklinem nebo nalidixinem měla nejčastěji adiční charakter, který nebyl závislý na čase.

## 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 after 24 hours, 48 hours and 48 hours after reinoculation. We have 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.

Fluoxetine, paroxetine and nalidixic acid have had bactericidal effect against either CCM strains or tetracycline-resistant strains. Mostly tetracycline has had bacteriostatic effect.

We have rarely observed a time-dependent change in antimicrobial interaction (tetracycline-paroxetine and tetracycline-fluoxetine against *E. coli* CCM and *Pseudomonas aeruginosa* 417, where the CRIC has risen; tetracycline-fluoxetine against *E. coli* 2468, where CRIC has fallen)

We haven't observed any case, where the bacteriostatic effect of SSRIs or antibiotics has changed into bactericidal during presence of another substance.

SSRIs have shown as antimicrobial substances with bactericidal effect. In most cases addition has been the type of their interaction with tetracycline or nalidixic acid. This interaction hasn't been time-dependent.

### **3 ZKRATKY**

- ATB** – léčiva s antibiotickými účinky
- CCM** – Česká sbírka mikroorganismů
- CRIC** – koeficient relativních inhibičních koncentrací
- CRIC24** – koeficient relativních inhibičních koncentrací vypočtený z hodnot odečtených 24 hodin po inokulaci
- CRIC48** – koeficient relativních inhibičních koncentrací vypočtený z hodnot odečtených 48 hodin po inokulaci
- CRICp** – koeficient relativních inhibičních koncentrací vypočtený z hodnot odečtených 48 hodin po přeočkování
- DMSO** – dimethylsulfoxid
- FIC** – inhibiční koncentrační index (fractional inhibitory concentration)
- FLU** – fluoxetin, SSRI antidepresivum
- MHB** – Mueller-Hintonův bujón
- MIC** – minimální inhibiční koncentrace
- MIC24** – minimální inhibiční koncentrace, hodnota odečtená 24 hodin po inokulaci
- MIC48** – minimální inhibiční koncentrace, hodnota odečtená 48 hodin po inokulaci
- MICp** – minimální inhibiční koncentrace, hodnota odečtená 48 hodin po přeočkování
- NAL** – nalidixin (kyselina nalidixová), antibiotikum
- PAR** – paroxetin, SSRI antidepresivum
- RNA** – ribonukleová kyselina
- SSRI** – selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu
- TET** – tetracyklin, antibiotikum

## 4 ÚVOD

Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu stále patří mezi velmi nadějně skupiny léčiv a to nejen jako moderní antidepresiva, ale také jako látky užívané při antimikrobní terapii.

SSRI totiž vykazují nejen vlastní antimikrobní aktivitu, ale mají i schopnost potencovat antimikrobní účinky jiných ATB. Na stále větší počet běžných antibiotik vzniká u mikroorganismů rezistence. Proto je důležitý nejen vývoj nových léčiv, ale také možnost potenciace stávajících ATB jinými látkami. Oba tyto předpoklady SSRI splňují.

Přestože výzkum SSRI v oblasti antimikrobní terapie probíhá již řadu let, mechanismus účinku ještě není dostatečně objasněn. Zajímavostí jsou nová analoga SSRI, která ztrácí antidepresivní účinky, avšak antimikrobní účinky u nich zůstávají zachovány.

Náš výzkum se zaměřil jednak na vlastní antimikrobní účinky dvou SSRI (paroxetinu a fluoxetinu), jednak na možnou potenciaci účinků v kombinaci s ATB (tetracyklinem nebo nalidixinem).

Cílem naší práce bylo stanovit, jakým typem antimikrobního účinku působí na bakteriální kmeny SSRI – zda baktericidně či bakteriostaticky – a určit typ antimikrobního účinku u vybraných ATB.

Z předchozí studie jsme znali typ antimikrobní interakce mezi SSRI a ATB, kterou vykazovala 48 hodinová kultivace bakteriálních kmenů. Předpokládali jsme, že tato interakce se v průběhu kultivace mohla měnit, proto jsme se zabývali stanovením vzájemné interakce obou látek po 24 hodinové kultivaci. Naším cílem bylo porovnáním těchto výsledků zjistit, zda v průběhu kultivace dochází ke změně typu antimikrobní interakce či nikoliv.

Dále nás zajímalo, zda u ATB v přítomnosti SSRI (či SSRI v přítomnosti ATB) dojde ke změně antimikrobního účinku z bakteriostatického na baktericidní. Zatímco v běžné praxi by byl terapeutický prospěch zanedbatelný, u imunodeficitních pacientů či pacientů s imunosupresivní terapií je rozdíl mezi inhibicí množení a usmrcením bakterie již klinicky významný.



## 5 TEORETICKÁ ČÁST

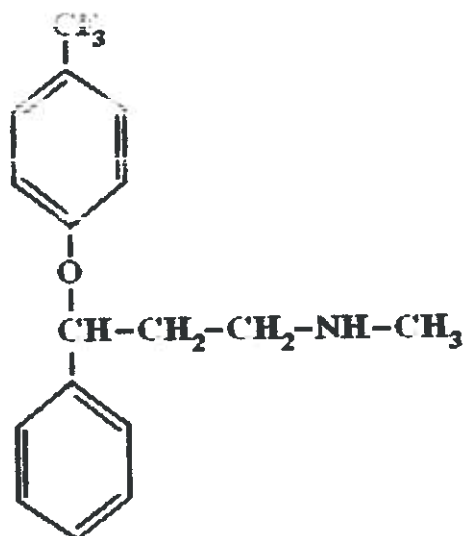
### 5.1 SSRI

#### 5.1.1 Obecná charakteristika SSRI

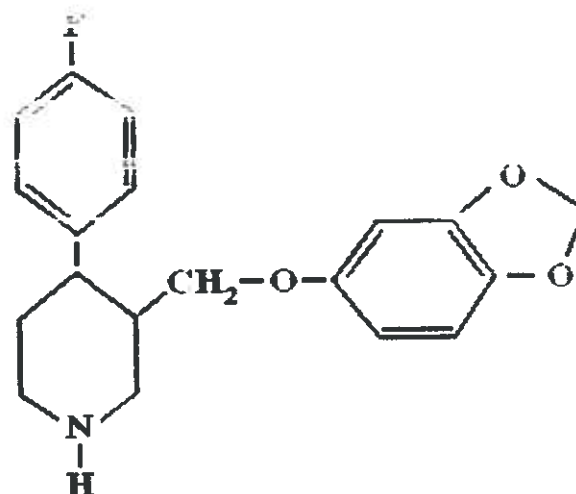
SSRI neboli selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu patří do třetí generace antidepresiv. Používají se nejen při léčbě různých typů depresí, ale s úspěchem jsou podávány také při bulimii, anxietě, sociální fobii, posttraumatických poruchách, premenstruální dysforii aj. (Lincová a kol., 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 tricycklickými antidepresivy. Nemají však afinitu k adrenergním  $\alpha$ -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 zpomalené. Fluoxetin má nízkou biodostupnost díky presystémové eliminaci, maximální plazmatické koncentrace dosahuje za šest až osm hodin po perorálním podání. Vstřebávání sertralínu 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 sertralínu 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-Flori 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, fluorochinolony 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. Podobných výsledků dosáhla studie (Khairul a kol., 2006), namísto citalopramu však použili fluoxetin.

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.

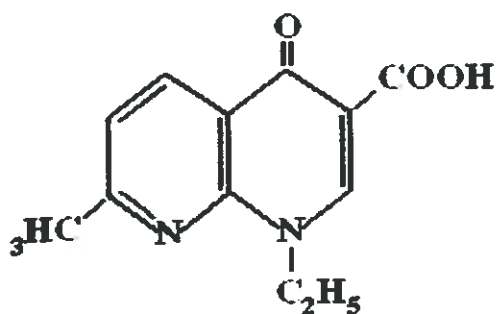
Obě námi vybrané ATB látky (tetracyklin, nalidixin) byly dlouho používány v praxi, takže existuje řada kmenů na tyto látky rezistentní. Naším cílem nebylo jen prokázat interakce mezi SSRI a ATB, ale také zjistit, zda-li se u rezistentních kmenů znatelně nezvýší citlivost bakterií na dané ATB.

### **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 fluorochinolony (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



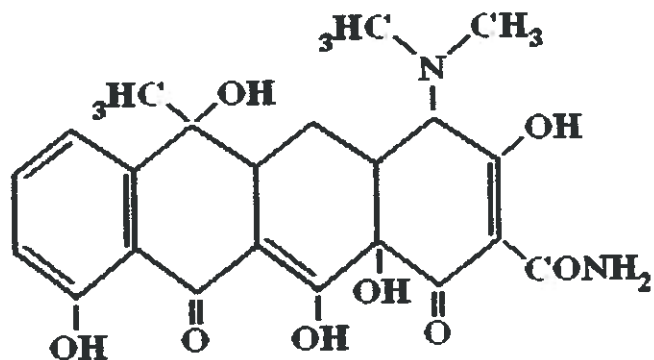
### 5.2.2 Tetracykliny

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 Baktericidní a bakteriostatické účinky**

Pokud chemická látka inhibuje další množení mikroorganismu (v našem případě bakterii), mluvíme o bakteriostatických účincích. Většinou takto působí látky, které narušují proteosyntézu. Mezi antimikrobní látky, které působí převážně bakteriostaticky patří tetracykliny, makrolidy nebo sulfonamidy (Lüllman a kol., 2002).

Druhou skupinu antimikrobních látek tvoří látky, které způsobí usmrcení mikroorganismu (bakterie), jejich účinek je označován jako baktericidní. Mechanismem účinku bývá poškození buněčné stěny či bakteriální membrány, ale může to být také zásah do proteosyntézy, který vede např. k tvorbě defektních membránových proteinů. Do této skupiny jsou řazeny peniciliny, cefalosporiny či aminoglykosidy (Lüllman a kol., 2002).

V praxi většinou není důležité, zda má látka baktericidní či bakteriostatické účinky, protože inhibice množení mikroorganismů obvykle dostačuje k dosažení terapeutického efektu. Rozdíl mezi bakteriostatickými a baktericidními účinky se však může projevit u imunosupresivních jedinců, kde bývá bakteriostatický účinek nedostatečný.

Při kultivaci bakterie v mikrotitrační destičce nejsme schopni rozlišit, zda-li v přítomnosti antibiotika došlo k inhibici růstu nebo k usmrcení mikroorganismu. Proto se využívá metoda dvou měření – nejprve se bakterie nechají kultivovat v přítomnosti antimikrobní látky a poté se přeočkují do nové mikrotitrační destičky bez přítomnosti antimikrobních látek, kde mohou růst všechny bakterie, které během předchozí kultivace nebyly usmrceny (tedy i ty které měly v přítomnosti antibiotika inhibovaný růst). Takto se získají dvě různé MIC (příp. celé růstové křivky) pro danou látku, jejichž porovnáním se zjistí, zda se jedná o účinek bakteriostatický či baktericidní.



## 5.4 Bakteriální kmeny

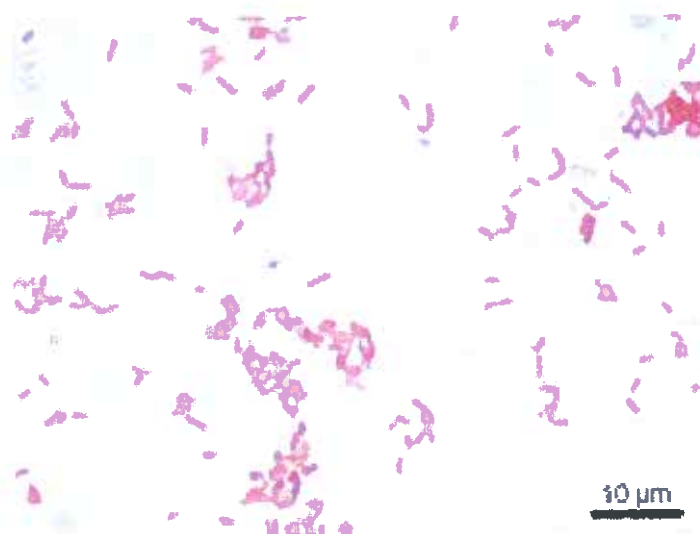
*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis* patří mezi bakterie, s kterými se lidský organismus běžně setkává, některé ho dokonce mohou kolonizovat, aniž by způsobily poškození organismu. Při oslabení imunitního systému, poškození sliznic či pokožky, po operacích nebo při transplantacích však mohou způsobit závažné infekce.

Obrázky jsou převzaty (Wikipedia, 2007).

### 5.4.1 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* je fakultativně anaerobní gramnegativní tyčka, která se hojně vyskytuje v intestinálním traktu člověka a je důležitou součástí střevní mikroflóry. Kromě intestinálních infekcí provázených průjmy může způsobit infekce močových cest, septická onemocnění, pneumonie či infekce ran. Slouží jako modelový organismus v genetice a mikrobiologii, využívá se v biotechnologiích, ale může sloužit také jako indikátor fekálního znečištění pitné vody.

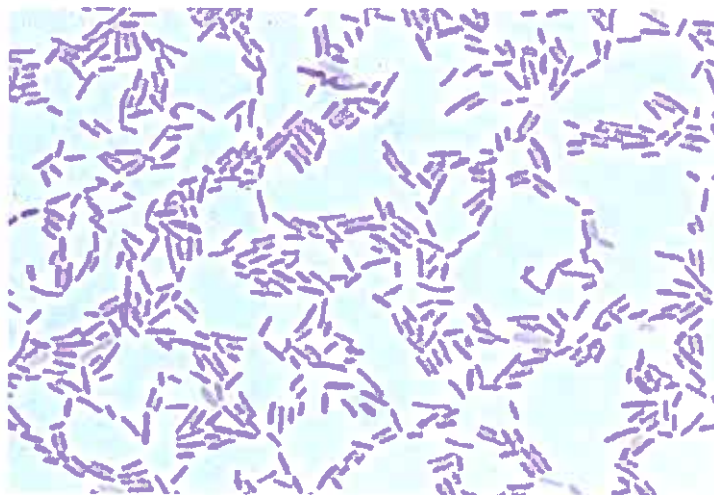
**Obrázek 1** *Escherichia coli*, barvení dle Grama



### 5.4.2 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* je gramnegativní tyčka, nemá pouzdro, někdy je však obalena slizovou vrstvou. Patogenitu podmiňuje řada faktorů: lipopolysacharidový komplex, extracelulární polysacharid u mukoidních kmenů, extracelulární proteolytické enzymy (štěpí fibrin, elastin, kolagen), produkce cytotoxinů. Způsobuje záněty močových a dýchacích cest, meningitidu, sepse, záněty středního ucha. Nebezpečné jsou infekce *Pseudomonas aeruginosa* u pacientů s rozsáhlými popáleninami, cystickou fibrózou, po očních operacích (mohou způsobit slepotu) a samozřejmě u imunosupresivních pacientů. Je značně rezistentní vůči antibiotikům. Silně rezistentní kmeny jsou příčinou řady tzv. nemocničních infekcí a kontaminují dýchací přístroje, katetry aj.

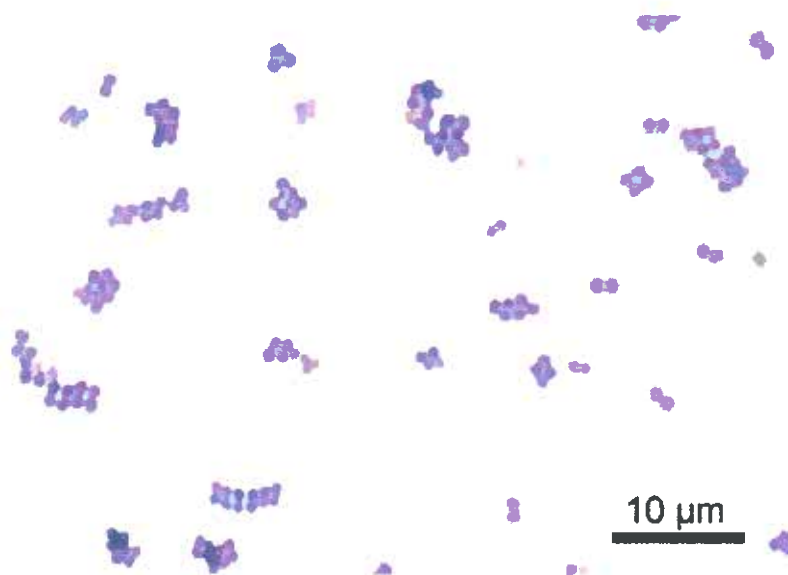
**Obrázek 2** *Pseudomonas aeruginosa*, barvení dle Grama



### 5.4.3 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* je grampozitivní nesporeující a většinou neopouzdřený kok. Kolonizuje člověka již v prvních dnech života, běžně se vyskytuje na pokožce a sliznicích respiračního i gastrointestinálního traktu. K onemocnění dochází při oslabení obranných schopností a při poruše integrity kůže a sliznic. *Staphylococcus aureus* produkuje řadu extracelulárních proteinů např. hemolyzin, plasmakoagulázu, hyaluronidázu či toxin toxického šokového syndromu. Způsobuje enterotoxikózy v intestinální oblasti, exfoliativní dermatitidy u invazivních infekcí vznikají většinou ohraničené léze. Většina kmenů je odolná vůči „klasickým“ penicilinům díky produkci beta-laktamáz, existují i kmeny odolné vůči penicilínázarezistentním penicilinům. V nemocničním prostředí se vyskytují multirezistentní kmeny.

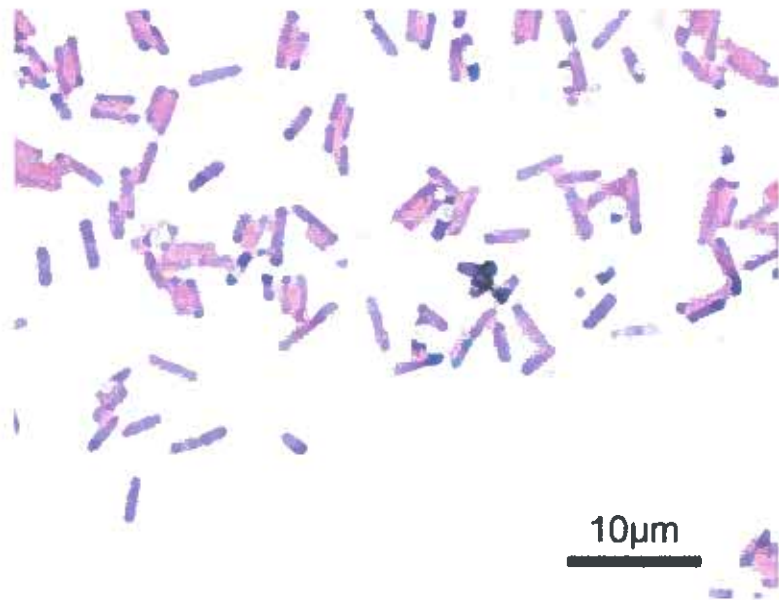
**Obrázek 3** *Staphylococcus aureus*, barvení dle Grama



#### 5.4.4 *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* je grampozitivní tyčinka schopná produkovat termorezistentní spóry, které jí umožňují přežití v extrémních podmínkách. Produkuje proteolytické enzymy např. subtilisin. Patří mezi půdní mikroorganismy, není považován za lidský patogen. Slouží jako modelový organismus v mikrobiologii, využívá se v zemědělství a také biotechnologicky.

**Obrázek 4** *Bacillus subtilis*, barvení dle Grama



## **5.5 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).

### **5.5.1 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:

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

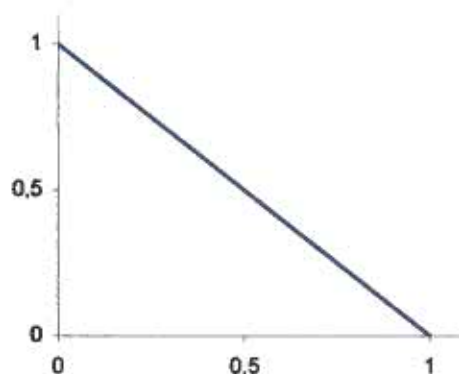
A, B ... nejnižší koncentrace léčiva A či B, které inhibují růst v přítomnosti druhého léčiva  
 MIC<sub>A</sub>, MIC<sub>B</sub> ... minimální inhibiční koncentrace léčiva A či B testované samostatně

**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



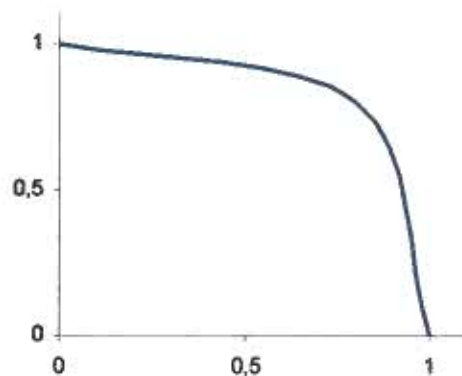
**Tab. 2** Tabulka znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - antagonismus

- ... 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

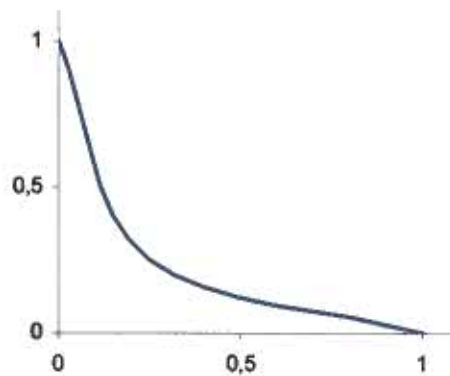


**Tab. 3** Tabulka znázorňující idealizovaný průběh kombinovaného účinku dvou antimikrobních látek - synergismus

- ... 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





## 5.5.2 Hodnocení výsledků kombinovaného účinku dvou látek

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

Doc. Klemerou 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:

$$X = A/MIC_A$$

$$Y = B/MIC_B$$

$A, B \dots$  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

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 resistantní 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 $\mu$ l), m 5000 (500 – 5000 $\mu$ l)

Pipeta Eppendorf research 300 (30 – 300 $\mu$ l)

Pipeta Socorex Calibra 852 (10 – 100 $\mu$ 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 navázili 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 nádobí 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  $\mu$ l), do druhého až dvanáctého sloupce stejný objem samotného MHB média (100  $\mu$ l). Pomocí pipety jsme pak přenášeli polovinu objemu (tedy 100  $\mu$ l) 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  $\mu$ l.

Pokud jsme připravili zásobní médium s koncentrací paroxetinu 1024  $\mu$ g/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 $\mu$ g/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  $\mu$ l 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  $\mu$ l MHB média s různou koncentrací obou látek. Nakonec jsme do každé jamky dané mikrotitrační destičky napipetovali 10  $\mu$ l 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.

Po 24 hodinách jsme destičky vyjmuli z termostatického boxu, odečetli a zaznamenali nárůst ve všech jamkách a destičku opět uložili do termostatického boxu na dalších 24 hodin při teplotě 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	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	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	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	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	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	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	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	0
	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	1/2	0	



#### 6.2.4 Postup při přeočkování

Po 48 hodinové kultivaci, jsme opět odečetli nárůst bakterií ve všech jamkách mikrotitrační destičky a poté jsme provedli přeočkování.

Připravili jsme si novou sterilní mikrotitrační destičku se stejným počtem i velikostí jamek, do každé jamky jsme napipetovali 200 µl samotného MHB média. Z původní destičky jsme pomocí tzv. ježka přenesli bakterie do nově připravené destičky, tak aby svou polohou jamky odpovídaly předchozí destičce. Poté jsme destičku přiklopili sterilním víčkem a uložili do termostatického boxu. Teplota byla opět 37°C. Bakterie jsme nechali 48 hodin kultivovat a poté jsme odečetli nárůst v jednotlivých jamkách.

#### 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 (po přeočkování znamenala čirá jamka usmrcení bakterie). Nárůst nebo inhibice každé jamky jsme zaznamenali po 24 hodinách, po 48 hodinách a 48 hodin po přeočkování do tabulky viz tab. 7.

**Tab. 7** Nárůst mikroorganismů v mikrotitrační destičce (paroxetin a tetracyklin na *Pseudomonas aeruginosa* CCM po 48 hodinách)

- ... 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	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Pro každé měření jsme získali tři tabulky (po 24 hodinách, po 48 hodinách a 48 hodin po přeočkování).

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.

Po přeočkování nebyly v destičce přítomny žádné antimikrobní látky, řádky i sloupce však přesně odpovídaly řádkům a sloupcům v destičce s antimikrobními látkami. Pro vyhodnocení a zaznamenání nárůstu v jamkách destičky po přeočkování jsme použili hodnoty koncentrací v odpovídajících jamkách destičky před přeočkováním. Po přeočkování tedy nejde o koncentrace látek (např. MIC) v pravém slova smyslu, ale v podstatě o souřadnicový systém, který nám umožňuje vzájemně porovnávat odpovídající jamky v destičkách před a po přeočkování. Tento přístup se nám i vzhledem k návaznosti na další výpočty zdál mnohem jednodušší a přehlednější než např. porovnání nárůstu v jamkách pomocí číslování sloupců a řádků.

V tabulce 8 jsou uvedeny koncentrace obou látek (vždy jednoho SSRI antidepresiva a jednoho ATB) a zvýrazněny jsou jamky, které ohraničují plochu nárůstu mikroorganismů. Tyto jamky odpovídají bodům inhibiční křivky a tvar křivky je tedy patrný již z tabulky. Na první pohled se od grafu sice liší, ovšem musíme si uvědomit, že v tabulce a grafu je jiné měřítko (v tabulce rostou hodnoty geometrickou řadou!).

Stejně jako v předchozím případě jsme získali tři tabulky pro jedno měření (po 24 hodinách, po 48 hodinách a 48 hodin po přeočkování).

**Tab. 8** Koncentrace paroxetinu a tetracyklinu v mikrotitační destičce (*Pseudomonas aeruginosa* CCM po 48 hodinách).

Tetracyklin (mg/ml)  
paroxetin (mg/ml)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	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>B</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
<b>C</b>	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
<b>D</b>	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
<b>E</b>	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
<b>F</b>	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
<b>G</b>	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
<b>H</b>	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. Opět jsme pro jedno měření získali tři tabulky, které jsme pro lepší přehlednost a snadnější porovnání výsledků sloučili do tabulky jedné.

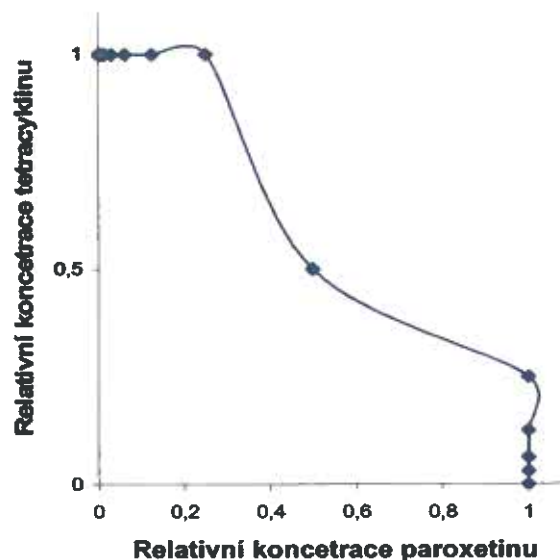
**Tab. 9** Body grafu vyjádřené v násobcích MIC (paroxetin a tetracyklin na *Pseudomonas aeruginosa* CCM)

		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
C <sub>max</sub> (µg/ml)		512	64	512	64	512	64
MIC (µg/ml)		256	32	256	32	512	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1/2	1/4
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/16
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1/2	1/32
	15. bod	1	0	1	0	1/2	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1/2	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0

Hodnoty relativních inhibičních koncentrací SSRI antidepressiv 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 po 48 hodinách)



Pro výpočet koeficientu CRIC byl Doc. Klemerou vytvořen program v MS Excelu, který používal relativní hodnoty koncentrací „hraničních“ bodů (hodnoty koncentrace vztahované 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	$CRIC \geq 2$

Pro vyhodnocení typu antimikrobního účinku ATB nebo SSRI jsme použili srovnání MIC naměřené po 48 hodinách (MIC48) a MIC naměřené po přeočkování (MICp). Zatímco v přítomnosti antimikrobní látky čirá jamka mohla znamenat inhibici i usmrcení bakterie, po přeočkování čirá jamka znamenala, že je bakterie usmrcená. Pokud jsme zaznamenali jamky, které byly před přeočkováním čiré a po přeočkování zakalené, znamenalo to, že bakterie v těchto jamkách měly inhibované dělení před přeočkováním, ale po něm se množily.

Za baktericidní jsme považovali případ kdy, se MIC48 a MICp shodovaly nebo byla MICp maximálně dvakrát vyšší než MIC48 (prakticky to znamenalo, že se nárůst lišil maximálně o jednu jamku). Za bakteriostatické jsme považovali případ, kdy byla MICp nejméně čtyřnásobná oproti MIC48 (lišily se o dvě či více jamek) viz tab. 11.

**Tab. 11** Antimikrobní účinky dle porovnání MIC48 a MICp

typ interakce	rozmezí hodnot MIC
baktericidní účinek	$4x MIC48 > MICp$
bakteriostatický účinek	$4x MIC48 \leq MICp$

Pro vyhodnocení, zda došlo ke změně antimikrobního účinku jsme použili porovnání hodnot MIC48 a MICp a současně porovnání CRIC48 a CRICp. Postupovali jsme podle tohoto předpokladu: Aby látka působila samostatně baktericidně, ale v přítomnosti druhé látky bakteriostaticky, musely by se shodovat její MIC48 a MICp (nebo byla MICp maximálně dvojnásobná oproti MIC48) a zároveň by byl koeficient CRICp podstatně vyšší než CRIC48. Pokud by látka měla působit bakteriostaticky, ale v přítomnosti druhé látky baktericidně, měla by být její MIC48 alespoň čtyřikrát menší než MICp a zároveň by CRIC48 mělo být podstatně vyšší než CRICp. Pokud byl jeden z předpokladů splněn, porovnali jsme inhibiční křivky před a po přeočkování a teprve poté jsme posoudili, zda se skutečně jedná o změnu antimikrobního účinku.

## 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; nalidixin s paroxetinem nebo fluoxetinem).

Růstové (resp. inhibiční) křivky zaznamenané v podobě dvojic hodnot  $x, y$  jsou spolu s hodnotami CRIC koeficientů uvedeny v kapitole 11 (Přílohy) v tabulkách č. 24 - 55.

Srovnáme-li MIC antidepresiv u CCM kmenů, shodovaly se jednotlivé hodnoty odečtené po 24 a 48 hodinách. Pro antibiotika se hodnoty MIC u CCM kmenů s časem měnila, MIC48 byla nejčastěji dvojnásobná oproti MIC24. Nezaznamenali jsme žádný případ, kdy by MIC48 byla nižší než MIC24 a to jak u antibiotik, tak u antidepresiv.

Hodnoty MIC48 a MICp se často lišily o jeden až dva řády v závislosti na druhu mikroorganismu a antibakteriální látky. Hodnoty MIC24, MIC48 a MICp pro antibiotika i antidepresiva jsou uvedeny u jednotlivých kmenů CCM v tabulkách č. 12 až 15.



### 7.1.1 *Escherichia coli* CCM

U kmene *E. coli* jsme nezaznamenali změnu jednotlivých hodnot MIC ATB nebo antidepresiv odečtených po 24 a 48 hodinách.

U kombinace nalidixinu s antidepresivy se typ interakce ve většině případů s časem neměnil. Jedno měření paroxetinu s nalidixinem vykazovalo po 24 hodinách slabý synergismus, po 48 hodinách adici antimikrobních účinků.

U kombinace tetracyklinu s antidepresivy byla změna typu interakce v závislosti na čase ztelnější. Ve všech měřeních došlo ke vzrůstu koeficientu CRIC ( $CRIC_{24} < CRIC_{48}$ ). Zatímco po 24 hodinách se jednoznačně projevila adice antimikrobních účinků, po 48 hodinách převažovala indiference.

Hodnoty MIC antidepresiv se po přeočkování nezměnili. MIC<sub>p</sub> u nalidixinu byla v polovině případů shodná s MIC<sub>48</sub>, v polovině dvojnásobná oproti MIC<sub>48</sub>. MIC<sub>p</sub> u tetracyklinu byla vždy vyšší než příslušná MIC<sub>48</sub> a to buď dvou nebo čtyřnásobně.

Pro kombinaci nalidixinu s antidepresivy odpovídaly hodnoty CRIC<sub>p</sub> hodnotám CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub>, typy interakcí se tedy shodovaly. U kombinace tetracyklinu s antidepresivy ve většině případů platilo, že hodnota CRIC po přeočkování byla vyšší než příslušné hodnoty CRIC naměřené po 24 a 48 hodinách ( $CRIC_{24} < CRIC_{48} < CRIC_p$ ).

**Tab. 12** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *E. coli* CCM

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC (µg/ml)		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	2-8	4-8	4-16
tetracyklin	0,5-1	0,5-1	2
paroxetin	64	64	64
fluoxetin	64	64	64

### 7.1.2 *Staphylococcus aureus* CCM

Hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> antidepresiv se u kmene *S. aureus* shodovaly. MIC<sub>48</sub> antibiotik byly ve většině případů dvojnásobné oproti odpovídajícím MIC<sub>24</sub>.

Kombinace nalidixinu s antidepresivy vykazovala stejný typ interakce po 24 i po 48 hodinách ve všech měřeních kombinace antidepresiv s tetracyklinem pouze v polovině měření, v druhé polovině měření se projevilo snížení CRIC koeficientu (CRIC<sub>24</sub>>CRIC<sub>48</sub>) posunem z antagonismu či indiference na adici.

Zatímco MIC po přeočkování se většinou neměnily u antidepresiv a nalidixinu, u tetracyklinu byly MIC<sub>p</sub> nejméně osmkrát vyšší než MIC<sub>48</sub>.

Typ antimikrobní interakce se u kombinace nalidixinu s SSRI po přeočkování lišil v polovině případů, jednou byl posun od adice směrem k slabému synergismu, v druhém případě byl CRIC<sub>p</sub> naopak vyšší než CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> a posun byl směrem od silného synergismu k slabému.

U kombinace tetracyklinu s antidepresivy byl ve většině případů CRIC<sub>48</sub> nižší než CRIC<sub>p</sub>, zatímco po 48 hodinách od začátku měření převládala adice antimikrobních účinků, po přeočkování vykazaly měření indiferenci či antagonismus.

**Tab. 13** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *S. aureus* CCM

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC (µg/ml)		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	64	128	128
tetracyklin	0,25	0,5	≥4
paroxetin	64-128	64-128	64-128
fluoxetin	64-128	64-128	64-128

### 7.1.3 *Bacillus subtilis* CCM

U kmene *Bacillus subtilis* se hodnoty MIC24 a MIC48 u antidepresiv a tetracyklinu shodovali. MIC48 nalidixinu byla většinou dvakrát vyšší než odpovídající MIC24.

U kombinace nalidixinu s antidepresivy hodnota CRIC24 a CRIC48 odpovídala stejnému typu antibakteriální interakce v polovině případů. V jednom měření paroxetinu s nalidixinem byl koeficient CRIC48 znatelně vyšší než CRIC24, došlo k posunu interakce z adice na antagonismus. U jednoho měření fluoxetinu s nalidixinem byl posun opačný, od indiference k slabému synergismu ( $CRIC24 > CRIC48$ ). U kombinace tetracyklinu s paroxetinem se hodnoty CRIC koeficientu po 24 i po 48 hodinách lišily minimálně, vždy se jednalo o adici antimikrobních účinků obou látek. U kombinace tetracyklinu s fluoxetinem byl ve všech měřeních CRIC24 podstatně nižší než CRIC48, došlo k posunu od silného synergismu k adici.

MICp antidepresiv a tetracyklinu odpovídala příslušným MIC48. U nalidixinu byla MICp nejčastěji dvojnásobná oproti MIC48.

Pokud se hodnoty CRIC24 a CRIC48 u kombinace nalidixinu s antidepresivy lišily minimálně, byla hodnota CRICp vyšší (než CRIC po 24 a 48 hodinách), došlo k posunu interakce od adice k indifferenci či od indiference k antagonismu. Pokud se hodnoty CRIC24 a CRIC48 neshodovaly (hodnoty se lišily i více než o dvojnásobek), byla CRICp blíže CRIC24 a odpovídala stejnému typu interakce.

U kombinace tetracyklinu s antidepresivy byl koeficient CRIC po přeočkování ve většině případů vyšší než CRIC24 či CRIC48. U fluoxetinu s tetracyklinem byly znatelné rozdíly mezi jednotlivými CRIC, v obou měřeních došlo po jednotlivých odečtech k posunu typu interakce od silného synergismu přes adici k indifferenci ( $CRIC24 < CRIC48 < CRICp$ ).

**Tab. 14** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *Bacillus subtilis* CCM

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	4	8	16
tetracyklin	0,25	0,25	0,25
paroxetin	64	64	64
fluoxetin	64	64	64

#### 7.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* CCM

Hodnoty MIC naměřené po 24 a 48 hodinách se u kmenu *Pseudomonas aeruginosa* shodovaly u antidepresiv a tetracyklinu ve všech měřeních. U nalidixinu byla v polovině případů MIC<sub>48</sub> dvou- či čtyřnásobně vyšší než příslušná MIC<sub>24</sub>.

U kombinace nalidixinu s antidepresivy byly hodnoty CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> velmi rozdílné, u jednoho měření došlo ke změně typu antimikrobní interakce ze silného synergismu na slabý ( $\text{CRIC}_{24} < \text{CRIC}_{48}$ ), u dvou měření k opačné změně z indiference na adici či z adice na slabý synergismus ( $\text{CRIC}_{24} < \text{CRIC}_{48}$ ). U tetracyklinu v kombinaci s antidepresivy byly CRIC<sub>24</sub> většinou nižší než CRIC<sub>48</sub>, ale ve všech měřeních to nemělo vliv na typ antimikrobní interakce.

U antidepresiv se MIC<sub>p</sub> oproti MIC<sub>48</sub> lišila pouze v jediném měření (MIC<sub>p</sub> byla dvakrát vyšší než MIC<sub>48</sub>). U nalidixinu byly hodnoty MIC<sub>p</sub> většinou dvojnásobně vyšší než MIC<sub>48</sub>, u tetracyklinu nejméně čtyřnásobně vyšší.

U tetracyklinu v kombinaci s antidepresivy se hodnoty CRIC<sub>48</sub> téměř neměnily a vykazovaly vždy adici. Zatímco hodnoty CRIC<sub>p</sub> u kombinace s fluoxetinem se s těmito hodnotami CRIC<sub>48</sub> přibližně shodovaly, u kombinace s paroxetinem byl koeficient CRIC<sub>p</sub> v jednom měření nižší, podruhé vyšší než CRIC<sub>48</sub>, takže namísto adice vykazoval jak slabý synergismus, tak v druhém případě indiferenci.

**Tab. 15** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *Pseudomonas aeruginosa* CCM

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	256-512	512	512-1024
tetracyklin	32	32	$\geq 128$
paroxetin	256	256	256
fluoxetin	256	256	256

## 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  $\mu\text{g/ml}$ , u *Pseudomonas aeruginosa* byly hodnoty MIC dokonce vyšší než 4096  $\mu\text{g/ml}$  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 izolované kmeny *E. coli* a *Pseudomonas aeruginosa* uvedeny v kapitole 11 (Přílohy) v tabulkách č. 56 - 97.

V tabulkách č. 16 až 23 je uveden přehled hodnot MIC antibiotik i SSRI antidepresiv u jednotlivých kmenů *E. coli* a *Pseudomonas aeruginosa*.

### 7.2.1 *Escherichia coli*

Hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> byly totožné v naprosté většině případů. U paroxetinu a fluoxetinu se nelišily v žádném měření, u nalidixinu v jednom měření u kmene *E. coli* 2468 (MIC<sub>24</sub> měla poloviční hodnotu než MIC<sub>48</sub>), u tetracyklinu také v jednom měření u stejného kmene *E. coli* 2468 (MIC<sub>24</sub> však byla dvojnásobně vyšší než příslušná MIC<sub>48</sub>).

Koeficienty CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> se u kombinace nalidixinu s antidepresivy shodovaly v naprosté většině případů, pouze ve dvou měřeních se lišily tak, aby vykazovaly jiný typ interakce - u kmene *E. coli* 2468 a to v jednom měření s fluoxetinem (posun od adice k slabému synergismu) a v jednom s paroxetinem (posun od adice k indifferenci). U kombinace tetracyklinu s paroxetinem jsme nezaznamenaly změnu koeficientu CRIC měřeného po 24 a 48 hodinách, zatímco u tetracyklinu s fluoxetinem byly hodnoty CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> odlišné u dvou kmenů. U kmene *E. coli* 4208 CRIC s časem rostl (od adice k indifferenci), u kmene *E. coli* 2468 naopak s časem klesal (od adice k slabému synergismu nebo od indifferenci k adici).

U paroxetinu byly jednotlivé MIC48 a MICp totožné, zatímco u fluoxetinu se lišily v pěti měřeních (z celkového počtu 16 měření), kde hodnota MIC24 byla poloviční oproti MIC48. Byla to dvě měření u *E. coli* 4208, dvě u *E. coli* 4290 a jedno u *E. coli* 2468. U nalidixinu se v hodnotách MIC48 a MICp lišila jen dvě měření - *E. coli* 4290 a *E. coli* 2468 – v obou případech byla MIC48 dvakrát nižší než MICp. U tetracyklinu byly jednotlivé hodnoty MIC48 a MICp shodné.

K významnějšímu poklesu hodnoty CRIC po přeočkování u kombinace nalidixinu s antidepresivou došlo u jednoho měření kmene *E. coli* 4208 (nalidixin-fluoxetin), typ interakce se změnil z adice na slabý synergismus, a u všech tří měření kmene *E. coli* 2468 (nalidixin-fluoxetin, nalidixin-paroxetin; posun z indiference na slabý synergismus, nebo ze slabého na silný synergismus). Vzrůst hodnoty CRIC po přeočkování jsme zaznamenaly pouze u jednoho měření *E. coli* 4290 a to u kombinace nalidixinu s paroxetinem, posun interakce byl od adice k indifferenci.

U kombinace tetracyklinu s paroxetinem se u všech čtyř kmenů *E. coli* lišily koeficienty CRIC48 a CRICp jen nepatrně a ve všech měřeních vykazovaly stejný typ interakce. Obdobné výsledky se projevily u kombinace tetracyklinu s fluoxetinem pouze u kmene *E. coli* 4180 a *E. coli* 2468. Rozdíly v příslušných hodnotách CRIC48 a CRICp se projevily v jednom měření u kmene *E. coli* 4208, kde po přeočkování došlo ke snížení CRIC (z indiference na adici), a u kmene *E. coli* 4290, kde po přeočkování také došlo ke snížení CRIC (z adice na slabý synergismus).

**Tab. 16** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *E. coli* 4180

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	$\geq 4096$	$\geq 4096$	$\geq 4096$
tetracyklin	128-256	128-256	128-256
paroxetin	64	64	64
fluoxetin	64	64	64

**Tab. 17** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *E. coli* 4208

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	$\geq 4096$	$\geq 4096$	$\geq 4096$
tetracyklin	128	128	128
paroxetin	64	64	64
fluoxetin	64	64	64-128

**Tab. 18** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *E. coli* 4290

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	1024	1024	1024-2048
tetracyklin	512	512	512
paroxetin	64	64	64
fluoxetin	64	64	128

**Tab. 19** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *E. coli* 2468

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
nalidixin	2048	2048-4096	2048-4096
tetracyklin	256	256	256
paroxetin	128	128	128
fluoxetin	64-128	64-128	64-128



### 7.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Jednotlivé MIC naměřené po 24 a 48 hodinách se shodovaly u paroxetinu ve všech měřeních, u fluoxetinu se lišily pouze u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421, MIC<sub>24</sub> byla poloviční oproti MIC<sub>48</sub>. U tetracyklinu byla u všech čtyř kmenů *Pseudomonas aeruginosa* MIC<sub>24</sub> vždy poloviční než příslušná MIC<sub>48</sub>.

Typ antimikrobní interakce tetracyklinu s antidepresivem se při odečtech po 24 a 48 hodinách neměnil u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400 a 448. U kmene *Pseudomonas aeruginosa* 417 byl koeficient CRIC<sub>48</sub> vždy vyšší než CRIC<sub>24</sub>, takže došlo ke změně interakce ze silného synergismu na adici (paroxetin-tetracyklin) a z adice na indiferenci (fluoxetin-tetracyklin). U kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421 se u kombinace tetracyklin-paroxetin neprojevil výrazný rozdíl mezi CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub>, u tetracyklinu s fluoxetinem došlo k poklesu CRIC<sub>48</sub> oproti CRIC<sub>24</sub>, místo adice se projevil slabý synergismus.

Po přeočkování se MIC antidepresiv většinou nezměnila. Rozdílné hodnoty MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> jsme pozorovali u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400 (paroxetin i fluoxetin), *Pseudomonas aeruginosa* 417 (fluoxetin) a *Pseudomonas aeruginosa* 448 (fluoxetin). U tetracyklinu se MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> lišily ve všech měřeních. MIC<sub>p</sub> byla dvakrát vyšší než MIC<sub>48</sub> u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 448, u ostatních kmenů byla nejméně čtyřikrát vyšší.

Po přeočkování se u kombinace tetracyklinu s antidepresivem shodovaly CRIC<sub>48</sub> a CRIC<sub>p</sub> jen vzácně. Většinou se koeficient znatelně změnil, došlo k jeho poklesu (CRIC<sub>48</sub>>CRIC<sub>p</sub>) a změně typu antimikrobní interakce – u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400 z adice na slabý či silný synergismus, u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 417 z adice či indiference na synergismus, u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421 pouze u poloviny měření z adice na slabý synergismus, či ze slabého na silný synergismus, u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421 v kombinaci tetracyklinu s fluoxetinem opět z adice na slabý synergismus. U jednoho měření kombinace tetracyklinu s paroxetinem u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421 byl CRIC<sub>p</sub> vyšší než CRIC<sub>48</sub>, místo slabého synergismu se po přeočkování projevila adice antimikrobních účinků.

**Tab. 20** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
tetracyklin	32	64	128
paroxetin	256	256	512
fluoxetin	256	256	256-512

**Tab. 21** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 417

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
tetracyklin	32	64	$\geq 256$
paroxetin	512	512	512
fluoxetin	256	256	256-512

**Tab. 22** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 421

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
tetracyklin	16	32	$\geq 256$
paroxetin	512	512	512
fluoxetin	256	512	512

**Tab. 23** Hodnoty MIC antibakteriálně působících látek stanovené v různých časech u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 448

antimikrobně působící látka	hodnoty MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	po 24 hod	po 48 hod	48 hod po přeočkování
tetracyklin	32	64	$\geq 256$
paroxetin	512	512	512
fluoxetin	256	256	512

## 8 DISKUSE

### 8.1 Kmeny CCM

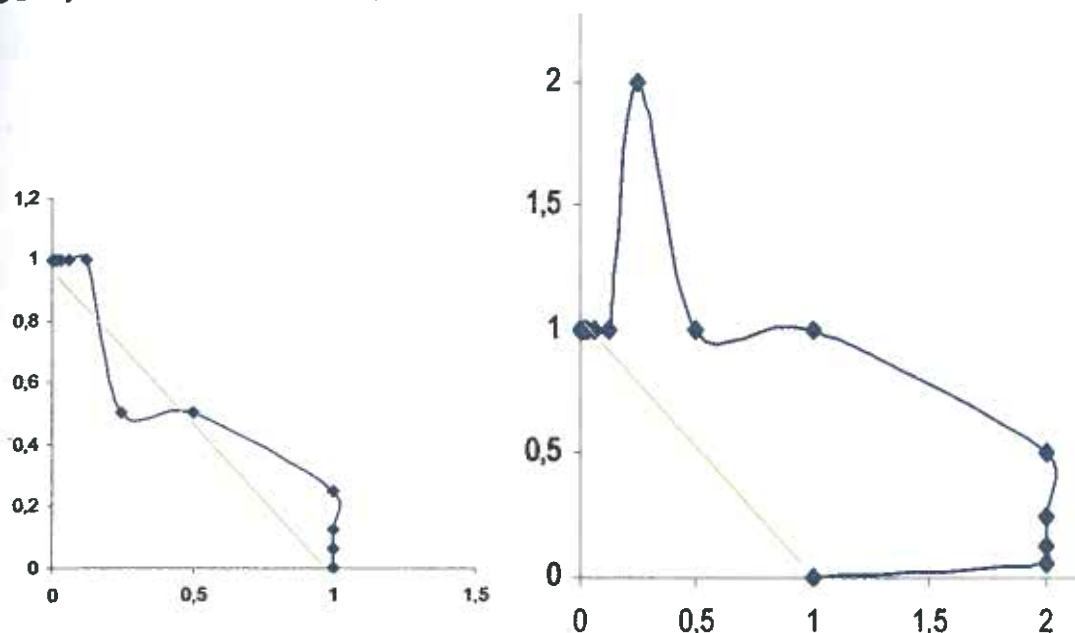
Porovnali jsme hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> antimikrobních látek, u antidepresiv se téměř bez výjimky shodovaly, u antibiotik se lišily častěji, ovšem maximálně o dvojnásobek své hodnoty. Pokud se MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> neshodovaly, byla MIC<sub>48</sub> vždy vyšší (u kmenů CCM maximálně dvakrát vyšší) než příslušná MIC<sub>24</sub>. Pro stanovení hodnoty MIC antidepresiv postačovala doba 24 hodin od naočkování destičky. U antibiotik se časové období 24 hodin pro stanovení MIC ukázalo jako nedostatečné, protože výsledná MIC by byla v řadě případů zkreslená (ve skutečnosti by byla vyšší).

Hodnoty MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> se u antidepresiv lišily vzácně, u všech kmenů CCM byly tedy účinky paroxetinu i fluoxetinu baktericidní. U antibiotik se rozdílné hodnoty MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> vyskytovaly poměrně často, MIC<sub>48</sub> byla vždy stejná nebo nižší než MIC<sub>p</sub>. Baktericidní účinky byly u antibiotik častější než účinky bakteriostatické, ovšem záleželo na druhu ATB i bakteriálním kmeni.

Koeficient CRIC měl velmi často odlišné hodnoty po 24 a 48 hodinách i 48 hodin po přeočkování, docházelo k jeho růstu nebo klesání v závislosti na čase. Se změnou CRIC se v některých případech také měnil typ interakce.

Po porovnání MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> současně s CRIC<sub>48</sub> a CRIC<sub>p</sub> jsme zjistili, že ke změně bakteriostatického na baktericidní účinek (nebo obráceně) nedošlo u žádného z kmenů CCM. Nejvíce se tomu blížilo jedno měření fluoxetinu s tetracyklinem u kmene *Bacillus subtilis* CCM viz graf 5, kde se MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> fluoxetinu shodovaly, ale po přeočkování došlo k vyklenutí inhibiční křivky (z adice na silný antagonismus), takže fluoxetin v přítomnosti tetracyklinu vykazoval slabší baktericidní účinky. Vzhledem k tomu, že to byl ojedinělý případ, je možné se jednalo o chybu měření.

**Graf 6** Kombinovaný účinek fluoxetinu a tetracyklinu u *Bacillus subtilis* CCM CCM po 48 hodinách a po přeočkování



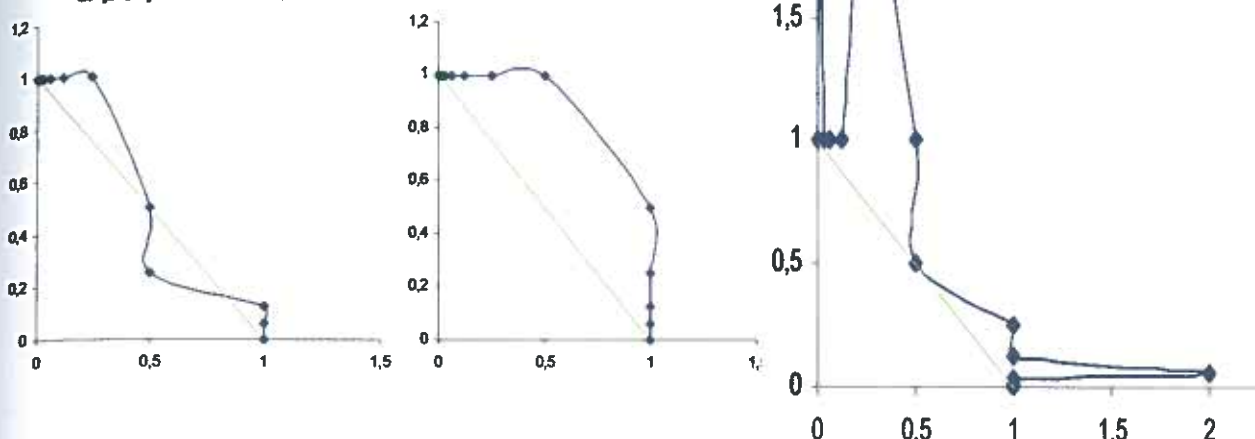
### 8.1.1 *Escherichia coli* CCM

MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> se u nalidixinu lišila maximálně o dvojnásobek své hodnoty, takže stejně jako u antidepresiv můžeme antimikrobní působení nalidixinu na *Escherichia coli* CCM označit za baktericidní. U tetracyklinu nebylo hodnocení tak jednoznačné, v polovině měření byla MIC<sub>p</sub> dvojnásobná oproti MIC<sub>48</sub>, v polovině měření čtyřnásobná. Účinky tetracyklinu se tak podle našeho hodnocení pohybovaly na hranici mezi baktericidními a bakteriostatickými.

U kombinace nalidixinu s SSRI se koeficient CRIC v průběhu jednotlivých měření příliš neměnil, typ antimikrobní interakce zůstal stejný po 24, 48 hodinách i po přeočkování.

U tetracyklinu v kombinaci s SSRI se ve většině případů koeficient CRIC postupně zvyšoval (CRIC<sub>24</sub> < CRIC<sub>48</sub> < CRIC<sub>p</sub>). Po 24 hodinách se ve všech měřeních projevila adice antimikrobních účinků, po 48 hodinách již převažovala indiference a po přeočkování to byla nejčastěji indiference na hranici s antagonismem, nebo antagonismus viz graf 6. Další testování, při kterém by měření probíhalo v kratších časových intervalech (např. po hodině), by mohlo přinést zajímavé poznatky ohledně časového průběhu vzájemné antimikrobní interakce mezi tetracyklinem a SSRI u tohoto kmenu.

**Graf 6** Kombinovaný účinek paroxetinu a tetracyklinu u *E. coli* CCM po 24 a, 48 hodinách a po přeočkování



### 8.1.2 *Staphylococcus aureus* CCM

Účinky nalidixinu a obou SSRI antidepresiv na *S. aureus* CCM byly jednoznačně baktericidní. Naproti tomu i tetracyklinu se silně projeví účinky bakteriostatické, MIC<sub>p</sub> bylo nejméně osmkrát vyšší než příslušné MIC<sub>48</sub>.

Koeficienty CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> se u nalidixinu v kombinaci s SSRI nelišily tak, aby se to projevilo změnou antimikrobní interakce. Po přeočkování se CRIC<sub>p</sub> mírně lišil od CRIC<sub>48</sub>, v některých případech došlo ke změně typu interakce (jednou v důsledku klesajícího, podruhé rostoucího CRIC<sub>p</sub>), jednalo se nejspíše o kolísání hodnoty koeficientu a nepřesnosti měření - koeficienty CRIC vykazovaly vždy synergistický účinek u fluoxetinu a u paroxetinu jednoznačně převažovala adice antimikrobních účinků. Výsledky kombinovaného účinku fluoxetinu s nalidixinem odpovídá studii (Kaatz a kol., 2003), kde prokázali, že se jednalo o inhibici efluxních pump u *S. aureus*.

U kombinace tetracyklinu s paroxetinem se projevil antagonismus většinou na hranici s indiferencí. Jeden koeficient CRIC<sub>48</sub> sice odpovídal adici, ovšem vzhledem k jeho odlehlosti od ostatních hodnot a také shodě CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>p</sub> (obě vykazovaly v daném měření antagonismus), se jedná s největší pravděpodobností o chybu měření. U fluoxetinu se všechny hodnoty CRIC pohybovaly v oblasti adice nebo indiference. Pokud bychom posuzovali pouze hodnoty CRIC<sub>48</sub>, přiklonili bychom se k adici, ovšem díky hodnotám CRIC<sub>24</sub>

a CRICp máme možnost komplexnějšího hodnocení a typ interakce bychom stanovili na rozmezí adice a indiference, pro přesnější stanovení by bylo nutné dalších měření.

### 8.1.3 *Bacillus subtilis* CCM

U tetracyklinu stejně jako u obou SSRI se MIC neměnily a hodnoty naměřené po 24, 48 hodinách a 48 hodin po přeočkování se shodovaly. Baktericidní účinky se tedy u těchto látek projeví v dostatečné míře již po 24 hodinách. U nalidixinu byla MIC<sub>24</sub> poloviční oproti MIC<sub>48</sub> a čtvrtinová oproti MIC<sub>p</sub>. Účinky nalidixinu na *Bacillus subtilis* CCM sice také hodnotíme jako baktericidní, ale na rozdíl od tetracyklinu byla u nalidixinu nutná delší doba ke kultivaci mikroorganismu.

Ve studii (Jánošík, 2007) nebyl stanoven typ interakce u kombinace nalidixinu s SSRI u *Bacillus subtilis* CCM. K dispozici totiž byly pouze hodnoty CRIC<sub>48</sub> a vzhledem k jejich rozptylu od slabého synergismu až po antagonismus, by byl výsledek značně zkreslen. Díky tomu, že máme k dispozici nejen koeficient CRIC<sub>48</sub>, ale také CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>p</sub>, mohli jsme stanovit typ antimikrobní interakce. U kombinace paroxetinu s nalidixinem převládá adice, u fluoxetinu s nalidixinem indiference.

U kombinace tetracyklinu s paroxetinem se v naprosté většině měření koeficienty CRIC shodovaly, projevila se adice antimikrobních účinků. U fluoxetinu s tetracyklinem se hodnoty CRIC<sub>24</sub>, CRIC<sub>48</sub> a CRIC<sub>p</sub> značně lišily. Po 24 hodinách kultivace vykazovalo měření silný synergismus, po 48 hodinách adici antimikrobních účinků a po přeočkování dokonce indiferenci či antagonismus. MIC obou látek byly konstantní, měnil se pouze průběh růstové křivky. Pro stanovení závislosti typu interakce na čase bychom potřebovali podrobnější měření s odečtem v kratších časových intervalech.

#### **8.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* CCM**

Stejně jako u *Bacillus subtilis* CCM se účinky tetracyklinu i SSRI projevily dostatečně již po 24 hodinách, zatímco u nalidixinu byla nutná delší kultivace. Baktericidní účinky byly jednoznačné u nalidixinu a SSRI; bakteriostatické účinky se projevily u tetracyklinu, MIC<sub>p</sub> byla nejméně čtyřikrát vyšší než odpovídající MIC<sub>48</sub>.

U kombinace nalidixinu s fluoxetinem nebo paroxetinem se projevila především adice nebo slabý synergismus. Koeficienty CRIC buď odpovídaly stejnému typu interakce (případně byly na rozhraní hodnot „sousedních“ interakcí) nebo koeficient CRIC nejprve výrazně klesal a po přeočkování opět výrazně stoupal (CRIC<sub>24</sub>>CRIC<sub>48</sub><CRIC<sub>p</sub>).

U kombinace tetracyklinu s SSRI antidepresivy se naprostá většina hodnot CRIC pohybovala v oblasti adice antimikrobních účinků, časový vývoj CRIC jsme nezaznamenali.

## 8.2 Kmeny izolované od pacientů

Porovnali jsme hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> antibiotik i SSRI antidepresiv. U antidepresiv se většinou shodovaly, vzácně byla MIC<sub>24</sub> poloviční oproti MIC<sub>48</sub>. U antibiotik byla MIC<sub>48</sub> většinou dvojnásobkem hodnoty MIC<sub>24</sub>, avšak u nalidixinu se nám ji v některých případech nepodařilo stanovit vůbec, proto jsme se zaměřili především na kombinace SSRI s tetracyklinem.

Hodnoty MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> antidepresiv u izolovaných kmenů *E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa* se shodovaly s hodnotami u příslušných kmenů CCM. Stejně jako u kmenů CCM byla CRIC<sub>p</sub> u antidepresiv maximálně dvakrát vyšší než příslušná MIC<sub>48</sub>. SSRI tedy měly u všech izolovaných kmenů *E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa* baktericidní účinky stejně jako u kmenů CCM.

U tetracyklinu se projeví účinky baktericidní zejména u kmenů *E. coli*, zatímco u kmenů *Pseudomonas aeruginosa* to byly především účinky bakteriostatické.

Hodnoty CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> se u izolovaných kmenů *E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa* shodovaly častěji než CRIC<sub>48</sub> a CRIC<sub>p</sub>, ovšem i zde záleželo na konkrétním kmeni a kombinaci látek. Neznamenal jsme žádný případ, kdy by došlo ke změně antimikrobiálního účinku (z baktericidního na bakteriostatický a opačně) u SSRI nebo ATB v přítomnosti druhé látky.

### 8.2.1 *Escherichia coli*

Hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> se u tetracyklinu i obou SSRI shodovaly, u všech izolovaných kmenů *E. coli* tedy byl interval 24 hodin dostatečný pro stanovení příslušné MIC. U dvou kmenů *E. coli* (4180, 4208) byly MIC příliš vysoké a nepodařilo se nám je přesně stanovit. U zbylých dvou kmenů (*E. coli* 4290 a 2468) se hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> lišily pouze v jednom ze šesti měření (MIC<sub>24</sub> byla poloviční oproti MIC<sub>48</sub>).

Přestože v necelé třetině měření byla MIC<sub>p</sub> SSRI dvojnásobná oproti MIC<sub>48</sub>, ve většině případů se obě MIC shodovaly a stejně jako u *E. coli* CCM (i dalších CCM kmenů) byly účinky SSRI jednoznačně baktericidní. U nalidixinu i tetracyklinu se MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>p</sub> lišily pouze vzácně, MIC<sub>p</sub> byla maximálně dvojnásobná oproti MIC<sub>48</sub> (u nalidixinu jsme z výše uvedených důvodů brali



v potaz MIC pouze u kmene *E. coli* 4290 a 2468). Obě antibiotika vykazovala baktericidní účinky. Baktericidními účinky tetracyklinu se všechny čtyři izolované kmeny *E. coli* lišily od *E. coli* CCM, kde se tetracyklin projevoval na hranici bakteriostatických a baktericidních účinků. Je to zřejmě dáno tím, že hodnoty MIC jsou u izolovaných kmenů více než o dva řády vyšší než u kmene CCM.

U kmene *E. coli* 4180, 4208 a 4290 se jednotlivé CRIC koeficienty lišily minimálně, typ interakce se v průběhu měření ani po přeočkování neměnil. U prvních dvou kmenů však hodnoty CRIC nemusí odpovídat skutečnosti (MIC nalidixinu byly příliš vysoké a část inhibiční křivky, která se dostala mimo měřitelnou oblast, jsme doplnili podle průběhu inhibičních křivek u zbylých dvou kmenů; hodnoty CRIC i MIC však mohou být zkreslené). U kmene *E. coli* 2468 si CRIC24 a CRIC48 odpovídají, po přeočkování se CRIC ve všech měřeních snížila – u paroxetinu synergismus zesílil, u fluoxetinu se místo antimikrobního účinku na rozmezí indiference a adice projevil slabý synergismus. U kmene *E. coli* CCM se CRIC24 a CRIC48 také shodovaly, ale po přeočkování CRIC neklesal.

U tetracyklinu v kombinaci s SSRI se hodnoty CRIC měnily pouze minimálně a typ interakce zůstal stejný po 24 i 48 hodinách od inokulace i 48 hodin po přeočkování. Výjimku tvořily jen čtyři měření (*E. coli* 4208 a 2468), vždy se jednalo o tetracyklin v kombinaci s fluoxetinem. Díky znalosti hodnot CRIC24 a CRICp jsme mohli u kmene *E. coli* 4208 přehodnotit typ interakce mezi fluoxetinem a tetracyklinem – místo jasné indiference, interakce na pomezí adice a indiference. Je zde také patrná změna koeficientu CRIC závislá na čase (zpočátku adiční charakter interakce se později blíží indifferenci) a má podobný průběh jako u *E. coli* CCM. U kmene *E. coli* 2468 se také projevila změna CRIC závislá na čase – po 24 hodinách vykazovaly měření indiferenci či adici na hranici s indifferencí, zatímco po 48 hodinách i po přeočkování se projevila adice či slabý synergismus (synergismus po 48 hodinách od začátku měření vykazovala i kombinace prometazinu s tetracyklinem ve studii (Gunics a kol., 2000). Další testování probíhající v kratších časových intervalech, by nám pomohlo lépe monitorovat časový průběh antimikrobní interakce mezi tetracyklinem a SSRI a mohlo by přinést hodnotné výsledky.

### 8.2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Hodnoty MIC nalidixinu byly u námi testovaných kmenů tak vysoké, že se nám je s ohledem na rozpustnost léčiva nepodařilo stanovit, proto jsme z antibiotik testovali pouze tetracyklin.

U SSRI se hodnoty MIC<sub>24</sub> a MIC<sub>48</sub> antidepresiv shodovaly, dostatečný antimikrobní účinek těchto látek se tedy projevil již po 24 hodinách. Jedinou výjimkou byl fluoxetin u *Pseudomonas aeruginosa* 421, kde byla MIC<sub>24</sub> poloviční oproti MIC<sub>48</sub>. Hodnota MIC<sub>p</sub> byla v některých případech dvojnásobná oproti MIC<sub>48</sub>, ale většinou se obě MIC shodovaly. Fluoxetin i paroxetin tedy působil na všechny kmeny *Pseudomonas aeruginosa* baktericidně.

U tetracyklinu byla MIC<sub>48</sub> téměř vždy dvojnásobná oproti MIC<sub>24</sub>, pro určení hodnoty MIC, byla tedy 48 hodinová kultivace nezbytná. U kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400 byla MIC<sub>p</sub> pouze dvojnásobná oproti MIC<sub>48</sub>, účinek byl tedy baktericidní. U *Pseudomonas aeruginosa* 417, 421 a 448 byla MIC<sub>p</sub> nejméně osmkrát vyšší než MIC<sub>48</sub>, na tyto kmeny působil tetracyklin bakteriostaticky.

Pro kombinaci tetracyklinu s SSRI se CRIC<sub>24</sub> a CRIC<sub>48</sub> shodovaly u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400, 421 (paroxetin) a 448. U kmene *Pseudomonas aeruginosa* 417 byl CRIC<sub>24</sub> vždy nižší než CRIC<sub>48</sub>, u paroxetinu se po 24 hodinách projevil silný synergismus, zatímco po 48 hodinách adice, u fluoxetinu vzrostl CRIC z adice (po 24 hodinách) na indifferenci (po 48 hodinách).

Porovnáme-li hodnoty CRIC<sub>48</sub> a CRIC<sub>p</sub>, zjistíme, že CRIC<sub>p</sub> je téměř ve všech případech nižší než příslušný CRIC<sub>48</sub>. Bohužel u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 417, 421 a 448 neznáme přesný průběh inhibiční křivky, protože na tyto kmeny působil tetracyklin bakteriostaticky a MIC po přeočkování mnohonásobně převýšila MIC<sub>48</sub> a MIC<sub>24</sub> a dostala se tak mimo měřitelnou oblast destičky. Pro výpočet přibližné CRIC<sub>p</sub> jsme si MIC<sub>p</sub> stanovili jako první jamku nad poslední jamkou s nárůstem a obdobně jsme určili i zbylé body inhibiční křivky, které byly „mimo destičku.“ CRIC<sub>p</sub> takto stanové jsou samozřejmě nepřesné a pouze orientační. Můžeme použít pouze CRIC<sub>p</sub> vypočtené u kmene *Pseudomonas aeruginosa* 400, kde byla MIC<sub>p</sub> mnohem nižší a inhibiční křivka byla jasně definována.

U *Pseudomonas aeruginosa* 400 došlo v naprosté většině měření k poklesu CRIC po přeočkování, místo adice převažoval po přeočkování synergismus. Ovšem slabý synergismus se dvou měřeních pohyboval na hranici s adicí, v jednom měření se adice nezměnila, takže pouze v jednom ze čtyř měření došlo k silnému poklesu CRIC. Podobné výsledky byly u kmene *Pseudomonas aeruginosa* CCM ale také ve studii (Gunicis a kol., 2000), kde testováním prometazinu v kombinaci s tetracyklinem prokázaly u klinicky izolovaných kmenů *Pseudomonas aeruginosa* adici antimikrobních účinků.

## 9 ZÁVĚR

Fluoxetin, paroxetin i nalidixin měly u všech kmenů CCM i u izolovaných kmenů baktericidní účinky. Tetracyklin působil baktericidně na *Bacillus subtilis* CCM a izolované *E. coli*, na ostatní kmeny působil bakteriostaticky.

Zatímco pro stanovení hodnoty MIC SSRI postačovala téměř ve všech měřeních 24 hodinová kultivace, u antibiotik bylo zapotřebí 48 hodinová kultivace.

Většinou se hodnoty CRIC po 24 a 48 hodinách a 48 hodin po přeočkování nelišily natolik, aby došlo ke změně antimikrobní interakce mezi ATB a SSRI. V některých případech nám znalost více hodnot CRIC změřených v průběhu kultivace pomohla přesněji určit typ antimikrobní interakce (nalidixin-SSRI u *Bacillus subtilis* CCM, paroxetin-tetracyklin u *S. aureus* CCM, fluoxetin-tetracyklin u *E. coli* 4208).

Časový vliv na změnu typu antimikrobní interakce se projevil u *E. coli* CCM a *Pseudomonas aeruginosa* 417 (u obou kmenů kombinace tetracyklin-paroxetin i tetracyklin-fluoxetin), kde došlo k růstu CRIC, u *E. coli* 2468 (tetracyklin-fluoxetin) zase naopak ke zdatelnému poklesu CRIC.

Nezaznamenaly jsme žádný případ, kdy se antimikrobní účinek SSRI nebo ATB změnil v přítomnosti druhé látky z bakteriostatického na baktericidní a to ani u kmenů CCM ani u izolovaných kmenů. V jednom měření (fluoxetin-tetracyklin) u kmene *Bacillus subtilis* CCM došlo opačnému jevu, tedy k oslabení baktericidního účinku, ovšem za změnu z baktericidního na bakteriostatický účinek to považovat nelze.

SSRI se projeví jako antimikrobní látky s baktericidními účinky, jejich interakce s tetracyklinem nebo nalidixinem měla nejčastěji adiční charakter, který nebyl závislý na čase. Hodnota MIC byla shodná u kmenů CCM i kmenů rezistentních na tetracyklin a nalidixin. Přestože se skupina SSRI může jevit jako nová alternativa v antimikrobní terapii, v klinickém využití jí brání relativně vysoká MIC, která není in vivo dosažitelná. Proto se výzkum zaměřuje na možnost potenciace jiných ATB nízkými dávkami SSRI.

## 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

JÁNOŠÍK P.: Antimikrobní účinek jako vedlejší efekt antidepresiv II (diplomová práce), FaF UK HK, 2007

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

KHAIRUL M. F. M., MIN T. H., LOW J. H., NASRYYAH A. N. A., NORAZMI M. N., RAVICHANDRAN M.: Fluoxetine potentiates chloroquine and mefloquine effect on multidrug-resistant *Plasmodium falciparum* in vitro; *Jpn. J Infect. Dis.*, 59, r. 2006, str. 329-331

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

KRISTIANSEN J. E., HENDRICKS O., DELVIN T., BUTTERWOTH T. S., AAGAARD L., CRISTENSEN J. B., FLORES V. C., KEYZER H.: Reversal of resistance in microorganisms by help of non-antibiotics; *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59, r. 2007, str. 1271-1279

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 mikrobiology* 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, 469-471, 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

WIKIPEDIA – on-line encyklopedie, prosinec 2007

[http://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_aureus](http://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus\\_subtilis](http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli](http://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli)

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

## 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.

Přílohy jsou řazeny podle jednotlivých kmenů (nejprve kmeny CCM, potom izolované kmeny *E. coli* a nakonec izolované kmeny *Pseudomonas aeruginosa*) dále podle antibiotik a jejich kombinace s SSRI antidepresivy.

**Tab. 24** Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu na *S. aureus* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		128	256	128	256	128	256
MIC (µg/ml)		64	64	64	64	128	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/1024	1/2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1/2
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1/2
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/32	2	1/64	1/2
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1/2
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/8	1
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/2
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/2
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/4
	13. bod	1	0	1	0	1	1/8
	14. bod	-	-	-	-	1	1/16
	15. bod	-	-	-	-	1	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,43		0,51	
koeficient CRIC		0,813		0,859		1,022	



**Tab. 25** Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu na *S. aureus* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		128	256	128	256	128	256
MIC (µg/ml)		64	64	64	64	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1/2
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1/2
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1/2
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1/2
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1/2
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1	1/4	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/8	1/2	1/8
	12. bod	1	1/8	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/16	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,53		0,36		0,27	
koeficient CRIC		1,063		0,719		0,534	

**Tab. 26** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *S. aureus* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		128	256	128	256	128	256
MIC (µg/ml)		64	64	64	128	64	64
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1/2	1/16	1/2	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1/4	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/8	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/16	1/2	1/4
	11. bod	1/2	1/16	1/2	1/32	1/2	1/8
	12. bod	1	0	1	0	1/2	1/16
	13. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,2		0,13		0,28	
koeficient CRIC		0,391		0,266		0,563	

**Tab. 27 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na S. aureus CCM**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		128	256	128	256	128	256
MIC (µg/ml)		64	64	64	128	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1/2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/4	1/8	1/4	1/8	1/4
	10. bod	1/4	1/8	1/4	1/8	1/4	1/8
	11. bod	1/2	1/16	1/4	1/16	1/4	1/16
	12. bod	1	0	1/2	1/32	1/2	1/16
	13. bod	-	-	1	0	1	1/32
	14. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,17		0,15		0,17	
koeficient CRIC		0,344		0,305		0,342	

**Tab. 28 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na S. aureus CCM**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		64	1/4	32	1/2	64	≥4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/4	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/2	1	1/4	1
	10. bod	1/2	1	1	1	1/2	1
	11. bod	1	1/2	2	1/2	1	1/2
	12. bod	2	1/4	2	1/4	1	1/4
	13. bod	1	1/8	2	1/8	1	1/8
	14. bod	1	0	2	1/16	2	1/16
	15. bod	-	-	1	0	4	1/32
	16. bod	-	-	-	-	2	1/64
	17. bod	-	-	-	-	2	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		1,06		1,72		1,01	
koeficient CRIC		2,125		3,438		2,023	

**Tab. 29** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *S. aureus* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		64	1/4	32	1/2	64	≥4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	10. bod	1/2	1	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1	1/2	1	1/4	1	1/2
	12. bod	2	1/4	1	1/8	2	1/4
	13. bod	1	1/8	1	1/16	2	1/8
	14. bod	1	0	1	0	2	1/16
	15. bod	-	-	-	-	4	1/32
	16. bod	-	-	-	-	4	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		1,06		0,63		1,31	
koeficient CRIC		2,125		1,250		2,617	

**Tab. 30** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *S. aureus* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		128	1/4	128	1/2	128	≥4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1	1/8	1/2	1/8	1
	10. bod	1/4	1	1/4	1/2	1/4	1
	11. bod	1/2	1	1/2	1/4	1/2	1
	12. bod	1	1/2	1	1/8	1	1/2
	13. bod	1	1/4	1	1/16	1	1/4
	14. bod	1	1/8	1	0	1	1/8
	15. bod	1	0	-	-	1/2	1/16
	16. bod	-	-	-	-	1	1/32
	17. bod	-	-	-	-	1	1/64
	18. bod	-	-	-	-	1	1/128
	19. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,88		0,36		0,85	
koeficient CRIC		1,750		0,719		1,703	

**Tab. 31 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *S. aureus* CCM**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		128	1/2	128	1/2	128	≥4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1/2	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1/2	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1/2	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1/2	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1
	10. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1
	11. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1
	12. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/2
	13. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/4
	14. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/8
	15. bod	1	0	1	0	1/2	1/16
	16. bod	-	-	-	-	1	1/32
	17. bod	-	-	-	-	1	1/64
	18. bod	-	-	-	-	1	1/128
	19. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,44		0,63		0,85	
koeficient CRIC		0,875		1,250		1,703	

**Tab. 32 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Escherichia coli* CCM**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		128	8	128	8	128	8
MIC (µg/ml)		64	4	64	4	64	8
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1/2	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1/2
	4. bod	1/128	1/2	1/128	1	1/128	1/2
	5. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1/2
	6. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	1/2
	7. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1/2
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/2	1/2	1/4
	11. bod	1	1/8	1/2	1/4	1/2	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/8	1	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/16	1	1/32
	14. bod	1	0	1	1/32	1	1/64
	15. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,31		0,53		0,27	
koeficient CRIC		0,629		1,063		0,534	

**Tab. 33 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu Escherichia coli CCM**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		128	8	128	8	128	8
MIC (µg/ml)		64	2	64	4	64	4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	11. bod	1	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	14. bod	1	0	1	1/32	1	1/32
	15. bod		-	1	0	1	0
plocha		0,63		0,53		0,53	
koeficient CRIC		1,250		1,063		1,063	

**Tab. 34 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na Escherichia coli CCM**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		128	8	128	8	128	8
MIC (µg/ml)		64	8	64	8	64	≥16
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1/2	1/512	1/2	1/512	1/2
	3. bod	1/256	1/4	1/256	1/2	1/256	1/2
	4. bod	1/128	1/4	1/128	1/2	1/128	1/2
	5. bod	1/64	1/4	1/64	1/2	1/64	1/2
	6. bod	1/32	1/4	1/32	1/2	1/32	1/2
	7. bod	1/16	1/4	1/16	1/2	1/16	1/2
	8. bod	1/8	1/4	1/8	1/2	1/8	1/4
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	1/8
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2	1/16
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/32
	12. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/64
	13. bod	1	1/64	1	1/64	1	1/128
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,16		0,20		0,13	
koeficient CRIC		0,315		0,407		0,251	

**Tab. 35** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		128	8	128	8	128	8
MIC (µg/ml)		64	2	64	4	64	4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	2
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	2
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	2
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/4	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/8	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/16	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,63		0,41		0,48	
koeficient CRIC		1,250		0,813		0,963	

**Tab. 36** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *E. coli* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		64	1/2	64	1/2	128	2
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	2
	4. bod	1/128	1	1/128	2	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	2
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	2
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/4	1
	11. bod	1	1/4	1	1/2	1/4	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/4	1/2	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/8	1/2	1/8
	14. bod	1	0	1	1/16	1/2	1/16
	15. bod	-	-	1	0	1/2	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,88		0,51	
koeficient CRIC		1,250		1,762		1,019	

**Tab. 37** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *E. coli* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		64	1/2	64	1/2	64	2
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	2
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	2
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/2	1
	11. bod	1/2	1/4	1	1/2	1/2	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/4	1	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/8	1	1/8
	14. bod	1	0	1	1/16	2	1/16
	15. bod	-	-	1	0	1	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,53		0,88		0,94	
koeficient CRIC		1,063		1,750		1,883	

**Tab. 38** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *E. coli* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		64	1	64	1	64	2
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	2
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	2
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	2
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	2	1/8	2
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/2	1
	11. bod	1	1/4	1	1/2	1/2	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/4	1	1/2
	13. bod	1	1/16	1	1/8	2	1/4
	14. bod	1	1/32	1	1/16	1	1/8
	15. bod	1	0	1	1/32	1	1/16
	16. bod	-	-	-	-	2	1/32
	17. bod	-	-	1	0	1	1/64
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,97		1,26	
koeficient CRIC		1,250		1,938		2,529	

**Tab. 39** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *E. coli* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		128	2	128	2	128	2
MIC (µg/ml)		64	1	64	1	64	2
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	2
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	2
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	2
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	2
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	2
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1/2	1/4	1	1/4	1/2	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/8
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/16
	15. bod	1	0	1	0	2	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,53		0,63		0,97	
koeficient CRIC		1,063		1,250		1,932	

**Tab. 40** Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Bacillus subtilis* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		64	16	64	16	64	16
MIC (µg/ml)		64	4	64	8	≥128	16
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	2	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	2	1/512	1/2
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1/2
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1/2
	6. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1/2
	7. bod	1/32	1	1/32	2	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1/2
	10. bod	1/4	1/2	1/4	2	1/4	1
	11. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/2	1/2
	12. bod	1	1/4	1	1/2	1	1/4
	13. bod	1	1/8	1	1/4	1	1/8
	14. bod	1	1/16	1	1/8	1	1/16
	15. bod	1	1/32	1	1/16	1	1/32
	16. bod	1	0	1	1/32	1	1/64
	17. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,53		1,09		0,57	
koeficient CRIC		1,051		2,177		1,134	



**Tab. 41 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu Bacillus subtilis CCM**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		64	16	64	16	64	16
MIC (µg/ml)		64	4	64	8	64	16
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1/2
	7. bod	1/32	1	1/32	2	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1/2
	10. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	11. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1
	12. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/2
	13. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/4
	14. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/8
	15. bod	1	0	1	1/32	1	1/16
	16. bod	-	-	1	0	1	1/32
	17. bod	-	-	-	-	1	1/64
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,65		0,73	
koeficient CRIC		1,250		1,297		1,457	

**Tab. 42 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na Bacillus subtilis CCM**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		64	16	64	16	64	16
MIC (µg/ml)		64	4	64	16	≥128	16
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1	1/32	1/2	1/32	1/2
	8. bod	1/16	1	1/16	1/2	1/16	1/2
	9. bod	1/8	1	1/8	1/2	1/8	1
	10. bod	1/4	1	1/4	1/4	1/4	1
	11. bod	1/2	1	1/2	1/4	1/2	1
	12. bod	1	1/2	1	1/8	0	1
	13. bod	1	1/4	1	1/16	1	1/2
	14. bod	1	1/8	1	1/32	1	1/4
	15. bod	1	1/16	1	1/64	1	1/8
	16. bod	1	0	1	0	1	1/16
	17. bod	-	-	-	-	1	1/32
	18. bod	-	-	-	-	1/2	1/64
	19. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,88		0,28		0,71	
koeficient CRIC		1,750		0,555		1,414	

**Tab. 43** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Bacillus subtilis* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		64	16	64	16	64	16
MIC (µg/ml)		64	4	64	8	64	16
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	2	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1/2
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1/4
	7. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1/2
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1/2
	9. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1/2
	10. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	11. bod	1/2	1	1/2	1	1/2	1
	12. bod	1	1/2	1	1/2	1	1/2
	13. bod	1	1/4	1	1/4	2	1/4
	14. bod	1	1/8	1	1/8	2	1/8
	15. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	16. bod	1	0	1	1/32	1	1/32
	17. bod	-	-	1	0	1	1/64
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,88		0,81		1,06	
koeficient CRIC		1,750		1,628		2,125	

**Tab. 44** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Bacillus subtilis* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		128	1	128	1	128	1
MIC (µg/ml)		64	1/4	64	1/4	64	1/2
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1/2
	3. bod	1/256	1/2	1/256	1	1/256	1/2
	4. bod	1/128	1/2	1/128	1	1/128	1/2
	5. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1/2
	6. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	1/2
	7. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1/2
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/2	1/2	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/4	1	1/4
	12. bod	1	1/16	1	1/8	2	1/8
	13. bod	1	0	1	1/16	1	1/16
	14. bod	-	-	1	0	1	1/32
	15. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,53		0,53		0,44	
koeficient CRIC		1,063		1,063		0,876	

**Tab. 45 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na Bacillus subtilis CCM**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		128	1	128	1	128	1
MIC (µg/ml)		64	1/8	64	1/4	64	1/4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/4
	13. bod	1	0	1	1/16	1	1/8
	14. bod	-	-	1	0	1	1/16
	15. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,53		0,53		0,88	
koeficient CRIC		1,063		1,063		1,750	

**Tab. 46 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na Bacillus subtilis CCM**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		128	1	128	1	128	1
MIC (µg/ml)		64	1/4	64	1/4	64	1/4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1/2	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1/2	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1/2	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/2	1/4	2
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1/2	1/16	1	1/4	1	1
	12. bod	1	0	1	1/8	2	1/2
	13. bod	-	-	1	1/16	2	1/4
	14. bod	-	-	1	0	2	1/8
	15. bod	-	-	-	-	2	1/16
	16. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,17		0,53		1,91	
koeficient CRIC		0,345		1,063		3,813!!!	

**Tab. 47** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Bacillus subtilis* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		128	1	128	1	128	1
MIC (µg/ml)		64	1/4	64	1/4	64	1/4
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/2	1/4	1
	10. bod	1/4	1/8	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1/4	1/16	1	1/4	1	1/2
	12. bod	1/2	1/16	1	1/8	1	1/4
	13. bod	1	0	1	1/16	1	1/8
	14. bod	-	-	1	0	1	1/16
	15. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,15		0,53		0,88	
koeficient CRIC		0,293		1,063		1,754	

**Tab. 48** Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		512	512	512	512	512	512
MIC (µg/ml)		256	256	256	≥1024	256	≥1024
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1/2	1/256	1/2	1/256	1/2
	4. bod	1/128	1	1/128	1/2	1/128	1/2
	5. bod	1/64	2	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1/2	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1/2	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/4	1/2	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/8	1	1/16	2	1/16
	13. bod	1	1/16	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	1/32	1	1/64	1	1/64
	15. bod	1	0	1	1/128	1	1/128
	16. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,54		0,27		0,40	
koeficient CRIC		1,083		0,546		0,804	

**Tab. 49** Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Pseudomonas aeruginosa*

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		512	512	512	512	512	512
MIC (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	2
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	2
	4. bod	1/128	1/2	1/128	1	1/128	2
	5. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	2
	6. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	2
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	2
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	2
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	2
	10. bod	1/4	1/4	1/4	1/4	1/2	1
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/8
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/16
	15. bod	1	1/64	1	1/64	2	1/32
	16. bod	1	0	1	0	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,35		0,38		1,08	
koeficient CRIC		0,709		0,750		2,170	

**Tab. 50** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		512	512	512	512	512	512
MIC (µg/ml)		512	512	512	512	512	≥1024
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1/2	1/1024	1	1/1024	1/2
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1/2	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1/2	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1/2	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1/2	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2
	10. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/8
	12. bod	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2	1/16
	13. bod	1/2	1/16	1	1/16	1	1/32
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/64
	15. bod	1	1/64	1	1/64	2	1/128
	16. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,24		0,31		0,23	
koeficient CRIC		0,489		0,625		0,468	

**Tab. 51** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		512	512	512	512	512	512
MIC (µg/ml)		256	512	256	512	256	1024
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	2	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	2	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	2	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	2	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	2	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1	1/4	1/2	1/4	1	1/2
	12. bod	2	1/8	1	1/8	1/2	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/8
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/16
	15. bod	1	0	1	1/64	2	1/32
	16. bod	-	-	1	0	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,85		0,53		0,76	
koeficient CRIC		1,705		1,063		1,516	

**Tab. 52** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		512	64	512	64	512	64
MIC (µg/ml)		256	32	256	32	512	≥128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1/2	1/4
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/16
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1/2	1/32
	15. bod	1	0	1	0	1/2	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1/2	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,63		0,31	
koeficient CRIC		1,250		1,250		0,629	

**Tab. 53** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		512	64	512	64	512	64
MIC (µg/ml)		256	32	256	32	256	≥128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/2
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/8
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/16
	15. bod	-	-	-	-	1	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,52		0,63		0,73	
koeficient CRIC		1,043		1,250		1,469	

**Tab. 54** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		512	64	512	64	512	64
MIC (µg/ml)		256	32	256	32	256	≥128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/8
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/16
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/32
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/64
	15. bod	1	0	1	0	1	1/128
	16. bod	-	-	-	-	1	0
	plocha		0,53		0,63		0,41
koeficient CRIC		1,063		1,250		0,813	

**Tab. 55** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* CCM

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		512	64	512	64	512	64
MIC (µg/ml)		256	32	256	32	256	≥128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1/2	1/4
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	14. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	15. bod	1	0	1	0	1	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,53		0,63		0,53	
koeficient CRIC		1,063		1,250		1,063	

**Tab. 56** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4180

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	≥4096	64	≥4096	64	≥4096
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	2	1/16	2	1/16	2	1/16
	13. bod	2	1/32	2	1/32	1	1/32
	14. bod	2	1/64	2	1/64	2	1/64
	15. bod	2	1/128	2	1/128	2	1/128
	16. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,71		0,71		0,69	
koeficient CRIC		1,430		1,430		1,383	



**Tab. 57** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4180

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	≥4096	64	≥4096	64	≥4096
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	2	1/32	2	1/32	2	1/32
	14. bod	2	1/64	2	1/64	2	1/64
	15. bod	1	1/128	1	1/128	1	1/128
	16. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,57		0,57		0,66	
koeficient CRIC		1,133		1,133		1,320	

**Tab. 58** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4180

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	128	64	128	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	2	1/256	2	1/256	2
	3. bod	1/128	2	1/128	2	1/128	2
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	2	1/16	2	1/16	2
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1/2	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,54		0,59		0,59	
koeficient CRIC		1,082		1,176		1,176	

**Tab. 59** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4180

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	256	64	256	64	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1/2	1/16	1/2	1/16	1/2
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	10. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	12. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,38		0,38		0,38	
koeficient CRIC		0,766		0,766		0,766	

**Tab. 60** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4180

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	256	64	256	64	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1/2	1/16	1/2	1/16	1/2
	7. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	10. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	12. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,34		0,34		0,34	
koeficient CRIC		0,672		0,672		0,672	

**Tab. 61** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4180

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	256	64	256	64	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,48		0,48		0,58	
koeficient CRIC		0,969		0,969		1,156	

**Tab. 62** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4208

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	≥4096	64	≥4096	64	≥4096
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	1/64	1	1/64	1	1/64
	15. bod	1	1/128	1	1/128	1	1/128
	16. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,53		0,53		0,53	
koeficient CRIC		1,063		1,063		1,063	

**Tab. 63 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na Escherichia coli 4208**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	≥4096	64	≥4096	128	≥4096
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/2
	10. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/4
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/8
	12. bod	1	1/32	1	1/32	1/2	1/16
	13. bod	1	1/64	1	1/64	1	1/32
	14. bod	1	1/128	1	1/128	1/2	1/64
	15. bod	1	0	1	0	1/2	1/128
	16. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,36		0,41		0,28	
koeficient CRIC		0,719		0,813		0,559	

**Tab. 64 Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na Escherichia coli 4208**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	128	64	128	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	2	1/128	2	1/128	2
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,63		0,63		0,63	
koeficient CRIC		1,262		1,262		1,262	

**Tab.65** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4208

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	128	64	128	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	2	1/16	2	1/16	2
	7. bod	1/8	2	1/8	2	1/8	2
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,77		0,77		0,77	
koeficient CRIC		1,531		1,531		1,531	

**Tab. 66** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4208

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	128	64	128	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	2	1/128	2	1/256	2
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/4	1
	10. bod	1	1/4	1	1/2	1/2	1/2
	11. bod	1	1/8	1	1/4	1/2	1/4
	12. bod	1	1/16	1	1/8	1/2	1/8
	13. bod	1	0	1	1/16	1	1/16
	14. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,63		0,88		0,49	
koeficient CRIC		1,262		1,762		0,975	

**Tab. 67** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4208

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	128	64	128	64	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	2	1/64	2	1/64	2
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/2	1
	10. bod	1	1/4	1	1/2	1	1/2
	11. bod	1	1/8	1	1/4	1	1/4
	12. bod	1	1/16	1	1/8	1	1/8
	13. bod	1	0	1	1/16	1	1/16
	14. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,64		0,89		0,89	
koeficient CRIC		1,273		1,773		1,773	

**Tab. 68** Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu *Escherichia coli* 4290

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	1024	64	1024	64	1024
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	2
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	2	1/8
	12. bod	2	1/16	2	1/16	2	1/16
	13. bod	2	1/32	2	1/32	2	1/32
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,61		0,61		0,75	
koeficient CRIC		1,219		1,219		1,500	

**Tab. 69** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4290

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	1024	64	1024	64	1024
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,53		0,53		0,53	
koeficient CRIC		1,063		1,063		1,063	

**Tab. 70** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 4290

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	1024	64	1024	64	2048
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	2	1/32	2	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/4
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
		1	1/32	1	1/32	1	1/32
	13. bod	1	0	1	0	1	1/64
14. bod	-	-	-	-	1	0	
plocha		0,55		0,55		0,38	
koeficient CRIC		1,109		1,109		0,750	

**Tab. 71** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4290

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	512	64	512	64	512
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	10. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	12. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	13. bod	1	1/64	1	1/64	1	1/64
	14. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,41		0,41		0,41	
koeficient CRIC		0,813		0,813		0,813	

**Tab. 72** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 4290

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	512	64	512	64	512
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	2
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	1/64	1	1/64	1	1/64
	15. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,63		0,63		0,63	
koeficient CRIC		1,250		1,250		1,262	



**Tab. 73 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na Escherichia coli 4290**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	512	64	512	128	512
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1/2	1/32
	14. bod	1	1/64	1	1/64	1/2	1/64
	15. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,53		0,53		0,27	
koeficient CRIC		1,063		1,063		0,539	

**Tab. 74 Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na Escherichia coli 4290**

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	512	64	512	128	512
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1/2	1/32
	14. bod	1	1/64	1	1/64	1/2	1/64
	15. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,63		0,53		0,34	
koeficient CRIC		1,250		1,063		0,680	

**Tab. 75 Kombinované účinky paroxetinu a nalidixinu Escherichia coli 2468**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		PAR	NAL	PAR	NAL	PAR	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		128	2048	128	≥4096	128	≥4096
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1/2	1/512	1
	3. bod	1/256	2	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	2	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1/2	1/32	1/2
	7. bod	1/16	1	1/16	1/2	1/16	1/2
	8. bod	1/8	1	1/8	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4
	10. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2	1/8
	11. bod	1/2	1/8	1/2	1/8	1	1/16
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/32
	13. bod	1	1/32	1	1/32	1	1/64
	14. bod	1	1/64	1	1/64	1	1/128
	15. bod	1	1/128	1	1/128	1	0
	16. bod	1	0	1	0	-	-
plocha		0,37		0,28		0,21	
koeficient CRIC		0,736		0,553		0,430	

**Tab. 76 Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na Escherichia coli 2468**

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	2048	64	2048	64	4096
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1/2
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1/2
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1/2
	5. bod	1/32	2	1/32	2	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1/2
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1/2
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/8
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/16
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/32
	13. bod	2	1/32	2	1/32	2	1/64
	14. bod	2	1/64	2	1/64	2	1/128
	15. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,69		0,69		0,34	
koeficient CRIC		1,375		1,375		0,689	

**Tab. 77** Kombinované účinky fluoxetinu a nalidixinu na *Escherichia coli* 2468

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	NAL	FLU	NAL	FLU	NAL
Cmax (µg/ml)		256	2048	256	2048	256	2048
MIC (µg/ml)		64	2048	64	2048	128	2048
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	12. bod	1	1/16	2	1/16	1/2	1/16
	13. bod	2	1/32	2	1/32	1/2	1/32
	14. bod	2	1/64	2	1/64	1	1/64
	15. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,66		0,71		0,32	
koeficient CRIC		1,328		1,422		0,648	

**Tab. 78** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 2468

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		128	256	128	256	128	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8
	11. bod	1/2	1/16	1/2	1/16	1/2	1/16
	12. bod	1/2	1/32	1/2	1/32	1/2	1/32
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,21		0,21		0,21	
koeficient CRIC		0,422		0,422		0,422	

**Tab. 79** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 2468

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		128	256	128	256	128	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8
	11. bod	1/2	1/16	1/2	1/16	1/2	1/16
	12. bod	1/2	1/32	1/2	1/32	1/2	1/32
	13. bod	1	0	1	0	1	0
plocha		0,21		0,21		0,21	
koeficient CRIC		0,422		0,422		0,422	

**Tab. 80** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 2468

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		128	512	128	256	128	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/4	1/2	1/8	1/2	1/8
	12. bod	1	1/8	1/2	1/16	1/2	1/16
	13. bod	1	1/16	1/2	1/32	1/2	1/32
	14. bod	1	1/32	1	0	1	0
	15. bod	1	1/64	-	-	-	-
	16. bod	1	0	-	-	-	-
plocha		0,63		0,32		0,32	
koeficient CRIC		1,250		0,641		0,641	

**Tab. 81** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Escherichia coli* 2468

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		256	512	256	512	256	512
MIC (µg/ml)		64	256	64	256	64	256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/2	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/4	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/8	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	1/16	1	1/32	1	1/32
	14. bod	1	1/32	1	0	1	0
	15. bod	1	0	-	-	-	-
plocha		0,88		0,63		0,63	
koeficient CRIC		1,750		1,250		1,250	

**Tab. 82** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 400

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	512	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1/2
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1/2
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1/2
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/8	1/2
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/4
	10. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/16
	12. bod	1	0	2	1/32	1/2	1/32
	13. bod	-	-	1	0	1	1/64
	14. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,44		0,18	
koeficient CRIC		0,813		0,875		0,365	

**Tab. 83** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 400

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	512	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/8	1
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/2
	10. bod	1	1/8	1	1/8	1/4	1/4
	11. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/8
	12. bod	1	0	1	1/32	1/2	1/16
	13. bod	-	-	1	0	1/2	1/32
	14. bod	-	-	-	-	1/2	1/64
	15. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,41		0,27	
koeficient CRIC		0,813		0,813		0,539	

**Tab. 84** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 400

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	512	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/8	1
	9. bod	1/2	1/4	1/2	1/2	1/4	1/2
	10. bod	1	1/8	1	1/4	1/2	1/4
	11. bod	1	1/16	1	1/8	1/2	1/8
	12. bod	1	0	1	1/16	1/2	1/16
	13. bod	-	-	1	1/32	1/2	1/32
	14. bod	-	-	1	0	1	1/64
	15. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,63		0,32	
koeficient CRIC		0,813		1,250		0,648	

**Tab. 85** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 400

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	256	128
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2
	10. bod	1	1/4	1	1/4	1	1/4
	11. bod	1	1/8	1	1/8	1	1/8
	12. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/16
	13. bod	1	0	1	1/32	1	1/32
	14. bod	-	-	1	0	1	1/64
	15. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,63		0,63	
koeficient CRIC		1,250		1,250		1,250	

**Tab. 86** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 417

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		512	32	512	64	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1	1/4	1/2
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/2	1/2	1/4
	11. bod	1/2	1/16	1/2	1/4	1/2	1/8
	12. bod	1	1/32	1/2	1/8	1/2	1/16
	13. bod	1	0	1/2	1/16	1	1/32
	14. bod	-	-	1	1/32	1	1/64
	15. bod	-	-	1	0	2	1/128
	16. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,23		0,46		0,34	
koeficient CRIC		0,453		0,922		0,688	

**Tab. 87** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 417

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		512	32	512	64	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	8. bod	1/8	1/2	1/8	1	1/8	1
	9. bod	1/4	1/4	1/4	1	1/8	1/2
	10. bod	1/2	1/8	1/2	1/2	1/4	1/4
	11. bod	1/2	1/16	1/2	1/4	1/2	1/8
	12. bod	1	1/32	1/2	1/8	1/2	1/16
	13. bod	1	0	1/2	1/16	1/2	1/32
	14. bod	-	-	1	1/32	1	1/64
	15. bod	-	-	1	0	1	1/128
	16. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,23		0,46		0,23	
koeficient CRIC		0,453		0,922		0,461	

**Tab. 88** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 417

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přečkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	256	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/4	1/2
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/2	1/4
	10. bod	1	1/4	1	1/2	1	1/8
	11. bod	1	1/8	1	1/4	1	1/16
	12. bod	1	1/16	1	1/8	1	1/32
	13. bod	1	0	1	1/16	1	1/64
	14. bod	-	-	1	1/32	1	1/128
	15. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,63		0,88		0,41	
koeficient CRIC		1,250		1,750		0,813	



**Tab. 89** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 417

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		1024	128	1024	128	1024	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	3. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	4. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	5. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	6. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	7. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	8. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1/2
	9. bod	1/2	1/2	1/2	1	1/4	1/4
	10. bod	1	1/4	1	1/2	1/2	1/8
	11. bod	1	1/8	1	1/4	1/2	1/16
	12. bod	1	1/16	1	1/8	1/2	1/32
	13. bod	1	0	1	1/16	1/2	1/64
	14. bod	-	-	1	1/32	1/2	1/128
	15. bod	-	-	1	0	1	0
plocha		0,63		0,88		0,21	
koeficient CRIC		1,250		1,750		0,410	

**Tab. 90** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 421

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		512	16	512	32	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	10. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1/2
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/2	1/4	1/4
	12. bod	1	1/8	1/2	1/4	1/4	1/8
	13. bod	1	0	1	1/8	1/2	1/16
	14. bod	-	-	1	1/16	1	1/32
	15. bod	-	-	1	0	1	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,53		0,27	
koeficient CRIC		0,813		1,063		0,531	

**Tab. 91** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 421

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		512	16	512	32	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	10. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/2	1/2	1/2
	12. bod	1	1/8	1/2	1/4	1/2	1/4
	13. bod	1	0	1	1/8	1/2	1/8
	14. bod	-	-	1	1/16	1/2	1/16
	15. bod	-	-	1	0	1	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,53		0,46	
koeficient CRIC		0,813		1,063		0,922	

**Tab. 92** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 421

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		256	16	512	32	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/128	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/16	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1	1/8	1	1/8	1
	10. bod	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1	1/4	1/2	1/4	1/4	1/4
	12. bod	1	1/8	1/2	1/8	1/4	1/8
	13. bod	1	0	1/2	1/16	1/4	1/16
	14. bod	-	-	1	0	1/2	1/32
	15. bod	-	-	-	-	1/2	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1/2	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,33		0,23	
koeficient CRIC		1,250		0,656		0,465	

**Tab. 93** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 421

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		256	16	512	32	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/128	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/16	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1	1/8	1	1/8	1
	10. bod	1/2	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1	1/4	1/2	1/4	1/4	1/4
	12. bod	1	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8
	13. bod	1	0	1/2	1/16	1/2	1/16
	14. bod	-	-	1	0	1/2	1/32
	15. bod	-	-	-	-	1/2	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,33		0,27	
koeficient CRIC		1,250		0,656		0,543	

**Tab. 94** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 448

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		512	16	512	32	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1	1/8	1	1/8	1
	10. bod	1/4	1/2	1/4	1	1/4	1
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/2	1/2	1/2
	12. bod	1	1/8	1/2	1/4	1/2	1/4
	13. bod	1	0	1/2	1/8	1/2	1/8
	14. bod	-	-	1	1/16	1/2	1/16
	15. bod	-	-	1	0	1/2	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,41		0,48		0,45	
koeficient CRIC		0,813		0,969		0,898	

**Tab. 95** Kombinované účinky paroxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 448

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		PAR	TET	PAR	TET	PAR	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		512	32	512	32	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/1024	1	1/1024	1	1/1024	1
	3. bod	1/512	1	1/512	1	1/512	1
	4. bod	1/256	1	1/256	1	1/256	1
	5. bod	1/128	1	1/128	1	1/128	1
	6. bod	1/64	1	1/64	1	1/64	1
	7. bod	1/32	1	1/32	1	1/32	1
	8. bod	1/16	1	1/16	1	1/16	1
	9. bod	1/8	1/2	1/8	1/2	1/8	1
	10. bod	1/4	1/2	1/4	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/2
	12. bod	1/2	1/8	1/2	1/8	1/2	1/4
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1	1/8
	14. bod	1	0	1	1/32	1/2	1/16
	15. bod	-	-	1	0	1	1/32
	16. bod	-	-	-	-	1	1/64
	17. bod	-	-	-	-	1	1/128
	18. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,31		0,31		0,38	
koeficient CRIC		0,625		0,625		0,766	

**Tab. 96** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 448

měření č.1		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		256	32	256	64	512	≥256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1/2	1/8	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1/4	1/4
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/16
	14. bod	1	0	1	1/32	1/2	1/32
	15. bod	-	-	1	0	1/2	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1/2	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,53		0,27	
koeficient CRIC		1,250		1,063		0,535	

**Tab. 97** Kombinované účinky fluoxetinu a tetracyklinu na *Pseudomonas aeruginosa* 448

měření č.2		po 24 hod		po 48 hod		přeočkování	
účinné látky		FLU	TET	FLU	TET	FLU	TET
Cmax (µg/ml)		512	128	512	128	512	128
MIC (µg/ml)		256	32	512	32	512	≤256
jednotlivé body křivky vyjádřené v násobcích MIC	1. bod	0	1	0	1	0	1
	2. bod	1/512	1	1/512	1	1/1024	1
	3. bod	1/256	1	1/256	1	1/512	1
	4. bod	1/128	1	1/128	1	1/256	1
	5. bod	1/64	1	1/64	1	1/128	1
	6. bod	1/32	1	1/32	1	1/64	1
	7. bod	1/16	1	1/16	1	1/32	1
	8. bod	1/8	1	1/8	1	1/16	1
	9. bod	1/4	1	1/4	1	1/8	1
	10. bod	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/2
	11. bod	1	1/4	1	1/4	1/4	1/4
	12. bod	1	1/8	1	1/8	1/2	1/8
	13. bod	1	1/16	1	1/16	1/2	1/16
	14. bod	1	0	1	1/32	1/2	1/32
	15. bod	-	-	1	0	1/2	1/64
	16. bod	-	-	-	-	1/2	1/128
	17. bod	-	-	-	-	1	0
plocha		0,63		0,63		0,27	
koeficient CRIC		1,250		1,250		0,535	