

## ÇEŞİTLİ ANTİBİYOTİK KOMBİNASYONLARININ ACINETOBACTER SUŞLARI ÜZERİNE İN VİTRO ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI\*

Dursun Murat ALADA<sup>1</sup>, Ülkü ALTOPARLAK<sup>2</sup>, Mehmet Veysel COŞKUN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Nene Hatun Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ERZURUM

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ERZURUM

<sup>3</sup>Gümüşhane Devlet Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, GÜMÜŞHANE

### ÖZET

Özellikle son yıllarda invazif tan ve tedavi yöntemlerinin kullanımının artması ile birlikte geniş spektrumlu antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanılması sonucu, *Acinetobacter* türleri birçok antibiyotige karşı çoklu direnç geliştirmiştir. Bu durum hastanede yatan hastalarda klinik bir problem olarak karşımıza çıkmakta ve bu bakterilerle gelişen infeksiyonlarda farklı tedavi seçeneklerinin ve çeşitli antimikrobiyal kombinasyonların kullanımını zorunlu kılmaktadır. Bu çalışmada çeşitli klinik örneklerden izole edilen *A.baumannii* suşlarında kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin ve rifampisin-azitromisin kombinasyonlarının in vitro etkinlikleri yöntemiyle araştırılmıştır.

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen, en az üç antibiyotik grubuna direnç gösteren 40 adet çoklu dirençli (MDR) *A.baumannii* suşu dahil edilmiştir. Suşlar geleneksel yöntemler ve VITEK 2 otomatize sistemiyle tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testleri, Müller-Hinton agar'da disk difüzyon yöntemi ve VITEK 2 otomatize sistem kullanılarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre değerlendirilmiştir. Bakteriler çalışma gününe kadar -80°C'de saklanmıştır. Kalite kontrol için *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 kullanılmıştır. *A.baumannii* suşlarında kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin ve rifampisin-azitromisin kombinasyonlarının in vitro etkileşimleri gradiyenti difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Kombinasyonun etkinliği, fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu (FIK) indeksi kullanılarak belirlenmiştir. İlaç ilişkileri  $\Sigma$  FIK  $\leq$  0.5 ise sinerjistik,  $0.5 < \Sigma$  FIK  $< 1$  ise kısmi sinerjistik,  $\Sigma$  FIK = 1 ise aditif,  $1 < \Sigma$  FIK  $< 4$  ise etkisiz ve  $\Sigma$  FIK  $\geq 4$  ise antagonistik olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda imipenem-sulbaktam ve imipenem-amikasin kombinasyonlarında antagonizma gözlenmemiş ve sinerji oranları sırasıyla % 15 ile % 7.5 olarak tespit edilmiştir. Kolistin-sulbaktam kombinasyonunda sinerji ve antagonizma oranı sırasıyla % 5 ve % 7.5 olarak saptanırken, rifampisin-azitromisin kombinasyonunda her iki oran da %2.5 olarak belirlenmiştir. Buna göre sinerjik etkinin en fazla imipenem-sulbaktam ile imipenem-amikasin kombinasyonlarında olduğu görülmüştür; antagonizma sadece kolistin-sulbaktam ve rifampin-azitromisin kombinasyonlarında belirlenmiştir. Bununla birlikte kısmi sinerji en fazla imipenem-sulbaktam kombinasyonunda (% 47.5) saptanmıştır. Aditif etkileşim imipenem-amikasin (% 10) ve rifampisin-azitromisin arasında (% 2.5) tespit edilirken; kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarında izlenmemiştir. Etkisizlik tüm kombinasyonlarda en sık görülen etkileşim şekli olup; kolistin-sulbaktam kombinasyonunda % 75 iken, imipenem-sulbaktam'da % 37.5, imipenem-amikasin arasında % 42.5, rifampisin- azitromisin kombinasyonunda % 60 oranlarında saptanmıştır.

Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, imipenem-amikasin ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarının MDR *A.baumannii*'ye karşı yüksek oranda kısmi sinerji ve sinerji oluşturabildiği görülmüş, bu suşlarla oluşan infeksiyonların tedavisinde sinerjik etkileri test edilmek koşuluyla imipenem-amikasin ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarının alternatif bir tedavi oluşturabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter*, *Acinetobacter baumannii*, antibiyotik kombinasyonları, direnç

### SUMMARY

#### Investigation of in vitro Effects of Various Antibiotic Combinations Against *Acinetobacter* Species

Especially in recent years, *Acinetobacter* spp. gained resistance to almost all antimicrobial agents caused by increased invasive diagnostic and therapeutic procedures and, use of extended spectrum antibiotics. This is an important clinical problem for hospitalized patients and therefore new treatment options such as combination therapy are needed for treatment of infections caused by those bacteria. In this study we aimed to investigate the in vitro effects of colistin-sulbactam, imipenem-sulbactam, imipenem-amikacin and rifampin-azithromycin combinations on multidrug resistant (MDR) *A.baumannii* strains.

In this study 40 *A.baumannii* strains isolated from various clinical specimens sent from different clinical departments to Atatürk University Medical School Clinical Microbiology Laboratory and resistant to at least three antibiotic groups were included. All isolates were identified by standard methods and VITEK 2 automated system. Antibiotic susceptibility tests were performed by disk diffusion method on Mueller-Hinton Agar and VITEK 2 automated system and results were interpreted according to the recommendations of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Species kept frozen at -80°C until tested. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were used for quality control. Gradient diffusion method was used to investigate the in vitro effects of colistin-sulbactam, imipenem-sulbactam, imipenem-amikacin and rifampin-azithromycin combinations on MDR *A.baumannii* strains. Effect of antibiotic combinations to bacteria was determined by fractional inhibitory concentration (FIC) index. FIC index results were interpreted as follows:  $\Sigma$  FIC  $\leq$  0.50: synergy,  $0.5 < \Sigma$  FIC  $< 1$ : partial synergy,  $\Sigma$  FIC = 1: additive,  $1 < \Sigma$  FIC  $< 4$ : inefficient,  $\Sigma$  FIC  $\geq 4$ : antagonist.

In our study there was no antagonist interaction between imipenem-sulbactam and imipenem-amikacin combination while the synergy ratio was detected as 15 % and 7.5 % respectively in these combinations. The synergistic and antagonistic interaction ratio was 2.5 % for rifampin-azithromycin combinations and 5 %, 7.5 % for colistin-sulbactam combination respectively. According to these results while the highest synergy ratio was detected between imipenem-amikacin combination, antagonist interaction was detected only between colistin-sulbactam and rifampin-azithromycin combination. At the same time the highest partial synergy was observed between imipenem-sulbactam (47.5 %). Additive effect was found between imipenem-amikacin (10 %) and rifampin-azithromycin combinations (2.5 %). In contrast we did not detect additive effect for colistin-sulbactam and imipenem-sulbactam. Inefficient interaction was the most common interaction in whole combinations. And the results were as follows; colistin-sulbactam 75 % imipenem-sulbactam 37.5 %, imipenem-amikacin 42.5 %, rifampin-azithromycin 60 % respectively.

Finally according to the results of our study, imipenem-amikacin and imipenem sulbactam combinations have been shown to be high partial synergistic and synergistic against MDR *A.baumannii* species and therefore we suggest that imipenem-amikacin and imipenem sulbactam combinations may be an alternative treatment options for infections caused by to MDR *A.baumannii* species on the condition that the synergistic effects have been tested.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*, antibiotic combinations, resistance

**İletişim adresi:** Dursun Murat Alada, Nene Hatun Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, ERZURUM

Tel: (0442) 317 22 95; GSM: (0536) 897 31 63

e-posta: dmaladag@gmail.com

Alındığı tarih: 23.12.2016, Yayına kabul: 11.04.2017

\*3. Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi'nde sunulmuştur. Poster no: 201 (18-22 Kasım 2015, Antalya)

## GİRİŞ

Son yıllarda üçüncü kuşak sefalosporinler, aminoglikozidler, florokinolonlar ve karbapenemler gibi geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımının artması, *Acinetobacter* türlerinde çoğul antibiyotik direncinin de artmasına yol açmakta, bu direnç özellikle antibiyotik kullanımının ve hasta sirkülasyonunun yüksek olduğu birçok serviste infeksiyon tedavisinde ciddi sorunlar oluşturmaktadır<sup>(12,23,35)</sup>. Beta-laktamaz üretimi, aminoglikozid modifiye edici enzim üretimi, hücre duvarı kanalları ile dış membranda yer alan proteinlerin ekspresyonunun azalması, atım pompaları ve topoizomeraz enziminde meydana gelen mutasyonlar hastane kaynaklı *Acinetobacter* suşlarında sıkça görülen antibiyotik direnç mekanizmalarıdır. Bu direnç mekanizmalarından bir kaçını bir araya gelerek klinik örneklerde sıklıkla karşımıza çıkan tür olan *Acinetobacter baumannii*'de çoklu antibiyotik dirençli (multidrug resistance, MDR), hepsi bir araya gelerek ise bütün antibiyotiklere dirençli (pandrug resistance, PDR) suşların gelişmesine sebep olurlar<sup>(5)</sup>. Dirençli suşların oranının artması yeni tedavi protokollerine duyulan ihtiyacı ve bu yöndeki çalışmaların önemini artırmıştır. Kombinasyon tedavileri, kolistin gibi eski antibiyotiklerin yeniden gündeme gelmesi ve yeni antibiyotik üretilmesi bunlara örnek olarak verilebilir<sup>(12)</sup>. Bu çalışmada, bazı antibiyotik kombinasyonlarının MDR *A.baumannii* suşları üzerine in vitro etkinliğini test ederek MDR *A.baumannii* bu suşlarının neden olduğu infeksiyonların tedavisinde yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na Ocak 2012 - Ocak 2013 tarihleri arasında farklı kliniklerinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden izole edilen, çoğul ilaca dirençli 40 *A.baumannii* suşu üzerinden yürütülmüş olup, her hastadan bir klinik izolat çalışmaya dâhil edilmiştir.

Çalışma kapsamına alınacak *A.baumannii* suşları belirlenirken rutin laboratuvarında konvansiyonel yöntemlerle tiplendirilip Muller Hinton agarda disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testi yapılan suşlarda en az üç antibiyotik grubuna (trimetoprim/sülfametoksazol, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü, siprofloksasin, aminoglikozid, üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem grubundan üçü) dirençli suşlara VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ile kesin tanımlama ve antimikrobiyal duyarlılık testi uygulanmıştır. Her iki test sonucunda da en az üç antibiyotik grubuna (trimetoprim/sülfametoksazol, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü, siprofloksasin, aminoglikozid, üçüncü kuşak sefalosporin ve karbapenem grubundan üçü) dirençli suşlar MDR olarak kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. *A.baumannii* klinik izolatlarına karşı kolistin, sulbaktam, imipenem, amikasin, rifampisin ve azitromisin'in minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri üreticinin önerileri doğrultusunda gradient difüzyon yöntemi (E-test, bioMérieux, Fransa) ile belirlenmiş ve CLSI önerilerine göre değerlendirilmiştir<sup>(6)</sup>. CLSI kılavuzunda direnç sınır değerleri belirlenmemiş olan rifampin ve azitromisin için literatürde önerilen sınır değerler kullanılmıştır. Rifampin için  $\leq 2$  mg/L duyarlı,  $\geq 4$  mg/L dirençli ola-

rak alınmıştır<sup>(27)</sup>. Azitromisin için ise MİK  $\leq 4$  değeri duyarlı olarak kabul edilmiştir<sup>(3,31)</sup>.

### Antibiyotik Kombinasyon Etkilerinin Belirlenmesi

Antibiyotik kombinasyonlarının bakteriler üzerine etkisinin değerlendirilmesi için fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksi kullanılmıştır. Gradyent difüzyon yöntemi ile FİK indeksini belirlemek için önce kombinasyonda yer alan A ve B antibiyotiklerinin MİK değerleri kaydedilmiştir. Kombinasyon MİK değerini saptamak için besiyerine önce B şeridi konmuş ve 37°C'de bir saat inkübe edildikten sonra, konsantrasyon çizgileri tam çakışacak şekilde B şeridi çıkarılmış ve yerine A şeridi yerleştirilmiştir. 16-20 saatlik inkübasyon periyodunu takiben, inhibisyon zon çapının şerit kenarının kestiği noktada B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri kaydedilmiştir. Aynı işlem önce A ve sonra B antibiyotiği olacak şekilde tekrarlanmıştır<sup>(4)</sup>.

Kombinasyonun etkinliğini belirlemek için FİK indeksi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır<sup>(14)</sup>:

FİK A=B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri / Tek başına A'nın MİK sayısal değeri

FİK B=A'nın varlığında B'nin MİK sayısal değeri / Tek başına B'nin MİK sayısal değeri

$$\Sigma \text{FİK indeksi} = \text{FİK A} + \text{FİK B}$$

Kombinasyonların etkinliği  $\Sigma \text{FİK} \leq 0.5$  ise sinerji,  $0.5 < \Sigma \text{FİK} < 1$  ise kısmi sinerji,  $\Sigma \text{FİK} = 1$  ise aditif,  $1 < \Sigma \text{FİK} < 4$  ise etkisiz,  $\Sigma \text{FİK} \geq 4$  ise antagonizma değerlendirilmiştir.

Bu çalışmaya alınan 40 çoğul dirençli *A.baumannii* klinik izolatında denenen dört antibiyotik kombinasyonu için 160 FİK değeri hesaplanmıştır. Etkisiz, aditif, antagonistik, sinerjistik ve kısmi sinerjistik etkileşimler kaydedilmiştir.

### İstatistiksel Analizler

Kolistin-sulbaktam, imipenem-sulbaktam, imipenem-amikasin ve rifampisin-azitromisin kombinasyonlarının in vitro etkileşimlerinde elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (SPSS Incorporated, Chicago) programında Fisher'in kesin ki-kare testi kullanılarak yapılmış ve  $p < 0.05$  anlamlı olarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan 40 MDR *A.baumannii* suşunun 22'si (% 55) yara, 15'i (% 37.5) kan, biri boğaz (% 2.5), biri (% 2.5) idrar, biri de (% 2.5) beyin omurilik sıvısı örneklerinden izole edilmiştir. Bu suşların 13'ü (% 32.5) genel cerrahi yoğun bakım birimi, dokuzu (% 22.5) anestezi-reanimasyon, beşi (% 12.5) nöroşirurji, üçü (% 7.5) kalp damar cerrahi, üçü (% 7.5) ortopedi, üçü (% 7.5) iç hastalıkları servis servisinde tedavi gören hastalara aitti.

*A.baumannii* suşlarında imipenem, ampisilin, seftazidim, sefotaksim ve seftriakson antibiyotiklerinden her birine % 95; ampisilin-sulbaktama % 90; trimetoprim-sülfametoksazole % 87.5; gentamisin ve rifampisine % 85; sulbaktama % 80; amikasin ve piperasilin/tazobaktama % 75; azitromisine % 52.5 oranlarında direnç saptanmıştır. Test edilen antibiyotiklerin MİK<sub>50</sub>, MİK<sub>90</sub> değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** *A.baumannii* suşlarında test edilen antibiyotiklerin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri (µg/mL).

Antibiyotik	MİK <sub>50</sub>	MİK <sub>90</sub>
Kolistin	0.023	0.380
Sulbaktam	8	32
İmipenem	32	32
Amikasin	16	32
Rifampisin	32	32
Azitromisin	6	16

**Tablo 2.** Σ FİK değerlerine göre kombinasyonların çalışılan izolatlara etkisi [n (%)].

Kombinasyonlar	Sinerji	Kısmi sinerji	Aditif	Etkisiz	Antagonizma	Toplam
Kolistin-sulbaktam	2 (5)	5 (12.5)	-	30 (75)	3 (7.5)	40 (100.0)
İmipenem-sulbaktam	6 (15)	19 (47.5)	-	15 (37.5)	-	40 (100.0)
İmipenem-amikasin	3 (7.5)	16 (40)	4 (10)	17 (42.5)	-	40 (100.0)
Rifampin -azitromisin	1 (2.5)	13 (32.5)	1 (2.5)	24 (60)	1 (2.5)	40 (100.0)

Yapılan ki-kare testinde sinerji ve kısmi sinerjinin, imipenem-sulbaktam kombinasyonunda diğer kombinasyonlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.0001$ ). Ayrıca en düşük sinerji rifampin-azitromisin kombinasyonunda bulunmuştur. Antagonist etki, imipenemin sulbaktam ve amikasin ile olan kombinasyonlarında gözlenmezken; kolistin-sulbaktam (% 7.5) ile rifampin-azitromisin (% 2.5) antibiyotik kombinasyonlarında saptanmıştır. Aditif etkileşim imipenem-amikasin arasında % 10, rifampisin-azitromisin arasında % 2.5 oranlarında tespit edilirken; kolistin-sulbaktam ve imipenem-sulbaktam kombinasyonlarında izlenmemiştir. Etkisiz olarak tanımlanan, antibiyotiklerin birbirlerinin etkileri üzerinde bir rollerinin olmadığı durum en yüksek kolistin-sulbaktam arasında (% 75) tespit edilmiştir. Tüm kombinasyonlarda en sık etkisiz etkileşim görülmüştür. Kombinasyonların ΣFİK değerlerine göre çalışılan izolatlara etkisi Tablo 2'de özetlenmiştir.

## TARTIŞMA

*Acinetobacter* türleri içerisinde insanlarda en sık hastalığa yol açan genomik tür *A.baumannii*'dir. Sağlıklı erişkinler ve hastane personelinin derisinde kolonize olabilen bu mikroorganizma uzun süreli hastane infeksiyonlarına kaynak oluşturabilmektedir<sup>(1,25)</sup>. *A.baumannii*'nin yol açtığı infeksiyonların tedavisinde, mikroorganizmanın birçok antibiyotiğe intrinsik

dirençli olması ve çeşitli sınıf antibiyotiklere de direnç geliştirebilme potansiyeline sahip olması nedeniyle güçlüklerle karşılaşmaktadır. Bu nedenle tedavi başarısının artırılması, direnç gelişiminin önlenmesi veya azaltılması amacıyla kombine antibiyotik kullanımı önerilmektedir<sup>(13,22)</sup>. Bu durumda in vitro sinerji testlerinin yol gösterici olabileceği birçok çalışmada vurgulanmıştır<sup>(12,15,20)</sup>.

Kombinasyonu oluşturan antibiyotikler arasındaki sinerjik etkileşim araştırılırken antibiyotiklerin MİK değerlerini tek tek değerlendirerek kombinasyondaki etkileşimi yorumlamak yanlış sonuçlar doğurabilir. Bazen kombinasyonda kullanılan antibiyotiklerden birisi dirençliyen dahi sinerjik etkileşim görülebilir. Hatta dirençli iki antibiyotikle yapılan kombinasyonlarda daha yüksek oranda sinerjik etkinlik gözlenebilir. Ancak bunun tam tersi sonuçlar da gözlenebildiğinden kombinasyonu oluşturan antibiyotikleri birlikte yorumlamak daha doğru olacaktır<sup>(20)</sup>. Literatürde MDR *Acinetobacter* suşlarının oluşturduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılmak amacıyla yapılmış birçok kombinasyon çalışmaları bulunmaktadır.

Kolistin-sulbaktam kombinasyonunun etkileşimini araştırarak çeşitli çalışmalara bakıldığında, Marie ve ark.<sup>(17)</sup> yaptıkları bir çalışmada iki MDR *Acinetobacter* üzerinde kolistin-sulbaktam kombinasyonunun etkileşimini gradiyent difüzyon yöntemiyle araştırmışlar, her iki suşta da kolistin-sulbaktam arasında sinerjik etkileşim tespit

etmişlerdir. Santimaleeworagun ve ark.<sup>(27)</sup> ise sekiz adet MDR *A.baumannii* suşu üzerinde kolistin-sulbaktam kombinasyonlarının etkileşimini dama tahtası yöntemiyle araştırmışlar ve araştırmanın sonucunda kolistin-sulbaktam arasında antagonistik etkileşim saptamamışlardır. Pongpech ve ark.<sup>(24)</sup> tarafından yapılan bir başka çalışmada 30 *A.baumannii* suşu üzerinde çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının etkinliğini araştırılmış;  $FİK < 1$ 'in sinerji,  $FİK > 1$ 'in antagonizma olarak değerlendirildiği bu araştırmanın sonucunda, kolistin-sulbaktam arasında % 53.3 oranında bir sinerji ve % 13.3'lük bir antagonizma olduğu görülmüştür. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise ampisilin/sulbaktam-kolistin kombinasyonunun dirençli *Acinetobacter* suşları üzerindeki sinerjistik etkisi incelenmiş ve bu oran % 45.4 olarak tespit edilmiştir<sup>(8)</sup>. Bizim çalışmamızda kolistin ve sulbaktam arasında kolistin MİK değerlerinin çok düşük olmasından dolayı (MİK  $\leq 0.064$   $\mu\text{g/ml}$ ) dört katlık azalma gösterilemediğinden sinerji oranları düşük bulunmuş (% 5) ve üç suşta (% 7.5) antagonistik etkileşim tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları arasındaki farklılığın, FİK'i yorumlamadaki farklılığa bağlı olabileceği düşünülmektedir. Sinerji oranlarının düşük olmasının muhtemel sebebi kolistin MİK değeri gradiyent difüzyon için kullanılan şeritlerdeki en düşük değer altındaki suşlar için MİK değerlerindeki azalmanın gösterilememesi olabilir.

Lee ve ark.<sup>(18)</sup> Tayvan'da kolistin, sulbaktam ve karbapenemler dahil standart antibiyotiklerin tümüne dirençli MDR *A.baumannii* kökenli bakteriyemisi olan dört hastada karbapenem-sulbaktam kombinasyon tedavisini denemişler ve tedavi başarısı sağlamışlardır. Aynı çalışmada bu hastalardan izole edilen suşlarda karbapenem-

sulbaktam kombinasyonunun in vitro etkileşimini araştırmış ve sinerjik etkileşim tespit etmişlerdir. Ayrıca, tigesiklin ve kolistine ulaşımın zor olduğu bölgelerde karbapenem-sulbaktam kombinasyonunun kolistin ve tigesiklin tedavisine alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. Choi ve ark.<sup>(6)</sup> bir imipenem ve kolistin, bir imipenem (IMP-1 MBL pozitif), bir kolistin dirençli; bir de imipenem ve kolistin duyarlı olmak üzere dört *A.baumannii* suşunda imipenem-sulbaktam kombinasyonunun etkileşimini mikrodilüsyon yöntemiyle araştırmışlar ve sinerjistik etkileşim tespit etmişlerdir. Jingshu ve ark.'nın<sup>(16)</sup> yaptıkları çalışmada ise sulbaktam, imipenem ve meropenemle kombine edilmiş; kısmi sinerji en sık görülen etkileşim olarak rapor edilirken, antagonizma görülmemiştir. Yine Pongpech ve ark.<sup>(24)</sup> 30 *A.baumannii* suşu üzerinde meropenem ile sulbaktam kombinasyonunda % 70 oranında sinerji tespit etmişlerdir. Ülkemizde yapılan bazı çalışmalarda karbapenemlerin sulbaktam ile kombinasyonunun dirençli *Acinetobacter* suşlarına karşı sinerjistik etkisi araştırılmış ve bu oran bir çalışmada meropenem-sulbaktam kombinasyonu için % 48, imipenem-sulbaktam kombinasyonunun için % 45 olarak bulunurken başka bir çalışmada meropenem-sulbaktam kombinasyonunda aditif etki ve kısmi sinerjik etkiye rastlanırken sinerjistik etkiye rastlanmamıştır<sup>(9,32)</sup>. Bizim çalışmamızda imipenem-sulbaktam arasında elde edilen % 15'lik sinerji ve % 47.5'lik kısmi sinerji oranları bu çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Haddad ve ark.'nın<sup>(15)</sup> 1999 ile 2003 yılları arasında hemen hemen tüm antibiyotiklere dirençli 10 *A.baumannii* izolatu üzerinde, gradiyent difüzyon yöntemiyle değişik antibiyotik kombinasyonlarının etkinli-

ğini araştırdıkları çalışmada imipenem dirençli suşlarda imipenem-amikasin kombinasyonu için % 30 oranında sinerjik etkileşim tespit edilirken, hiçbir suşta antagonistik etkileşim saptamamışlardır. şener ve ark.<sup>(28)</sup> 2005 yılında ABD'de bir hastanede yaptıkları çalışmada imipenem-amikasin etkileşimini dama tahtası yöntemiyle araştırmışlardır. Sonuç olarak % 16.6 oranında sinerji saptanırken, % 83.3 suşta antibiyotik kombinasyonu etkisiz olarak değerlendirilmiş, antagonizma gözlenmemiştir. 2011 yılında yapılan bir çalışmada da imipenem ile amikasin kombinasyonunun etkileşimi dama tahtası yöntemiyle araştırılmış, % 16 sinerji görülürken, antagonistik etkileşim gözlenmemiştir<sup>(29)</sup>. 1997 yılında imipenem-amikasin kombinasyonunun in vitro etkileşimi 14 suş üzerinde yapılan bir çalışmada araştırılmıştır<sup>(21)</sup>. Çalışma sonucunda, üç suşta sinerji, 11 suşta kısmi sinerji görülmüştür. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda ise dirençli *Acinetobacter* suşlarında imipenem-amikasin kombinasyonunun sinerjik etkisi % 16.6 ve % 33 olarak tespit edilmiştir<sup>(2,28)</sup>. Bizim alışmamızda da bu kombinasyonda antagonistik etkileşim görülmemiş, % 7.5 oranında sinerji, % 40 oranında kısmi sinerji ve % 52.5 oranında etkisizlik gözlenmiştir. Sinerji oranları arasındaki fark, suş sayıları veya coğrafik bölge farklılıklarından kaynaklanabilir.

*Acinetobacter* infeksiyonlarında rifampisin ve azitromisinin etkisini araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Deney hayvanları üzerinde rifampin ve azitromisinin *Acinetobacter* suşları üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir in vivo çalışmada, her iki ilacın da *Acinetobacter* türleri üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir<sup>(19)</sup>. Rifampinle yapılan bir başka in vivo çalışmada ise monoterapilerde erken dönemde yüksek

oranda direnç geliştiği dikkat çekmiştir<sup>(33)</sup>.

Azitromisinin *Acinetobacter* suşları üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir in vitro çalışmada her ne kadar azitromisinin *Acinetobacter* suşları için standart MİK değerleri henüz belirlenmemişse de, azitromisin MİK  $\leq 4$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  olan suşlar duyarlı olarak kabul edilmiş ve azitromisinin duyarlı suşlarda hızlı bakterisidal aktivite, çoğul dirençli suşlarda ise bakteriyostatik etki gösterdiği gözlenmiştir. Timurkaynak ve ark.<sup>(31)</sup> MDR *A.baumannii* suşları üzerinde yaptıkları bir başka çalışmada azitromisin için MİK<sub>50</sub> değerini yüksek bulmuşlardır. Bizim alışmamızda da azitromisin MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değeri sırasıyla 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ve 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olarak tespit edilmiştir.

*Acinetobacter* suşlarında rifampinin in vitro etkinliğini gösteren az sayıdaki araştırmada, Saballs ve ark.<sup>(26)</sup> % 70, Yen ve ark.<sup>(34)</sup> % 48, Fernandez-Cuenca ve ark.<sup>(11)</sup> % 50.7, Song ve ark.<sup>(30)</sup> % 95 oranında rifampin direnci saptamışlardır. Bizim alışmamızda ise % 85 oranında rifampin direnci görülmüştür.

Günümüzde rifampisin-azitromisin kombinasyonunun MDR *A.baumannii* suşları üzerinde hızlı bakterisidal aktivite gösterdiğini vurgulayan çalışmalar bulunmaktadır<sup>(13)</sup>. Bizim alışmamızda da rifampin azitromisinle kombine edilmiş ve % 35 oranında sinerji ve kısmi sinerji görülmüştür.

Antibiyotik kombinasyonlarının in vitro etkileşimlerinden elde edilen sonuçlarda araştırmalar arasındaki farklılıklar dikkat çekmektedir. Bunun sebepleri olarak da seçilen suşların klonlarının tanımlamasındaki yöntem farklılıkları, denenen suşların özelliklerinin farklı olması, kullanılan metod için üretici firma önerilerine uyulmaması ve sinerjinin tanımlanmasında farklı metodların uygulanması gösterilmiştir<sup>(9)</sup>.

Çalışmamızda imipenem, sulbaktam ve amikasin yüksek dirençli suşlarda, bu antibiyotiklerin ikili kombinasyonlarından elde ettiğimiz yüksek orandaki sinerji/kısmi sinerji oranları, kombine antibiyotik seçiminde iyi birer seçenek olabileceklerini göstermektedir.

Çalışmamızda rifampin ve azitromisin kombinasyonu için elde ettiğimiz % 35'lik kısmi sinerji, % 2.5'lik antagonist etkileşim ve % 60'lık etkileşimin görülmediği suşlar dikkate alındığında, rifampin ve azitromisin kombinasyonu için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

Kolistin-sulbaktam arasındaki etkileşimde ise; kolistin MİK değerlerinin çok düşük olması nedeniyle sinerji oranları çok düşük tespit edilse de, kolistinle birlikte kullanım durumunda sulbaktama ait MİK değerlerinin tamamının sulbaktama duyarlı düzeydeki MİK değerlerine gelmesi, kombine kullanım durumunda direnç gelişiminin önemli oranda düşürebileceğine dair bir veri olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Allen DM, Hartman BJ. *Acinetobacter* species, "Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 6. baskı kitabında" s. 2632-6, Churchill Livingstone Publishers, Philadelphia, (2005).
2. Altoparlak Ü, Özkurt Z, Erol S. Nosokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı çeşitli antibiyotik kombinasyonlarının in-vitro etkileşiminin araştırılması, *ANKEM Derg* 2003;17(1):46-50.
3. Appleman MD, Belzberg H, Citron DM, Heseltine PN, Yellin AE, Murray J, Berne TV. In vitro activities of nontraditional antimicrobials against multiresistant *Acinetobacter baumannii* strains isolated in an intensive care unit outbreak, *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(4):1035-40. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.4.1035-1040.2000>
4. Bonapace CR, White RL, Friedrich LV, Bosso JA. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with E-test, time-kill and checkerboard methods, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000;38(1):43-50. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(00\)00163-2](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(00)00163-2)
5. Bonomo RA, Szabo D. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii* species and *Pseudomonas aeruginosa*, *Clin Infect Dis* 2006;43(2):49-56. <https://doi.org/10.1086/504477>
6. Choi JY, Park YS, Cho CH et al. Synergic in-vitro activity of imipenem and sulbactam against *Acinetobacter baumannii*, *Clin Microbiol Infect* 2004;10(12):1098- 1101. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.00987.x>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twentieth Informational Supplement M100-S24. CLSI, Wayne, PA, USA, (2014).
8. Çıkman A, Ceylan MR, Parlak M et al. İmipeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* İzolatlarında Kolistin-Ampisilin/Sulbaktam Kombinasyonu Etkinliğinin Değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bul* 2013; 47(1):147-151. <https://doi.org/10.5578/mb.4523>
9. Deveci A, Coban AY, Acicbe O, Tanyel E, Yaman G, Durupinar B. In-vitro effects of sulbactam combinations with different antibiotic groups against clinical *Acinetobacter baumannii* isolates, *J Chemother* 2012;24(5): 247-52. <https://doi.org/10.1179/1973947812Y.000000029>
10. Dreses-Werringloer U, Padubrin I, Zeidler H, Köhler L. In-vitro effects of azithromycin and rifampin on *Chlamydia trachomatis* infection, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(11): 3001-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.11.3001-3008.2001>
11. Fernandez-Cuenca F, Martinez-Martinez L, Conejo MC, Ayala JA, Perea EJ, Pascual A. Relationship between beta-lactamase pro-

- duction, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, *J Antimicrob Chemother* 2003;51(3):565-74.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkg097>
12. García-Quintanilla M, Pulido MR, López-Rojas R, Pachón J, McConnell MJ. Emerging therapies for multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*, *Trends Microbiol* 2013;21(3):157-63.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.12.002>
  13. Giamarellou H, Bourboulis EJ, Xirouchaki E, Giamarellou H. Interactions of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2001;40(3):117-20.  
[https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(01\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(01)00258-9)
  14. Greco WR, Bravo G, Parsons JC. The search for synergy: a critical review from a response surface perspective, *Pharmacol Rev* 1995;47(2):331-85.
  15. Haddad FA, Horn KV, Carbonaro C, Rosenfeld MA, Wormser GP. Evaluation of antibiotic combinations against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* using the E-test, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;24(8):577-9.  
<https://doi.org/10.1007/s10096-005-1366-y>
  16. Ji J, Du X, Chen Y, Fu Y, Wang H, Yu Y. In-vitro activity of sulbactam in combination with imipenem, meropenem, panipenem or cefoperazone against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*, *Int J Antimicrob Agents* 2013;41(4):400-1.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.12.014>
  17. Kempf M, Djouhri-Bouktab L, Brunel JM, Raoult D, Rolain JM. Synergistic activity of sulbactam combined with colistin against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Int J Antimicrob Agents* 2012;39(2):180-1.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.10.001>
  18. Lee NY, Wang CL, Chuang YC et al. Combination carbapenem-sulbactam therapy for critically ill patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: four case reports and an in-vitro combination synergy study, *Pharmacotherapy* 2007;27(11):1506-11.
  19. Lopez-Hernandez, Alarcon T, Lopez-Brea M. Evolution of antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* clinical isolates, *Rev Esp Quimioter* 2000;13(4):394-400.
  20. Manchanda V, Sanchaita S, Singh N. Multidrug resistant *Acinetobacter*, *J Glob Infect Dis* 2010;2(3):291-304.  
<https://doi.org/10.4103/0974-777X.68538>
  21. Marques MB, Brookings ES, Moser SA, Sonke PB, Waites KB. Comparative in vitro antimicrobial susceptibilities of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* and synergistic activities of nine antimicrobial combinations, *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41(5):881-5.
  22. Murray CK, Hospenthal DR. Treatment of multidrug resistant *Acinetobacter*, *Curr Opin Infect Dis* 2005;18(6):502-6.  
<https://doi.org/10.1097/01.qco.0000185985.64759.41>
  23. Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen, *Clin Microbiol Rev* 2008;21(3):538-82.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
  24. Pongpech P, Amornnopparattanakul S, Panapakdee S, Fungwithaya S, Nannha P, Dhiraputra C, Leelarasamee A. Antibacterial activity of carbapenem-based combinations against multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *J Med Assoc Thai* 2010;93(2):161-71.
  25. Roberts SA, Findlay R, Lang SDR. Investigation of an outbreak of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care burns unit, *J Hosp Infect* 2001;48(3):228-32.  
<https://doi.org/10.1053/jhin.2001.0985>
  26. Saballs M, Pujo MI, Tubau F et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections, *J Antimicrob Chemother* 2006;58(3):697-700.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkl274>
  27. Santimaleeworagun W, Wongpoowarak P, Chayakul P, Pattharachayakul S, Tansakul P, Garey KW. In-vitro activity of colistin or sulbactam in combination with fosfomycin or imipenem against clinical isolates of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* pro-



- ducing OXA-23 carbapenemases, *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 2011; 42(4): 890-900.
28. Sener AG, Turk M, Afsar I, Turker M. Investigation of in-vitro interactions of ampicillin/sulbactam-ciprofloxacin, ampicillin/sulbactam-amikacin, imipenem-ciprofloxacin, imipenem-amikacin combinations against multiple resistant *Acinetobacter* strains, *Turk J Infect* 2005;19(1):107-10.
29. Sheng WH, Wang, JT, Li SY, Lin YC, Cheng A, Chen YC, Chang SC. Comparative in-vitro antimicrobial susceptibilities and synergistic activities of antimicrobial combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter* species: *Acinetobacter baumannii* versus *Acinetobacter* genospecies 3 and 13TU, *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011;70(3): 380-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.03.003>
30. Song JY, Kee SY, Hwang IS, et al. In-vitro activities of carbapenem/sulbactam combination, colistin, colistin/rifampicin combination and tigecycline against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, *J Antimicrob Chemother* 2007;60(2):317-22.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkm136>
31. Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In-vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units, *J Antimicrob Agents* 2006;27(3): 224-8.
32. Türk Dağı H, Kuş H, Arslan U, Tuncer İ. Karbapeneme dirençli *Acinetobacter baumannii* izolatlarına karşı sulbactam ile imipenem, meropenem ve sefoperazon kombinasyonlarının in vitro sinerjistik aktivitesi, *Mikrobiyol Bul* 2014; 48(2):311-5.  
<https://doi.org/10.1016/j.jantimicag.2005.10.012>
33. Vila J, Pachon J. Therapeutic options for *Acinetobacter baumannii* infections: an update, *Expert Opin Pharmacother* 2012;13(16): 2319-36.  
<https://doi.org/10.1517/14656566.2012.729820>
34. Yen TT, Lily NG, Yong S, Karen P. Susceptibility testing of unconventional antibiotics against multiresistant *Acinetobacter* spp. by agar dilution and Vitek 2, *Diagn Microbiology Infect Dis* 2007;58(3):357-61.  
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.02.008>
35. Zarrilli R, Giannouli M, Tomasone F, Triassi M, Tsakris A. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: the molecular epidemic features of an emerging problem in health care facilities, *J Infect Dev Ctries* 2009; 3(5):335-41.  
<https://doi.org/10.3855/jidc.240>