

# Karbapeneme Dirençli *Acinetobacter baumannii* Suşlarında Kolistin/Sulbaktam Kombinasyonu Etkinliğinin Değerlendirilmesi

## Evaluation of the Efficacy of Colistin/Sulbactam Combination on Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains

Yeliz ÇETİNKOL<sup>1</sup>, Murat TELLİ<sup>2</sup>, Arzu ALTUNÇEKİÇ YILDIRIM<sup>3</sup>, Mustafa Kerem ÇALGIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ordu.

<sup>1</sup> Ordu University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ordu, Turkey.

<sup>2</sup> Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

<sup>2</sup> Adnan Menderes University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Aydın, Turkey.

<sup>3</sup> Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ordu.

<sup>3</sup> Ordu University Faculty of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Ordu, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 02.10.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 23.04.2016

### ÖZ

Hastane enfeksiyonu etkenleri arasında önemli bir yer tutan *Acinetobacter baumannii* türleri, antibiyotiklere çoklu direnç geliştirdiği için tedavisi zor fırsatçı patojen mikroorganizmalardır. Tedavide kullanılacak antibiyotik seçenekleri sınırlı olduğu için çeşitli antibiyotik kombinasyonları kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, *A. baumannii* izolatlarının kolistin ve sulbaktam için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin saptanması ile kolistin-sulbaktam kombinasyonunun in vitro aktivitesinin belirlenmesidir. Çalışmaya, çeşitli klinik örneklerden (32 trakeal aspirat, 10 kan, 6 idrar, 2 yara) izole edilen 50 adet çok ilaca dirençli (ÇİD) *A. baumannii* suşu dâhil edilmiştir. Bakteri tanımlaması geleneksel yöntemler ve Vitek-2 (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılıkları, Mueller-Hinton agarda disk difüzyon yöntemi ve Vitek-2 otomatize sistemi kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçlar CLSI standartlarına göre yorumlanmıştır. *A. baumannii* suşlarında kolistin ve sulbaktam için MİK değerleri ve kolistin-sulbaktam kombinasyonlarının in vitro etkileşimleri E-test (BioMerieux, Fransa) yöntemiyle saptanmıştır. İlaç kombinasyonlarının etkinliğinin belirlenmesinde fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksi kullanılmıştır. Karbapenem direncine neden olan oksasilinaz ve metallo-beta-laktamaz (MBL) genlerinin varlığı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırılmış; klonal ilişkinin belirlenmesi için değişken alanlı jel elektroforezi (PFGE) uygulanmıştır. Çalışmamızda, suşların hepsi (%100) kolistine, 48'i (%96) trimetoprim/sülfametoksazole ve 18'i (%36) tişesikline duyarlı olarak bulunmuş; buna karşın tüm suşlarda sulbaktam ve karbapenem dahil, çalışılan tüm antibiyotiklere karşı direnç izlenmiştir. Kolistin-

**İletişim (Correspondence):** Yrd. Doç. Dr. Yeliz Çetinkol, Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ordu, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 505 216 4292, **E-posta (E-mail):** dryelizcetinkol@gmail.com

sulbaktam kombinasyonu FİK indeksine göre değerlendirildiğinde, suşların tamamında antagonist etki saptanmıştır. Karbapeneme dirençli olan bu suşların tümü OXA-51 ve OXA-23 pozitif iken, 3 (%6)'ü OXA-24 pozitif bulunmuştur. MBL'lerden OXA-58, OXA-48, IPM, SPM, SIM, GIM, VIM ve NDM-1 genlerine rastlanmamıştır. Moleküler tiplendirme sonuçları incelendiğinde, PFGE ile suşların klonal dağılımında bir suş hariç hepsinin A pulstotipinde olduğu belirlenmiştir. ÇİD *A.baumannii* suşlarında yapılan kolistin-sulbaktam kombinasyonunun in vitro etkinlik değerlendirilmesinde, tüm suşlarda antagonistik etki izlenmiştir. Yapılan direnç analizi ve klonal değerlendirmede, suşların aynı klona ait ve aynı direnç genlerine sahip olduğu ve bu nedenle in vitro etkinlik sonucunda tüm suşlarda benzer etkinin izlendiği düşünülmüştür. Özellikle kritik hastaların izlendiği ve tedavisinde güçlü çeken dirençli suşların izole edildiği ünitelerde, kombinasyon tedavilerine karar verilirken sinerji çalışmalarının yapılarak, tedavide tercih edilecek kombinasyonun hastaneye hatta üniteye özel olarak belirlenmesinin faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** *Acinetobacter baumannii*; sinerji; kolistin; sulbaktam.

## ABSTRACT

*Acinetobacter baumannii* strains, are opportunistic pathogens that cause severe nosocomial infections that are difficult to treat due to development of resistance to multiple antibiotics. As the antibiotic choices to be used in treatment are limited, combinations of a variety of antibiotics are used. The aims of this study were to identify the minimal inhibitory concentration (MIC) values of colistin and sulbactam against *A.baumannii* isolates and to determine the in vitro activity of colistin-sulbactam combination. A total of 50 *A.baumannii* strains isolated from different clinical specimens (32 tracheal aspirates, 10 blood, 6 urine and 2 wound samples) were included in the study. The identification of bacteria was performed by traditional methods and Vitek-2 (BioMerieux, France) automated system. Antibiotic susceptibilities were detected by Mueller-Hinton agar disk diffusion method and Vitek-2 automated system and the results were interpreted according to the CLSI standards. MIC values of colistin and sulbactam against *A.baumannii* strains and in vitro interactions of colistin-sulbactam combinations were determined with the E-test (BioMerieux, France). Fractional inhibitory concentration (FIC) index was used for the detection of efficacy of drug combinations. The presence of oxacillinase and metallo-beta-lactamase (MBL) genes that lead carbapenem resistance was investigated by polymerase chain reaction (PCR), and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was performed for the determination of clonal relationship. In our study, all strains (100%) were detected as susceptible to colistin, 48 (96%) to trimethoprim/sulphamethoxazole and 18 to (36%) tigecyclin; however all of them were resistant to the other studied antibiotics, including sulbactam and carbapenem. When the colistin-sulbactam combination was assessed according to FIC index, all strains were found to have antagonistic effect. All of the carbapenem-resistant strains were positive for OXA-51 and OXA-23, and 3 (6%) were positive for OXA-24. Among MBLs, OXA-58, OXA-48, IPM, SPM, SIM, GIM, VIM and NDM-1 genes were not detected. In the evaluation of PFGE results it was found that the clonal distribution of the strains, except one, were all pulstotype A. In the assessment of in vitro efficacy of the colistin-sulbactam combination against *A.baumannii* strains with multidrug resistance, antagonistic effect was observed in all strains. In the resistance and clonal analysis it was determined that the strains belonged to the same clone, and they had the same resistance genes and therefore the result of the in vitro activity was considered to have similar effect among all strains. It was decided that especially in units where critical patients are monitored and where resistant strains that are difficult to treat are isolated, performing synergy studies may be beneficial for the selection of combination treatment and the determination of the treatment combination to be chosen specifically for the hospital or even the unit.

**Keywords:** *Acinetobacter baumannii*; synergy; colistin; sulbactam.

## GİRİŞ

Hastane enfeksiyonu etkenleri arasında ilk sıralarda yer alan *Acinetobacter baumannii*, birçok antibiyotiğe karşı doğal dirençli olup, özellikle yoğun bakım ünitelerinde izole edilen suşlarda karbapenemler dahil birçok antibiyotiğe karşı direnç saptanmaktadır. *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılacak antibiyotik seçeneklerinin sınırlı hale gelmesi, farklı tedavi seçeneklerinin ve çeşitli antimikrobiyal kombinasyonların kullanımını zorunlu kılmaktadır. Kombine tedavide kullanılan antibiyotiklerin arasında sinerjik aktivitenin olması klinik açıdan önemlidir ve in vitro sinerji testleri yol göstericidir<sup>1</sup>.

İlk olarak 1952 yılında kullanılmaya başlanan kolistin, çok ilaca dirençli (ÇİD) *A.baumannii* suşlarına karşı oldukça iyi etki göstermektedir. Kolistin dışında tüm antibiyotiklere direnç gösteren *A.baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde kolistinin tek başına kullanılması, bu antibiyotiğe direnç gelişmesine neden olabileceği için, başka antibiyotiklerle kombine kullanımı tercih edilmelidir<sup>2</sup>. Kombinasyondan beklenen bir diğer etki de, mikroorganizmaya karşı etkinliğin artırılabilmesidir. Yapılan bazı çalışmalar, kolistinin gram-negatif bakterilere karşı karbapenemlerle sinerji oluşturduğunu göstermiştir<sup>3</sup>. Kolistin karbapenemlerle birlikte kullanıldığında, mikroorganizma sadece kolistine duyarlı olmasına karşın, karbapenem kullanımı sonucunda bakteri hücre duvarında ortaya çıkan kısmi harabiyet ile hücre membranı üzerindeki kolistin etkinliği zamana bağlı olarak artış göstermektedir. Çeşitli beta-laktamazlara karşı güçlü inhibitör etki gösteren sulbaktam da, *A.baumannii*'ye karşı yüksek düzeyde inhibitör aktiviteye sahiptir. Ancak sınır değerlerinin olmaması, sulbaktamın tek başına ciddi *A.baumannii* enfeksiyonlarında kullanımını sınırlamaktadır. Bu nedenle sulbaktam, kombine olarak kullanılmakta ve penisilin bağlayan proteinlere bağlanarak beta-laktamların bakterisidal aktivitesini artırmaktadır<sup>4</sup>. Bu çalışmanın amacı, yoğun bakımdan izole edilen *A.baumannii* izolatlarının kolistin ve sulbaktam için MİK değerlerinin saptanması ile kolistin-sulbaktam kombinasyonunun in vitro aktivitesinin belirlenmesidir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Ocak 2013-Ağustos 2014 tarihleri arasında, laboratuvarımıza Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesinden gönderilen çeşitli klinik örneklerden (32 trakeal aspirat, 10 kan, 6 idrar, 2 yara) izole edilen, 50 adet ÇİD *A.baumannii* suşu dâhil edildi. Aynı hastadan izole edilen suşlardan sadece biri çalışmaya alındı. Bakteri tanımlaması geleneksel yöntemler ve Vitek-2 (BioMerieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılarak yapıldı. Antibiyotik duyarlılıkları, Mueller-Hinton agarda disk difüzyon yöntemi ve Vitek-2 otomatize sistemi kullanılarak değerlendirildi ve sonuçlar CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standartlarına göre yorumlandı<sup>5</sup>. Bakteriler çalışma gününe kadar 80°C'de saklandı. Kontrol suşu olarak *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı. Karbapeneme dirençli kökenlerde antibiyotiklerin MİK değerleri E-test yöntemi (BioMerieux, Fransa) ile üretici firma önerileri doğrultusunda belirlendi ve CLSI kılavuzuna göre yorumlandı<sup>5</sup>.

*A.baumannii* suşlarında kolistin ve sulbaktam için MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri ve kolistin-sulbaktam kombinasyonlarının in vitro etkileşimleri E-test (BioMerieux, Fransa)

yöntemiyle saptandı. Bunun için 0.5 McFarland ayarında bakteri süspansiyonundan iki adet Mueller-Hinton agara ekim yapıldı ve her birine iki antibiyotiğin E-test şeritleri konuldu. Bir saat sonra plaklardan birindeki şeritler kaldırıldı ve aynı hizaya gelecek şekilde diğer antibiyotiğin şeritleri yerleştirildi. Plaklar 35°C'de 24 saat bekletildikten sonra her bir ilaç ve kombinasyon için MİK değerleri okundu. İlaç kombinasyonlarının etkinliğinin belirlenmesinde fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) indeksi kullanıldı. “ $\Sigma$  FİK indeksi = 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)” formülü kullanıldı. Toplam FİK indeksi  $\leq 0.5$  ise sinerjik,  $1 - > 0.5$  ise aditif,  $< 2 - > 1$  ise farksız (indifferent) ve  $\geq 2$  ise antagonist etki olarak değerlendirildi<sup>6</sup>.

Karbapenem direncine neden olan oksasilinaz genlerinden OXA-58 grup, OXA-23 grup, OXA-51 grup, OXA-24 grup, OXA-48 ve metallo-beta-laktamaz (MBL) genleri IPM, VIM, GIM, SPM, SIM, NDM-1 varlığı, bu enzimleri kodlayan gen bölgelerine ait özgül gen dizileri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile araştırıldı<sup>7</sup>. Karbapeneme dirençli suşlardaki klonal ilişkinin araştırılması için PFGE (Pulsed-field gel electrophoresis) deneyi yapıldı<sup>8</sup>.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan *A.baumannii* izolatlarının hepsi kolistine duyarlı bulunurken, sulbaktama dirençli olarak saptanmıştır. İzolatların MİK aralıkları, MİK<sub>50</sub> ve MİK<sub>90</sub> değerleri, kolistin için sırasıyla 8, 32 ve  $\leq 0.5$  µg/ml; sulbaktam içinse sırasıyla  $4 - > 128$ , 32 ve  $\geq 32$  µg/ml olarak saptanmıştır.

Suşların antibiyotik duyarlılıkları değerlendirildiğinde, tüm izolatlara karşı etkili antibiyotiğin kolistin olduğu tespit edilmiştir. Suşların 48'i (%96) trimetoprim/sülfametoksazole ve 18'i (%36) tigesikline duyarlı bulunmuş olup, bunun dışında çalışılan tüm antibiyotiklere karşı direnç izlenmiştir.

Tümü kolistine duyarlı olan *A.baumannii* suşları için kolistin-sulbaktam kombinasyonu FİK indeksine göre değerlendirildiğinde, suşların tamamında antagonist etki saptanmıştır.

Karbapeneme dirençli olan bu suşların tümü OXA-51 ve OXA-23, 3'ü (%6) ise OXA-24 pozitif bulunmuştur. Suşların hiçbirinde MDL'lardan OXA-58, OXA-48, IPM, SPM, SIM, GIM, VIM ve NDM-1 genlerine rastlanmamıştır. Moleküler tiplendirme sonuçları incelendiğinde, PFGE ile suşların klonal dağılımında bir suş hariç hepsinin A pulsotipinde olduğu belirlenmiştir. Kalan tek suşun C pulsotipinde olduğu gösterilmiştir. Bu pulsotiplere ait suşların birbirleriyle olan benzerliği incelendiğinde, suşların büyük çoğunluğunun (%98) tek bir klona ait olduğu gösterilmiş ve salgın izolatı olarak değerlendirilmiştir.

## TARTIŞMA

*A.baumannii* suşlarında son yıllarda giderek artan çoklu ilaç direnci bu suşlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde kombine antibiyotiklerin kullanımını gündeme getirmiştir<sup>9</sup>. Karbapenemler, sulbaktam ve aminoglikozidler tedavide en çok kullanılan kombinasyonlar olmakla birlikte, giderek artan karbapenem direnci farklı kombinasyon arayışlarına yol açmıştır. Kolistin; rifampisin, imipenem, meropenem, sulbaktam ampisilin ve tigesiklin

gibi çeşitli ilaçlarla kombinasyonunun sinerjik aktivite gösterdiği bildirilmiştir<sup>3,10,11</sup>. ÇİD *A.baumannii* suşlarında sulbaktam/kolistin kombinasyonunun etkinliğinin değerlendirildiği çeşitli çalışmalar, bu kombinasyonun yüksek oranda sinerjik etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur<sup>12,13</sup>. Ancak kombinasyon etkisi suşlara göre farklılık gösterebilmektedir. Kombine tedavide uygulanan antibiyotikler arasında, sinerjik aktivitenin olduğunun gösterilebilmesi için in vitro sinerji testleri yol göstericidir. Çalışmamızda da önerilen tedaviler doğrultusunda, yoğun bakım ünitemizde sık kullanılan kombinasyon seçenekleri arasında bulunan sulbaktam-kolistin kombinasyonunun in vitro etkisi değerlendirilmiştir.

Kolistinin sulbaktam ile kombinasyonundan beklenen sonuç sinerjik etki olmakla birlikte; Principe ve arkadaşları<sup>14</sup> *A.baumannii* suşlarındaki antibiyotik direncinin, birden çok mekanizma ile karmaşık etkileşimler sonucunda geliştiğini göstermiştir. Bu nedenle direncin önüne geçmek ve antagonist etkileşimi azaltmak için kolistin ile yapılan kombinasyon terapisinin iyi belirlenmesi gerekmektedir. Rodriguez ve arkadaşları<sup>15</sup> da, karbapeneme dirençli bazı *A.baumannii* suşlarında, antimikrobiyal ilaçların kolistin ile kombine edilmesinin aktivitede azalmaya ve antibiyotik direncine neden olduğunu göstermiştir. Çıkman ve arkadaşları<sup>16</sup>, imipeneme dirençli *A.baumannii* suşlarında kolistin-ampisilin/sulbaktam kombinasyonunun sinerjik aktivitesini değerlendirmiş, bu kombinasyonun imipeneme dirençli *A.baumannii* suşlarının %45'i üzerinde sinerjik etkinlik gösterirken, %27'sinde antagonist etkileşim oluşturduğunu saptamışlardır. Ayrıca kolistine dirençli suşlarda, kolistinin, ampisilin/sulbaktam ile yüksek oranda sinerjik etki gösterdiği, buna karşın kolistine duyarlı suşlarda bu kombinasyonun daha ziyade antagonist etki oluşturduğunu belirlemişlerdir<sup>16</sup>. Thamlikitkul ve arkadaşlarının<sup>17</sup> yaygın ilaca dirençli (extensive drug resistant) *A.baumannii* suşlarında kolistin ve sulbaktam kombinasyonunu değerlendirdikleri çalışmada, kolistine dirençli suşlarda bazı konsantrasyonlarda sinerjik etki izlenmekle birlikte, kolistine duyarlı suşlarda bu etki farksız olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda, yoğun bakım ünitemizden izole edilen *A.baumannii* suşlarında kolistin-sulbaktam kombinasyonu in vitro antagonistik etkili olarak bulunmuştur. Bu sonuçta, suşların tümünün kolistine duyarlı olmasının önemli etkisi olduğu düşünülebilir. Yapılan direnç geni değerlendirmesinde, ülkemizde diğer merkezlerden bildirildiği gibi, OXA-23 ve OXA-51 direnç genleri hakim olarak saptanmış, suşların %98'inin aynı klona ait olduğu görülmüştür. Suşların tümünde izlenen antagonistik etki, tüm suşların kolistine duyarlı olması, tek bir yoğun bakım ünitesinden elde edilmiş olması ve aynı klona ait olmaları ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, hastanemizin Anestezi ve Reanimasyon Yoğun Bakım Ünitesinden gelen çeşitli klinik örneklerden izole edilen, ÇİD *A.baumannii* suşlarında yapılan kolistin-sulbaktam kombinasyonunun in vitro etkinlik değerlendirmesinde, tüm suşlarda antagonistik etki izlenmiştir. Yapılan direnç analizi ve klonal değerlendirmede, suşların aynı klona ait ve aynı direnç genlerine sahip olduğu ve bu nedenle in vitro etkinlik sonucunda tüm suşlarda benzer etkinin izlendiği düşünülmüştür. Özellikle kritik hastaların takip edildiği ve tedavisinde güçlük çekilen dirençli suşların izole edildiği ünitelerde, kombinasyon tedavilerine karar verilirken sinerji çalışmalarının yapılarak tedavide tercih edilecek kombinasyonun hastaneye hatta üniteye özel olarak belirlenmesinin faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Türk Dağı H, Kuş H, Arslan U, Tuncer İ. In vitro synergistic activity of sulbactam in combination with imipenem, meropenem and cefoperazone against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. Mikrobiyol Bul 2014; 48(2): 311-5.
2. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. Clin Infect Dis 2005; 40(9): 1333-41.
3. Timurkaynak F, Can F, Kurt Azap O, Demirbilek M, Arslan H, Özbalkıç Karaman S. 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. Int J Antimicrob Agents 2006; 27(3): 224-8.
4. 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.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved Standard, 8th ed. CLSI Document M11-A8, 2012. CLSI, Wayne, PA.
6. British Society for Antimicrobial Chemotherapy. BSAC Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 13 May 2013. Available at: [http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Version-12-Apr-2013\\_final1.pdf](http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Version-12-Apr-2013_final1.pdf)
7. Park YS, Lee H, Lee KS, et al. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: risk factors for acquisition and prevalent OXA-type carbapenemases—a multicentre study. Int J Antimicrob Agents 2010; 36(5):430-5.
8. Seifert H, Schulze A, Baginski R, Pulverer G. Comparison of four different methods for epidemiologic typing of *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol 1994; 32(7): 1816-9.
9. Perez F, Hujer MA, Hujer MK, Decker KB, Rather PN, Bonomo AR. Global challenge of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51(10): 3471-84.
10. Tripodi MF, Durante-Mangoni E, Fortunato R, Utili R, Zarrilli R. Comparative activities of colistin, rifampicin, imipenem and sulbactam/ampicillin alone or in combination against epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing OXA-58 carbapenemases. Int J Antimicrob Agents 2007; 30(6): 537-40.
11. Karaoglan I, Zer Y, Bosnak VK, Mete AO, Namiduru M. In vitro synergistic activity of colistin with tigecycline or  $\beta$ -lactam antibiotic/ $\beta$ -lactamase inhibitor combinations against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Int Med Res 2013; 41(6): 1830-7.
12. Lee CH, Tang YF, Su LH, Chien CC, Liu JW. Antimicrobial effects of varied combinations of meropenem, sulbactam, and colistin on a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolate that caused meningitis and bacteremia. Microb Drug Resist 2008; 14(3): 233-7.
13. Wei W, Yang H, Liu Y, Ye Y, Li J. In vitro synergy of colistin combinations against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 carbapenemase. J Chemother 2016; 28(3): 159-63.
14. Principe L, D'Arezzo S, Capone A, Petrosillo N, Visca P. In vitro activity of tigecycline in combination with various antimicrobials against multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2009; 8: 18.
15. Rodriguez CH, De Ambrosio A, Bajuk M, et al. In vitro antimicrobials activity against endemic *Acinetobacter baumannii* multiresistant clones. J Infect Dev Ctries 2010; 4(3): 164-7.
16. Cıkman A, Ceylan MR, Parlak M, Karahocagil MK, Berktaş M. Evaluation of colistin-ampicillin/sulbactam combination efficacy in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. Mikrobiyol Bul 2013; 47(1): 147-51.
17. Thamlikitkul V, Tiengrim S. In vitro activity of colistin plus sulbactam against extensive-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* by checkerboard method. J Med Assoc Thai 2014; 97 Suppl 3: S1-6.