

Çok İlaça Dirençli Gram-Negatif Basillerde Meropenem/Kolistin ve Meropenem/Fosfomisin Kombinasyonlarının In vitro Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Evaluation of In vitro Efficacy of Meropenem/Colistin and Meropenem/Fosfomycin Combinations on Multidrug Resistant Gram-Negative Bacilli

Rıza ADALETİ¹(ID), Yaşar NAKİPOĞLU²(ID), Neslihan ARICI¹(ID), Nilgün KANSAK¹(ID), Şeyma ÇALIK³(ID), Seniha ŞENBAYRAK⁴(ID), Recep BALIK⁴(ID), Sebahat AKSARAY⁵(ID)

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İstanbul.

¹ University of Health Sciences, Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital, Laboratory of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

² İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

² İstanbul University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

³ T.C Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Müdürlüğü, Amasya.

³ Ministry of Health, Directorate of Public Health, Amasya, Türkiye.

⁴ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul.

⁴ University of Health Sciences, Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

⁵ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

⁵ University of Health Sciences, Hamidiye Medical Faculty, Department of Medical Microbiology, İstanbul, Türkiye.

*Bu çalışma, XL. Uluslararası Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kongresi (16-20 Kasım 2022, Antalya)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Adaleti R, Nakipoğlu Y, Arıcı N, Kansak N, Çalık Ş, Şenbayrak S ve ark. Çok ilaca dirençli gram-negatif basillerde meropenem/kolistin ve meropenem/fosfomisin kombinasyonlarının in vitro etkinliğinin değerlendirilmesi. Mikrobiyol Bul 2023;57(3):365-377.

ÖZ

Dünyada ve Türkiye’de enfeksiyon etkeni olarak izole edilen yaygın ilaç dirençli ve pan-rezistan gram-negatif basillerin oranı giderek artmaktadır. Bu enfeksiyonların tedavisinde önemli seçeneklerden biri antibiyotiklerin kombine kullanımıdır. Bu nedenle çalışmada, in vitro ortamda meropenem/kolistin ve meropenem/fosfomisin kombinasyonlarının, enfeksiyon etkeni olarak izole edilen karbapenem dirençli gram-negatif basillere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Hastanemizin yoğun bakım ünitesinde yatan hastaların kan ve trakeal aspirat örneklerinden enfeksiyon etkeni olarak izole edilen karbapenemlere dirençli *Escherichia coli* (*E.coli*) (n= 6), *Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*) (n= 10), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) (n= 5) ve *Acinetobacter baumannii* (*A.baumannii*) (n= 6) izolatları çalışmaya dahil edilmiştir.

İletişim (Correspondence): Doç Dr. Rıza Adaleti, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, 34668 İstanbul, Türkiye.
Tel (Phone): +9 0216 542 3232-3131, **E-posta (E-mail):** rizaadaleti@gmail.com

Kombinasyon çalışmasının ilk aşamasında, meropenem ve kolistin için sıvı mikrodilüsyon, fosfomisin için agar dilüsyon yöntemleri ile minimal inhibitör konsantrasyonları (MİK) çalışılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında meropenem/kolistin kombinasyonu için dama tahtası ve meropenem/fosfomisin kombinasyonu için agar dilüsyon yöntemleri ile sinerji, parsiyel sinerji, indifferans ve antagonistik etkiler araştırılmıştır. Dama tahtası sonuçlarının yorumlanması kriterleri; fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi [fractional inhibitory concentration index (FİKİ)] değeri ≤ 0.5 sinerji, $< 0.5 \leq 1$ parsiyel sinerji, $> 1 \leq 4$ indifferans ve > 4 ise antagonistik etki olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen MİK değerleri, "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)" kriterlerine göre yorumlanmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle çalışılan 27 izolatın %63'ü kolistine dirençli, %37'si duyarlı bulunmuştur. Fosfomisinin *Enterobacterales* grubu bakterilere karşı MİK değerlerinin 2-2048 mg/L aralığında olduğu saptanmıştır. Altı *E.coli* izolatının ikisi ve 10 *K.pneumoniae* izolatının dokuzu fosfomisine (IV) karşı dirençli saptanmıştır. Fosfomisine karşı içsel direnci olan 11 non-fermentatif gram-negatif bakterinin tamamında MİK değeri ≥ 128 mg/L bulunmuştur. Meropenem/kolistin kombinasyon testinde, 27 izolatın 11 (%40.7)'inde sinerji ve parsiyel sinerji, 13 (%48.2)'ünde indifferans ve üçünde (%11.1) antagonistik etki gözlenmiştir. Bu kombinasyonun sinerji ve parsiyel sinerji etkisi *Enterobacterales* grubu bakteriler için %37.5 olup *E.coli*'de %50 ve *K.pneumoniae*'de %30 olarak saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 11 non-fermentatif gram-negatif basil özelinde, meropenem/kolistin kombinasyonunda *A.baumannii*'de %83.3 oranında sinerji ve parsiyel sinerji saptanırken, *P.aeruginosa*'da sinerji ve parsiyel sinerjistik etki saptanmamıştır. Meropenem/fosfomisin kombinasyonunun sinerji ve parsiyel sinerji etkisi, *E.coli*'de %83.3 (5/6) ve *K.pneumoniae*'de %100 (8/8), *A.baumannii*'de %100 (6/6) ve *P.aeruginosa*'da %25 (1/4) olarak tespit edilmiştir. Çalışılan izolatların tümünde meropenem/fosfomisin kombinasyonu, meropenem/kolistin kombinasyonuna göre daha etkin bulunmuştur. In vitro ortamda elde edilen bu verilerin, çalışmada kullanılan antibiyotiklerin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri dikkate alınarak in vivo ortamda uygulanması sonucu elde edilecek klinik etkinlik sonuçlarıyla desteklenmesi anlamlı olacaktır.

Anahtar kelimeler: Fosfomisin; kolistin; kombinasyon; meropenem; in vitro.

ABSTRACT

The rate of extensively drug-resistant and pan-resistant gram-negative rods isolated as infectious agents is increasing around the world and in Türkiye. One of the important options in the treatment of these infections is the combined use of antibiotics. Therefore, the aim of this study was to investigate the in vitro effect of meropenem/colistin and meropenem/fosfomycin combinations on carbapenem-resistant gram-negative bacilli isolated as infectious agents. *Escherichia coli* (n= 6), *Klebsiella pneumoniae* (n= 10), *Pseudomonas aeruginosa* (n= 5), and *Acinetobacter baumannii* (n= 6) isolates were recovered from blood and tracheal aspirate samples of patients hospitalized in our hospital's intensive care unit were included in the study. In the first stage of the combination study, minimal inhibitory concentrations (MIC) were investigated by broth microdilution for meropenem and colistin, and agar dilution methods for fosfomycin. In the second stage of the study, synergy, partial synergy, indifference, and antagonistic effects were investigated with the checkerboard method for the meropenem/colistin combination and the agar dilution method for the meropenem/fosfomycin combination. The checkerboard results were interpreted as follows: fractional inhibitory concentration index (FICI) values ≤ 0.5 synergy, $< 0.5 \leq 1$ partial synergy, $> 1 \leq 4$ indifference and FIC values of > 4 antagonism. MIC values obtained in the study were interpreted according to European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) criteria. Of the 27 isolates studied with the broth microdilution method, 63% were found to be colistin-resistant and 37% susceptible. The MIC values of fosfomycin against *Enterobacterales* group bacteria were found to be in the range of 2-2048 mg/L. Two of the six *E.coli* isolates and nine of the 10 *K.pneumoniae* isolates were found to be resistant to fosfomycin (IV). The MIC values of ≥ 128 mg/L were found in all 11 non-fermentative gram-negative rods with intrinsic resistance to fosfomycin. In the combination of meropenem/colistin, synergy and partial synergy were observed in 11 (40.7%) of 27 isolates, an indifference effect was observed in 13 (48.2%), and antagonistic effects were observed in three (11.1%) of the isolates. The synergy and partial synergy effects of this combination were 37.5% for *Enterobacterales* group bacteria, 50% for *E.coli*, and 30% for *K.pneumoniae*. Regarding the 11 non-fermentative gram-negative

rods included in the study, 83.3% synergy and partial synergy was found in *A.baumannii* for the meropenem/colistin combination, while no synergy and partial synergistic effect was found in *P.aeruginosa*. Meropenem/fosfomycin synergy and partial synergy effects were 83.3% (5/6) for *E.coli*, 100% (8/8) for *K.pneumoniae*, 100% (6/6) for *A.baumannii*, and 25% (1/4) for *P.aeruginosa*. In all of the isolates studied, meropenem/fosfomycin combination was found to be more effective than the meropenem/colistin combination. It would be meaningful to support these data obtained in vitro with clinical efficacy results to be obtained as a result of the application of antibiotics in vivo, taking into account the pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of the antibiotics used in this study.

Keywords: Fosfomycin; colistin; combination; meropenem; in vitro.

GİRİŞ

Dünyada ve Türkiye’de yaygın ilaç dirençli ve pan-rezistan gram-negatif basil kaynaklı enfeksiyonların sıklığı giderek artmaktadır. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* en sık izole edilen etkenler arasında yer almaktadır. Karbapenem grubu antibiyotikler uzun yıllar çok ilaca dirençli gram-negatif basil enfeksiyonlarının tedavisinde ilk seçenek ilaçlar arasında yer alırken, ülkemizde ve dünyada son yıllarda bu grup antibiyotiklere karşı giderek artan oranda direnç saptanmaktadır¹. Yaygın ilaç dirençli ve pan-rezistan izolatların daha sık izole edilmesiyle birlikte, tedavi için yeni çözüm yolları aranmaya başlanmıştır. Bu çözüm yollarından biri, tedavide kullanımı sonlandırılmış eski antibiyotiklerin yeniden tedavi protokolüne alınmasıdır. Yeniden kullanıma girmesi düşünülen antibiyotikler arasında 70’li yıllarda tedavi protokolünden çıkarılmış olan polimiksin grubu antibiyotikler ve hızlı direnç gelişiminden dolayı kullanımı sınırlandırılmış olan fosfomisin yer almaktadır^{2,3}. Bu çalışmada karbapenemlere dirençli *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarına karşı meropenem/kolistin ve meropenem/fosfomisin kombinasyonlarının in vitro ortamda etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 01.08.2022 ve Karar no: HNE-AH-KEAK 2022/159).

Karbapeneme Dirençli İzolatların Toplanması

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına, Temmuz 2021-Şubat 2022 tarihleri arasında gönderilen kan ve trakeal aspirat örneklerinden izole edilen ve etken olarak kabul edilen karbapenemlere dirençli gram-negatif basiller, VITEK® MS (bioMérieux, Marcy l’Etoile, Fransa) ile tanımlandı ve antibiyotiklere duyarlılık testleri otomatize mikrodilüsyon sistemi olan VITEK® 2 (bioMérieux) otomatize sistemi ile çalışıldı. “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)” kriterlerine göre karbapenemlere dirençli veya MİK değeri 4- ≥ 32 mg/L olan *E. coli* (n= 7), *K.pneumoniae* (n= 10), *P.aeruginosa* (n= 5) ve *A.baumannii* (n= 6) olmak üzere toplam 28 izolat çalışmaya dahil edildi⁴.

Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi

Antibiyotik Mikroplaklarının Hazırlanması

Çalışmaya meropenem (Koçak Farma, Türkiye), kolistin (Sigma Aldrich, Çin) ve fosfomisin (Koçak Farma, Türkiye) antibiyotikleri dahil edildi. Meropenem ve kolistin için 2-1024 mg/L konsantrasyon aralığında antibiyotik içerecek şekilde mikroplaklar hazırlandı. Bu amaçla önce her bir mikroplak kuyucuğuna 100'er µL katyon ayarlı Mueller Hinton Buyyon (KAMHB, Becton Dickinson, ABD) konuldu. Daha sonra meropenem ve kolistin çözeltileri ayrı ayrı mikroplaklarda birinci dikey (1A-1H) kuyucuklara en yüksek final konsantrasyonunun iki katı ilave edilerek ilk 10 kuyucuğa seri dilüsyonları hazırlandı ve 1-5 gün içinde kullanılacak şekilde -80°C de saklandı. Fosfomisin için, 0.5-4096 mg/L konsantrasyonda glukoz-6-fosfat (G- 6- P, 25 µg/mL) ilaveli katyon ayarlı Mueller Hinton Agar (KAMHA) plakları (90 mm çaplı) hazırlandı ve 1-3 gün içinde kullanılacak şekilde +4°C'de bekletildi.

Bakteri Süspansiyonu

Saklanan izolatlar triptik soy agar (TSA, OXOID, Birleşik Krallık) besiyerinde pasajı yapıldıktan sonra ikinci bir gecelik inkübasyon sonrası çalışma gününde kullanıldı. Besiyerinde üreyen izolatlar steril serum fizyolojikte 0.5 McFarland yoğunluğunda ($1-1.5 \times 10^8$ cfu/mL) dansitometre cihazı (Densichek, bioMerieux, Fransa) kullanılarak ölçüldü. Meropenem ve kolistin MİK'lerinin saptanması amacıyla hazırlanan süspansiyon KAMHB ile 200 kat sulandırılarak final konsantrasyonu yaklaşık 5×10^5 cfu/mL olacak şekilde ayarlandı. Fosfomisin MİK testi (agar dilüsyon) için hazırlanan 0.5 McFarland yoğunluğundaki bakteri süspansiyonu 10 kat sulandırıldı (10^7 cfu/mL).

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Meropenem ve kolistin mikroplakları -80°C'den çıkarılarak bir saat oda sıcaklığında bekletildi. İlk 10 yatay kuyucuğa test edilecek 5×10^5 cfu/mL konsantrasyonundaki bakteri süspansiyonundan 100'er µl konuldu. On birinci kuyucuğa sadece KAMHB (negatif kontrol) ve 12. kuyucuğa sadece bakteri süspansiyonu eklendi (pozitif kontrol)⁵. Tüm plaklar 35°C'de 18-20 saat inkübe edildi. Kalite kontrol suşu olarak *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı.

Agar Dilüsyon Yöntemi

MİK aralığı 0.5-4096 mg/L arasında hazırlanan fosfomisin ve G-6-P içeren KAMHA besiyeri içeren 14 agar plağına her izolattan 1-2 µl bakteri süspansiyonu her plakta (90 mm çap) 24 bakteri olacak şekilde inoküle edildi.

Tüm sıvı ve agar dilüsyon test plakları 35°C de 18-20 saat inkübe edildi.

Minimal İnhibitör Konsantrasyonun Değerlendirmesi

Mikroplak kuyucuklarında veya agar plaklarında üremenin olmadığı en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak tanımlandı. Sıvı mikrodilüsyon yönteminde meropenem

Tablo I. *Enterobacterales*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii*'nin EUCAST Kriterlerine Göre Meropenem, Kolistin ve Fosfomisin Duyarlılık Sınır Değerleri

	Meropenem		Kolistin		Fosfomisin (iv)	
	Hassas	Dirençli	Hassas	Dirençli	Hassas	Dirençli
<i>Enterobacterales</i>	≤ 2	> 8	≤ 2	> 2	≤ 32	> 32
<i>P.aeruginosa</i>	≤ 2	> 8	≤ 4	> 4	İçsel direnç	
<i>A.baumannii</i>	≤ 2	> 8	≤ 2	> 2	İçsel direnç	

nem ve kolistin için ilk 10 kuyucukta üreme saptanmayan izolatlar için antibiyotikler daha düşük konsantrasyon aralıklarında, ilk 10 kuyucuğun tümünde üreme saptandığında antibiyotik konsantrasyonları yükselterek deney tekrarlandı. Minimal inhibitör konsantrasyonu değerlendirilmesi için EUCAST kriterleri kullanıldı⁴ (Tablo I).

Antibiyotik Kombinasyonlarının Etkinliğinin Araştırılması

Antibiyotik kombinasyon deneyleri iki farklı yöntemle incelendi.

A- Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi

Bu yöntem meropenem/kolistin kombinasyonları için uygulandı. Dama tahtası yönteminde KAMHB besiyeri kullanıldı. Her bir antimikrobiyal için son konsantrasyon, belirlenen MİK değerinin dört kat fazlası konsantrasyondan başlayarak antibiyotik çözeltileri hazırlandı. Her bir antimikrobiyal maddeden 50 µl, toplamda iki antibiyotik için 100 µl konsantrasyon kombine edilerek kuyucuklara konuldu. Çalışmanın ilk aşamasında, test edilen antibiyotiklerin izolatlarla karşı elde edilen MİK değerleri dikkate alınarak son konsantrasyonun dört katı olacak şekilde işlem yapıldı. Buna göre tüm dikey kuyucuklara 50'şer µl, 1 mg/L-128 mg/L veya 64 mg/L-8192 mg/L iki farklı konsantrasyon aralığında meropenem ilave edildi. Ayrıca tüm yatay kuyucuklara da 50'şer µl 0.5 mg/L-64 mg/L veya 32 mg/L-4096 mg/L olmak üzere iki farklı aralıkta kolistin dağıtıldı. Bu şekilde her iki antibiyotiğin kombinasyonları yarı yarıya düşürüldü. Her kuyucuğa daha önce hazırlanan bakteri süspansiyonundan (5.10^5 cfu/mL) 100'er µl ilave edilerek ilk aşamada hazırlanan antibiyotiklerin konsantrasyonları dört kat düşürüldü. Dikey A9 kuyucuklara sadece bakteri (pozitif kontrol) ve dikey A10 kuyucuklara ise sadece KAMHB besiyeri (negatif kontrol) konuldu. A11-H11 sütununda kolistin ve A12-H12 sütununda meropenem antibiyotiklerinin MİK değerleri yukarıda anlatıldığı şekilde mikrodilüsyon yöntemiyle tekrar yapıldı. Her bir izolat için bir mikroplak kullanıldı (Tablo II). Mikrodilüsyon plakları 35°C'de 18-24 saat inkübe edildi.

B- Agar Dilüsyon Yöntemi

Bu yöntem meropenem/fosfomisin kombinasyonu için kullanıldı. Daha önce bu iki antibiyotiğin MİK değerlerinin dört katı üzerinden başlayarak iki kat azalacak şekilde 64 farklı kombinasyon içeren KAMHA besiyerinde hazırlandı. Aynı çalışma koşullarında antibiyotiklerin tek başına MİK değerlerinin saptanması için meropenem ve fosfomisin içeren

Tablo II. Dama Tahtası Yönteminde Meropenem ve Kolistin Kombinasyonu için Uygulanan Konsantrasyonların (mg/L) Örneği ve Mikroplağın Şematik Görüntüsü

Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 64	Kol 64	Kol 64	Kol 64	Kol 64	Kol 64	Kol 64	Kol 64			128	128
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	MEM 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 32	Kol 32	Kol 32	Kol 32	Kol 32	Kol 32	Kol 32	Kol 32			64	64
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 16	Kol 16	Kol 16	Kol 16	Kol 16	Kol 16	Kol 16	Kol 16			32	32
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 8	Kol 8	Kol 8	Kol 8	Kol 8	Kol 8	Kol 8	Kol 8			16	16
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 4	Kol 4	Kol 4	Kol 4	Kol 4	Kol 4	Kol 4	Kol 4			8	8
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 2	Kol 2	Kol 2	Kol 2	Kol 2	Kol 2	Kol 2	Kol 2			4	4
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 1	Kol 1	Kol 1	Kol 1	Kol 1	Kol 1	Kol 1	Kol 1			2	2
Mem 1	Mem 2	Mem 4	Mem 8	Mem 16	Mem 32	Mem 64	Mem 128	P: K	N: K	Kol	Mem
Kol 0.5	Kol 0.5	Kol 0.5	Kol 0.5	Kol 0.5	Kol 0.5	Kol 0.5	Kol 0.5			1	1

Mem: Meropenem, Kol: Kolistin, P: K: Pozitif kontrol, N:K: Negatif kontrol.

ayrı plaklar hazırlandı. Her konsantrasyondaki plağa 1-2 µl bakteri süspansiyondan ($1-2 \times 10^4$ cfu) inoküle edildi. Her plakta 24 izolat inoküle edildi. Ekim yapılan tüm plaklar 35°C'de 18-24 saat inkübe edildi. *E.coli* ATCC 25922 ve *P.aeruginosa* ATCC27853 kalite kontrol suşları olarak kullanıldı.

Tablo III. Σ FİK İndeks Sonucuna Göre Yorum

FİK İndeksi (FİKİ)	Tanımlama
≤ 0.5	Sinerji
$> 0.5 \leq 1$	Parsiyel sinerji
$> 1 \leq 4$	İndiferans
> 4	Antagonist

Dama Tahtası ve Agar Dilüsyon Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

İnkübasyon süresi 18-20 saati tamamladığında MİK değerleri saptanarak kaydedildi. Her iki antimikrobiyal ilaç için aşağıdaki formül kullanılarak ayrı ayrı fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon (FİK) değerleri hesaplandı⁶.

$$\Sigma FİKİ = \frac{A \text{ antibiyotiğin kombinasyondaki MİK değeri}}{A \text{ antibiyotiğin MİK değeri}} + \frac{B \text{ antibiyotiğin kombinasyondaki MİK değeri}}{B \text{ antibiyotiğin MİK değeri}}$$

Çalışmada ortalama fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon indeksi (FİKİ) değeri esas alındı. Bu yöntemde, tüm satır ve sütunlardaki üreme olmayan en düşük ilaç konsantrasyonunun olduğu kuyucukların her biri için A ve B ilacının Σ FİK indeksleri hesaplandı, elde edilen değerler toplandı ve kuyucuk sayısına bölünerek Σ FİKİ'nin ortalaması hesaplanıp yorumlandı (Tablo III)⁷.

BULGULAR

Çalışmada EUCAST kriterlerine göre sıvı mikrodilüsyon yönteminde 28 izolattan 27 (%96.4)'si meropeneme dirençli veya MİK değeri 4-8 mg/L bulunmuştur. VITEK 2 otomatize sistemi ile dirençli saptanan bir *E.coli* izolatının MİK değeri 2 mg/L olduğundan çalışmadan çıkarılmıştır. Çalışılan 27 izolatın %63'ü kolistine dirençliyen, *P.aeruginosa* izolatlarının tamamı duyarlı bulunmuştur.

Altı *E.coli* izolatının ikisi ve 10 *K.pneumoniae* izolatının dokuzu fosfomisine (IV) karşı dirençli bulunmuştur. Bu bakterilerde fosfomisinin MİK aralıkları 2-2048 mg/L olarak belirlenmiştir. Fosfomisine karşı içsel direnci olan 11 non-fermentatif gram-negatif bakterinin tamamında MİK değeri ≥ 128 mg/L bulunmuştur (Tablo IV).

Meropenem/kolistin kombinasyonunda dama tahtası yöntemiyle çalışılan 27 izolatın %40.7 (11/27)'sinde sinerji ve parsiyel sinerji, %48.2 (13/27)'sinde indifferans ve %11.1 (3/27) antagonistik etki gözlenmiştir. Bu kombinasyonun sinerji ve parsiyel sinerji etkisi *Enterobacterales* (n= 16) grubunda %37.5 (6/16) olup, *E.coli*'de %50 (3/6) ve *K.pneumoniae*'da %30 (3/10) oranında olmuştur. Non-fermentatif bakteri grubunda meropenem/kolistin kombinasyonunda sinerji ve parsiyel sinerjistik etki %45.5 (5/11) oranında saptanmıştır. Non-fermentatif gram-negatif bakteri grubu içinde sinerji *A.baumannii*'de %83.3 (5/6) iken, *P.aeruginosa*'da sinerji ve parsiyel sinerjistik etki saptanmamıştır (Tablo IV, V).

Tablo IV. İzolatlarda Meropenem, Kolistin ve Fosfomisin Mik Değerleri (mg/L) ve Meropenem/Kolistin, Meropenem/Fosfomisin Kombinasyonlarının ΣFKİ Değer ve Yorumları

Bakteri	Mem MİK	Kol MİK	Fos MİK	Mem/Kol FKİ	Mem/Kol Yorumu	Mem/ Fos	MEM/Fos Yorumu
<i>E.coli</i>	32	0.5	32	1.5	İndiferans	0.22	Sinerji
<i>E.coli</i>	8	1	64	8.125	Antagonizm	0.013	Sinerji
<i>E.coli</i>	32	4	64	1.44	İndiferans	0.25	Sinerji
<i>E.coli</i>	32	1	2	0.46	Sinerji	0.49	Sinerji
<i>E.coli</i>	16	1	2	0.56	Parsiyel sinerji	1.16	İndiferans
<i>E.coli</i>	32	4	2	0.316	Sinerji	0.38	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	8	128	32	0.053	Sinerji	0.239	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	32	32	512	0.59	Parsiyel sinerji	0.28	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	32	32	2048	0.712	Parsiyel sinerji	0.85	Parsiyel sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	32	32	128	3.296	İndiferans	0.138	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	16	64	128	1.07	İndiferans	0.072	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	16	128	64	3.49	İndiferans	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	128	32	64	1.26	İndiferans	0.46	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	16	16	2048	4.4	Antagonizm	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	32	16	64	1.66	İndiferans	0.061	Sinerji
<i>K.pneumoniae</i>	256	16	512	3.32	İndiferans	0.23	Sinerji
<i>P.aeruginosa</i>	8	2	256	1.23	İndiferans	2.1	İndiferans
<i>P.aeruginosa</i>	512	2	128	1.8	İndiferans	0.48	Sinerji
<i>P.aeruginosa</i>	4	1	2048	1.57	İndiferans	-	-
<i>P.aeruginosa</i>	128	1	128	4.025	Antagonizm	1.1	İndiferans
<i>P.aeruginosa</i>	4	1	256	2.57	İndiferans	13.7	Antagonizm
<i>A.baumannii</i>	512	64	256	0.38	Sinerji	0.75	Parsiyel sinerji
<i>A.baumannii</i>	128	256	256	0.31	Sinerji	0.80	Parsiyel sinerji
<i>A.baumannii</i>	64	2	256	0.66	Parsiyel sinerji	0.70	Parsiyel sinerji
<i>A.baumannii</i>	32	512	512	3.175	İndiferans	0.62	Parsiyel sinerji
<i>A.baumannii</i>	256	128	512	0.38	Sinerji	0.99	Parsiyel sinerji
<i>A.baumannii</i>	64	16	256	0.69	Parsiyel sinerji	0.49	Sinerji

E.coli: *Escherichia coli*, *K.pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*, *P.aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*, *A.baumannii*: *Acinetobacter baumannii*, Mem: Meropenem, Kol: Kolistin, Fos: Fosfomisin, Mem/Kol: Meropenem/Kolistin, Mem/Fos: Meropenem/Fosfomisin.

Meropenem/fosfomisin için kombinasyon çalışması aşamasında iki *K.pneumoniae* ve bir *P.aeruginosa* izolatı kontamine olduğundan çalışmadan çıkarılmıştır. Bu nedenle meropenem/fosfomisin kombinasyonu 24 izolat ile çalışılmıştır. Agar dilüsyon yöntemiyle çalışılan 24 izolattan 20 (%83.3)'sinin sinerji ve parsiyel sinerji, üçünün (%12.5) indiferans ve birinin (%4.2) antagonistik etki gösterdiği saptanmıştır. Bu kombinasyonun sinerji ve parsiyel sinerji etkisi 14 *Enterobacteriales* grubu bakterilerden *E.coli* izolatlarında %83.3 (5/6) ve *K.pneumoniae* izolatlarında %100 (8/8), toplamda %92.9 (13/14); 10 non-fermentatif gram-negatif basilden *A.baumannii* izolatlarında %100 (6/6) ve *P.aeruginosa* izolatlarında %25 (1/4), toplamda %70 (7/10) olarak saptanmıştır (Tablo IV, V).

Tablo V. Meropenem/Kolistin Kombinasyonlarının Dama Tahtası, Meropenem/Fosfomisin Kombinasyonlarının Agar Dilüsyon Yöntemi ile Sinerjistik Etki Oranları

Antibiyotik Kombinasyonu	<i>Enterobacterales</i> (n= 16)		Non-Fermentatif Gram-Negatif Basil (n= 11)	
Meropenem/Kolistin	<i>E.coli</i> (n= 6)	<i>K.pneumoniae</i> (n= 10)	<i>P.aeruginosa</i> (n= 5)	<i>A.baumannii</i> (n= 6)
Sinerjik	2	1	0	3
Parsiyel Sinerji	1	2	0	2
İndiferans	2	6	4	1
Antagonist	1	1	1	0
Toplam Sinerji ve Parsiyel Sinerji	6/16 (%37.5)		5/11 (%45.5)	
Antibiyotik Kombinasyonu	<i>Enterobacterales</i> (n= 14)		Non-Fermentatif Gram-Negatif Basil (n= 10)	
Meropenem/Fosfomisin	<i>E.coli</i> (n= 6)	<i>K.pneumoniae</i> (n= 8)	<i>P.aeruginosa</i> (n= 4)	<i>A.baumannii</i> (n= 6)
Sinerjik	5	7	1	1
Parsiyel Sinerjik	0	1	0	5
İndiferans	1	0	2	0
Antagonist	0	0	1	0
Toplam Sinerji ve Parsiyel Sinerji	13/14 (%92.9)		7/10 (%70)	

TARTIŞMA

Yeni antibiyotikler veya antibiyotik/inhibitör kombinasyonlarının tedavi protokolüne alınmasına rağmen, bu antibiyotiklere karşı direnç geliştiği bildirilmektedir⁸. Bu nedenle dünyada, karbapenemlere dirençli gram-negatif basillerin giderek artan oranda yaygınlaşmasıyla birlikte antibiyotikler ile kombine tedavi güncelliğini korumaktadır. Antibiyotik kombinasyonundan elde edilen sinerjistik etkinin yanı sıra düşük dozda antibiyotik kullanımı yan etkilerinin de azalmasına sebep olabilir.

Bu çalışmada enfeksiyon etkeni olarak en sık izole edilen gram-negatif basillerde, meropenem/kolistin ve meropenem/fosfomisin olmak üzere iki farklı kombinasyon denenmiştir. Meropenem/kolistin kombinasyonunda *Enterobacterales* için %37.5 ve *A.baumannii* izolatlarında %83.3 oranında sinerji ve parsiyel sinerji saptanırken, *P.aeruginosa*'da bu etki saptanmamıştır.

Çalışmamızda, meropenem/kolistin kombinasyonu için *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* izolatlarında birer adet antagonistik etki saptanmıştır. Meropenem/kolistin kombinasyonunda, her iki antibiyotiğe de dirençli olan 17 *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *A.baumannii* izolatının 8 (%47.1)'inde sinerji ve parsiyel sinerji saptanmış, bu oran dağılımı *Enterobacterales*'te 4/12 (%33.3) ve *A.baumannii* izolatında 4/5 (%80.0) olarak belirlenmiştir. Test edilen *P.aeruginosa* izolatlarının hepsi kolistine duyarlı bulunmuş olmasına rağmen bu izolatlarda meropenem/kolistin kombinasyonunda sinerji saptanmamıştır.

Meropenem/kolistin kombinasyonunun her iki antibiyotiğe de dirençli olma durumunda özellikle *A.baumannii* izolatlarında yüksek bir sinerji ve sinerjistik oranda bulunması dikkat çekici olmuştur. Bununla birlikte kolistin duyarlı olan dört *E.coli* izolatında 2/4 (%50) ve bir (1/1) *A.baumannii* izolatında sinerji ve parsiyel sinerji saptanırken, kolistine duyarlı olan beş *P.aeruginosa* izolatında sinerji ve parsiyel sinerji saptanmamıştır.

Meropenem/fosfomisin kombinasyonunda 14 *Enterobacterales* izolatından 13 (%92.9)'ünde ve 10 non-fermentatif gram-negatif basilin yedisinde (%70) sinerji ve parsiyel sinerji elde edilmiştir. *Enterobacterales* takımından her iki antibiyotiğe de dirençli olan *E.coli* izolatının ikisinde 2/2 (%100), *K.pneumoniae*'nin sekizinde 8/8 (100%) sinerji ve parsiyel sinerji saptanmıştır. Fosfomisine karşı içsel direnci olan 10 non-fermentatif gram-negatif basilden, *A.baumannii* izolatlarında %100 ve *P.aeruginosa* izolatlarında %25 oranında sinerji ve parsiyel sinerji saptanmıştır.

Çalışılan bakteriler içinde *P.aeruginosa* sinerji ve parsiyel sinerji oranı açısından en az başarılı olunan izolat olmuştur. Meropenem/fosfomisin kombinasyonunda *K.pneumoniae* ve *A.baumannii* izolatlarında %100 oranında, *E.coli* izolatlarında %83.3 oranında sinerji ve parsiyel sinerji saptanmıştır. Meropenem/fosfomisin kombinasyonunda meropenem/kolistin kombinasyonuna göre özellikle *Enterobacterales*'te çok olumlu sonuçların alınması sevindiricidir. Non-fermentatif bakteri grubunda *A.baumannii*'de, *P.aeruginosa*'ya göre her iki kombinasyonda daha başarılı sonuç elde edilmiştir. Her iki kombinasyonda *P.aeruginosa* izolatlarında, çalışılan diğer bakterilere göre sinerji ve parsiyel sinerji oranı düşük bulunmuştur. Bu durum, *P.aeruginosa* izolatları için daha farklı antibiyotik kombinasyonlarının test edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Antibiyotikler için in vitro ortamda yapılan kombine çalışmalar yoğunluklu olarak yaygın ilaç dirençli/pan-rezistan *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında yapılmaktadır. Köle ve arkadaşları farklı karbapenemaz geni taşıyan 42 *K.pneumoniae* izolatında meropenem/kolistin kombinasyonunda dama tahtası yöntemi ile yaptıkları çalışmada⁹ %50 oranında sinerji saptamışlardır. Erdem ve arkadaşları ise, 10 *K.pneumoniae* izolatı ile yaptıkları çalışmada¹⁰, meropenem/kolistin kombinasyonunda dama tahtası yöntemiyle 7/10 ve zamana bağlı ölüm aktivitesinde 10/10 oranında sinerji saptamışlardır. Bu çalışmada, *K.pneumoniae* izolatlarında meropenem/kolistin kombinasyonunda diğer çalışmalara göre daha düşük oranda sinerji ve parsiyel sinerji saptanmış ama aynı izolatlarda meropenem/fosfomisin kombinasyonunda sinerji ve parsiyel sinerji oranı %100 olmuştur. FİKİ değerlerinin saptanması için farklı değerlendirme yöntemleri bulunmasına rağmen, genelde yayınlanan çalışmalarda hangi yöntemle göre bu değerlerin saptandığı anlatılmamaktadır¹¹. Bu çalışmamızda, bazı çalışmalara nazaran sinerji ve parsiyel sinerji oranının daha düşük olmasının FİKİ değerlendirme yöntemine bağlı olabileceği düşünülmüştür. Tängdén ve arkadaşları, dört *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatı ile iki farklı yöntemle yaptıkları çalışmada¹², meropenem/kolistin kombinasyonunda, zamana bağlı ölüm aktivitesi yönteminde, üç izolatta istatistiksel anlamda bakteri sayısında azalma saptarken, dama tahtası yönteminde sinerji saptamamışlardır. Zusman

ve arkadaşları yaptıkları derleme çalışmasında¹³, *P.aeruginosa* ve *A.baumannii* izolatlarında karbapenem/polimiksin kombinasyonunda zamana bağlı öldürme aktivitesinde sırasıyla %50 ve %77, dama tahtası yönteminde %11 ve %32 oranında sinerji bildirmişlerdir. Guelfive arkadaşları ise meropenem/polimiksin B ile dama tahtası yöntemiyle yaptıkları çalışmada¹⁴, *A.baumannii* (n= 10) izolatlarında %80 oranında sinerji saptarken; *P.aeruginosa* (n= 10) izolatlarının ikisinde sinerji saptandığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada her iki bakterinin dirençli izolatlarında daha iyi sinerjistik sonuç alındığı bildirilmiştir. Montero ve arkadaşları¹⁵, 20 yaygın ilaç dirençli *P.aeruginosa* izolatında meropenem/kolistin için %80 oranında sinerji saptamışlardır. Aynı çalışmada MİK değeri düşük olan dört izolatta sinerji saptanmamıştır. Yapılan diğer çalışmalara benzer olarak çalışmamızda *A.baumannii*'de meropenem/kolistin kombinasyonunun, *P.aeruginosa*'ya nazaran daha iyi sonuç verdiği görülmektedir. Çalışmamızda tüm *A.baumannii* izolatlarında meropenem/fosfomisin kombinasyonunun sinerji ve parsiyel sinerji etkisi olduğu, indifferans ve antagonistik etki saptanmadığı görülmektedir. Sonuçlar, yaygın ilaç dirençli/pan-rezistan olan *A.baumannii* izolatlarında meropenem/fosfomisin kombinasyonunun in vitro ortamda iyi sonuç verdiğini bu sonuçların in vivo ortamda yapılan çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Pontikis ve arkadaşları¹⁶ 2014'te Yunanistan'da 11 yoğun bakım ünitesinde yaptıkları çok merkezli prospektif çalışmada, karbapenemaz üreten *P.aeruginosa* ile enfekte toplam 17 hastada fosfomisin (iv)/kolistin veya fosfomisin (iv)/tigesiklin kombinasyonu tedavisi (ortanca 14 gün) uygulamışlar ve hastaların %54.2'sinde başarı sağlamışlardır. Apisarnthanarak ve arkadaşları¹⁷, ventilatör ilişkili pnömoni ve hastane kaynaklı pnömoni tanılı 49 hastadan etken olarak saptadıkları *P.aeruginosa* izolatlarında fosfomisin/doripenem ve fosfomisin/kolistin kombinasyonu ile yaptıkları tedavide, sırasıyla %60 ve %58 oranında başarı elde etmişlerdir. Bu çalışmalara göre *P.aeruginosa* ve *A.baumannii*'de fosfomisine karşı içsel direnç olmasına rağmen fosfomisinin kombine kullanımında başarılı bir tedavi mümkün olabilmektedir.

Çalışmamızda, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii* ve *P.aeruginosa* izolatlarında meropenem/fosfomisin kombinasyonunda, meropenem/kolistin kombinasyonuna nazaran daha yüksek oranda sinerji ve parsiyel sinerji gözlenmiştir. In vitro yapılan çalışmalarda başarılı oranda sinerji ve parsiyel sinerji saptanan kombinasyon çalışma sonuçlarının, antibiyotiklerin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri dikkate alınarak, in vivo ortamda doğrulanması gerekmektedir. Bu nedenle çalışmamızın bir sonraki aşamasında in vitro ortamda elde edilen verilerin in vivo çalışmalarla doğrulanması hedeflenmektedir.

TEŞEKKÜR

Meropenem, polimiksin B, fosfomisin ve glukoz-6-fosfat Koçak Farma, Ankara firması tarafından bedelsiz temin edilmiştir.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. (Sayı: HNEAH-KEAK 2022/159, Tarih: 01.08.2022).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Brink AJ. Epidemiology of carbapenem-resistant gram-negative infections globally. Curr Opin Infect Dis 2019; 32(6): 609-16. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000608>
2. Koch-Weser J, Sidel VW, Federman EB, Kanarek P, Finer DC, Eaton AE. Adverse effects of sodium colistimethate. Manifestations and specific reaction rates during 317 courses of therapy. Ann Intern Med 1970; 72(6): 857-68. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-72-6-857>
3. Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu XH, Falagas ME. Fosfomycin: Evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in gram-negative pathogens. J Antimicrob Chemother 2012; 67(2): 255-68. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr466>
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Break-point tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0, 2022. <http://www.eucast.org>.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M07-A10. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-tenth edition 2015; Wayne, PA.
6. Janet A, Hindlerand Romney M. Humphrie. Antimicrobial Susceptibility Testing, pp: 813-1110; Amy LL. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 2016 4th ed. ASM Press. Washington DC.
7. Eliopoulos GM. Synergism and antagonism. Infect Dis Clin North Am 1989; 3(3): 399-406. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(20\)30277-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(20)30277-4)
8. Wang Y, Wang J, Wang R, Cai Y. Resistance to ceftazidime-avibactam and underlying mechanisms. J Glob Antimicrob Resist 2020; 22: 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.12.009>
9. Köle M, Sesli ÇE, Şirin MC, Cicioğlu AB. Evaluation of in vitro efficacy of ceftazidime-avibactam, meropenem, and colistin single and binary combinations against carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from various clinical specimens. Mikrobiyol Bul 2022; 56(2): 230-50. <https://doi.org/10.5578/mb.20229804>
10. Erdem F, Abulaila A, Aktas Z, Öncül O. In vitro evaluation of double carbapenem and colistin combinations against OXA-48, NDM carbapenemase-producing colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains. Antimicrob Resist Infect Control 2020; 9(1):70. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00727-4>
11. Özseven AG, Sesli Çetin E, Özseven L. Dama tahtası sinerji testi sonuçlarının farklı yöntemlerle yorumlanması sonuçlarımızı etkiliyor mu? Mikrobiyol Bul 2012; 46(3): 410-20.
12. Tängdén T, Karvanen M, Friberg LE, Odenholt I, Cars O. Assessment of early combination effects of colistin and meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in dynamic time-kill experiments. Infect Dis (Lond) 2017; 49(7): 521-7. <https://doi.org/10.1080/23744235.2017.1296183>
13. Zusman O, Avni T, Leibovici L, Adler A, Friberg L, Stergiopoulou T, et al. Systematic review and meta-analysis of in vitro synergy of polymyxins and carbapenems. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57(10): 5104-11. <https://doi.org/10.1128/AAC.01230-13>
14. Guelfi KC, Tognim MC, Cardoso CL, Gales AC, Carrara-Marrone FE, Garcia LB. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of meropenem in combination with polymyxin B and gatifloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. J Chemother 2008; 20(2): 180-5. <https://doi.org/10.1179/joc.2008.20.2.180>

15. Montero MM, Domene Ochoa S, López-Causapé C, VanScoy B, Luque S, Sorlí L, et al. Colistin plus meropenem combination is synergistic in vitro against extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, including high-risk clones. J Glob Antimicrob Resist 2019; 18: 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.012>
16. Pontikis K, Karaikos I, Bastani S, Dimopoulos G, Kalogirou M, Katsiari M, et al. Outcomes of critically intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2014; 43(1): 52-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.09.010>
17. Apisarnthanarak A, Mundy LM. *Pseudomonasa eruginosa* pneumonia with intermediate minimum inhibitory concentrations to doripenem: Combination therapy with high-dose, 4-h infusion of doripenem plus fosfomycin versus intravenous colistin plus fosfomycin. Int J Antimicrob Agents 2012; 39: 271-2. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.11.012>