

UJI DAYA HAMBAT KOMBINASI Siprofloksasin Dengan Obat Non-Antibiotik Artesunat, Diklofenak dan Loperamid Terhadap Pertumbuhan Isolat Klinis *Escherichia coli*

Kadek Adit Wiryadana¹, Komang Januartha Putra Pinatih², Made Agus Hendrayana²

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email : aditwiryadana@unud.ac.id

ABSTRAK

Antibiotik merupakan terapi pilihan yang paling signifikan dalam menurunkan angka kesakitan dan kematian akibat penyakit infeksi. Penatalaksanaan penyakit infeksi dengan antibiotik yang tidak adekuat menyebabkan peningkatan frekuensi bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik sehingga diperlukan agen antibiotik baru atau mampu meningkatkan efektivitas antibiotik yang sudah ada. Beberapa obat-obatan untuk terapi keadaan patologis non-infeksi seperti diklofenak, artesunat dan loperamid telah diteliti memiliki efek sinergis terhadap antibiotik tertentu. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh non-antibiotik diklofenak, artesunat dan loperamid pada daya hambat antibiotik siprofloksasin terhadap isolat bakteri *E. coli* yang resisten dan sensitif siprofloksasin. Daya hambat kombinasi siprofloksasin dan non-antibiotik terhadap *E. coli* diuji dengan metode *disk diffusion* (Kirby-Bauer) yang menyatakan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji pada media Mueller-Hinton. Zona hambat siprofloksasin *E. coli* sensitif dan resisten berturut-turut adalah 37,5 dan 14,6 mm. Secara umum bahan non-antibiotik (diklofenak, artesunat, loperamid) pada dosis masing-masing 5 µg, 10 µg dan 15 µg memiliki diameter zona hambat 0 atau tidak memiliki daya hambat. Penambahan bahan non-antibiotik (5, 10, 15 µg) pada siprofloksasin 5 µg tidak menghasilkan tren peningkatan diameter zona hambat. Dapat disimpulkan bahwa daya hambat antibiotik siprofloksasin 5 µg terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* isolat klinis tidak mengalami peningkatan jika dikombinasikan dengan non-antibiotik seperti diklofenak, artesunat dan loperamid pada dosis 5 µg, 10 µg dan 15 µg.

Kata kunci : non-antibiotik, diklofenak, loperamid, artesunat, siprofloksasin, zona hambat

ABSTRACT

Antibiotics are the drug of choice in reducing morbidity and mortality from infection. Management of infectious disease with antibiotics inadequately leads to resistant pathogenic bacteria. Therefore, new agents with antimicrobial activity or able to enhance the effectiveness of existing antibiotics are needed. It has been shown some drugs for non-infectious conditions such as diclofenac, artesunate and loperamid enhance the effect of certain antibiotics. Therefore, this study aims to determine the inhibition growth of ciprofloxacin-resistant and sensitive clinical isolates of *E. coli* by combination ciprofloxacin with non-antibiotic diclofenac, artesunate and loperamide. Kirby-bauer disk-diffusion method is used to observe the inhibition zone measured in millimeters (mm). Ciprofloxacin inhibition zones were 37.5 and 14.6 mm for the sensitive and resistant *E. coli* respectively. In general, non-antibiotic at a dose of 5 µg, 10 µg and 15 µg each have 0 diameter or no inhibitory activity. The addition of non-antibiotic drugs (5, 10, 15 µg) to ciprofloxacin 5 µg did not result in an increase inhibitory zone diameter. Therefore, it can be concluded that inhibition of 5 µg of ciprofloxacin antibiotics on the growth of clinical isolates of *E. coli* bacteria did not increase when combined with non-antibiotics diclofenac, artesunate and loperamid at 5 µg, 10 µg and 15 µg doses.

Keywords: non-antibiotics, diclofenac, loperamide, artesunate, ciprofloxacin, inhibition zone

PENDAHULUAN

Antibiotik merupakan kemajuan terapi yang paling signifikan dalam menurunkan angka kesakitan dan kematian dalam sejarah kedokteran.^{1,2} Penatalaksanaan penyakit infeksi dengan antibiotik yang dilakukan secara intensif memunculkan permasalahan baru, yaitu meningkatnya frekuensi bakteri patogen *multidrug resistance* (MDR) yang menyebabkan terapi penyakit infeksi menjadi semakin sulit.^{3,4} Diperkirakan mortalitas akibat infeksi bakteri resisten akan meningkat tajam hingga 10 juta jiwa pertahun pada tahun 2050.⁵ Saat ini karakteristik bakteri resisten sudah terjadi di hampir semua jenis antibiotik, mulai dari antibiotik lini pertama hingga lini terakhir.⁶

Salah satu mekanisme terkait peningkatan karakteristik *Multidrug Resistance* adalah pompa efluks. Pompa efluks memiliki fungsi fisiologis untuk memompa berbagai molekul secara tidak spesifik, baik antibiotik, pewarna, garam empedu, dan molekul lainnya keluar sel. Kemampuan inilah yang menyebabkan bakteri dapat resisten terhadap berbagai jenis antibiotik secara simultan.⁷ Salah satu contoh pompa efluks yang paling banyak diteliti adalah golongan *resistance nodulation division* (RND) AcrAB-TolC pada *E. coli*. Pompa efluks ini mampu memompa antibiotik golongan klorampenikol, fluoroquinolon, tetrasiklin, rifampin, novobiocin, asam fusidat, dan beta-laktam. Penelitian oleh Li dkk dengan menghambat kerja pompa efluks dapat meningkatkan sensitivitas beta-laktam pada basil gram negatif.⁸ Akan tetapi studi pada golongan kuinolon dan antibiotik lainnya yang menjadi alternatif dari beta-laktam untuk terapi bakteri gram negatif belum banyak diteliti.

Salah satu strategi alternatif untuk mendapatkan agen yang efektif untuk

tatalaksana infeksi adalah dengan memanfaatkan obat untuk terapi keadaan patologis non-infeksi yang telah beredar baik sebagai agen antimikroba langsung maupun sebagai kompelemen/adjuvan. Beberapa obat seperti obat antiinflamasi non-steroid (OAINS), *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor* (SSRI), Phenothiazine, dan beberapa obat golongan anti-psikotik telah ditemukan memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas.⁹⁻¹² Obat-obat ini kemudian dalam konteks mikrobiologi diistilahkan sebagai obat non-antibiotik.¹³ Walaupun sebagian besar mekanisme molekulernya belum diketahui, profil toksikologi dan farmakologi yang sudah jelas memungkinkan non-antibiotik berpotensi dikembangkan dengan biaya yang lebih rendah dan lebih singkat.¹⁴ Akan tetapi kendala obat-obat tersebut terdapat pada nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang lebih tinggi dari antibiotik konvensional dan konsentrasinya di plasma darah tidak dapat dicapai dengan dosis klinis pada umumnya.¹⁵

Terdapat 3 obat non-antibiotik yang dicurigai bekerja terkait dengan permeabilitas bakteri terhadap antibiotik melalui interaksinya dengan membran sel atau pompa efluks. Ketiga obat tersebut yakni diklofenak sebagai substrat pompa efluks, artesunat menekan ekspresi gen *AcrA*, *AcrB* dan TolC, dan loperamid dengan mengganggu keseimbangan potensial membran sel bakteri.^{8,13-15} Ketiga mekanisme non-antibiotik tersebut berpotensi menjadi komplemen terapi antibiotik konvensional untuk meningkatkan akumulasi antibiotik di dalam sel bakteri. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat antibiotik siprofloksasin terhadap isolat bakteri *E. coli* jika dikombinasikan dengan non-antibiotik diklofenak, artesunat dan loperamid.

METODE

Penelitian eksperimental dengan metode *disk-diffusion* Kirby-Bauer dilakukan untuk mendapatkan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri strain klinis *E. coli* dengan karakteristik sensitif dan resisten siprofloksasin. Sampel diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah Denpasar. Kelompok kontrol diuji dengan antibiotik siprofloksasin 5 µg, sesuai dengan panduan dari *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* untuk pengujian *Enterobacteriaceae*.¹⁶ Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok non-antibiotik tanpa kombinasi siprofloksasin dan kombinasi siprofloksasin 5 µg dan masing-masing non-antibiotik dengan perbandingan siprofloksasin dengan non-antibiotik 1:1, 1:2 dan 1:3 (5,10,15 µg). Bentuk sediaan obat bersumber dari larutan injeksi (siprofloksasin dan artesunat) dan tablet yang haluskan dan dilarutkan dalam air (loperamid dan

diklofenak). Tiap *disk* diteteskan 20 µL larutan coba, pada *disk* kombinasi siprofloksasin dan non-antibiotik diteteskan 10 µL obat non-antibiotik dan 10 µL siprofloksasin. *Disc* kombinasi antibiotik non-antibiotik diletakan pada cawan petri yang telah dioleskan suspensi bakteri dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pengamatan daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik yang dinyatakan sebagai diameter zona hambat dihitung dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Diamater zona hambat tersebut dikategorikan berdasarkan panduan dari CLSI.¹⁶ Diameter daya hambat antara kelompok antibiotik dan kombinasi antibiotik-nonantibiotik, data akan dianalisis dengan *uji Kruskal-wallis* dengan *software SPSS v21 for windows* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Dalam penelitian ini derajat kemaknaan ditetapkan $\alpha=0,05$.

Tabel 1. Daya Hambat Siprofloksasin kombinasi Artesunat, Diklofenak dan Loperamid

Bahan Uji	<i>E. coli</i> resisten siprofloksasin		<i>E. coli</i> sensitif siprofloksasin	
	Rerata (SB)	Nilai <i>p</i>	Rerata (SB)	Nilai <i>p</i>
Loperamid + Siprofloksasin				
Kontrol (Siprofloksasin 5 µg)	15 (1,41)	0,172	30,5 (0,71)	0,075
Loperamid 5 µg + Siproloksasin 5 µg	9 (1,41)		29 (0)	
Loperamid 10 µg + siprofloksasin 5 µg	9,5 (0,71)		27 (0)	
Loperamid 15 µg + siprofloksasin 5 µg	8,25 (1,06)		26 (0)	
Artesunat + Siprofloksasin				
Kontrol (siprofloksasin 5 µg)	14,5 (0,71)	0,126	30,5 (0,71)	0,077
Artesunat 5 µg + siprofloksasin 5 µg	9,5 (0,71)		29 (0)	
Artesunat 10 µg + siprofloksasin 5 µg	9 (0)		29 (0)	
Artesunat 15 µg + siproloksasin 5 µg	8,5 (0,71)		29 (0)	
Diklofenak + Siprofloksasin				
Kontrol (siprofloksasin 5 µg)	15,5 (0,71)	0,142	30 (0)	0,084
Diklofenak 5 µg + siproloksasin 5 µg	9,5 (0,71)		27 (0)	
Diklofenak 10 µg + siprofloksasin 5 µg	8,5 (0,71)		28 (0)	
Diklofenak 15 µg + siprofloksasin 5 µg	8,5 (0,71)		26,5 (0,71)	

HASIL

Bakteri isolat klinis yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah Denpasar secara umum sesuai dengan definisi CLSI yaitu siprofloksasin menghasilkan zona hambat < 15 mm pada bakteri resisten dan > 21 mm pada bakteri sensitif. Secara umum diameter zona hambat kontrol berada di rentang 13-15 mm pada isolat resisten dan rentang 30-31,5 mm pada isolat sensitif (tabel 1). Secara umum hasil pengujian daya hambat bahan non-antibiotik (diklofenak, artesunat, loperamid) saja tanpa kombinasi siprofloksasin pada dosis masing-masing 5 µg, 10 µg dan 15 µg memiliki diameter zona hambat 0 atau tidak memiliki daya hambat. Peningkatan dosis bahan non-antibiotik (5, 10, 15 µg) pada kombinasi dengan antibiotik siprofloksasin tidak menghasilkan tren peningkatan diameter zona hambat (tabel 1). Hasil uji *Kruskal-wallis* menunjukkan tidak terdapat perbedaan rerata antar perlakuan ($p > 0,05$) pada tiap kombinasi baik pada bakteri resisten maupun sensitif. Keseluruhan data menunjukkan bahwa non-antibiotik diklofenak, loperamid dan artesunat dengan konsentrasi masing-masing 5 µg, 10 µg dan 15 µg tidak memiliki efek antibakteri dan tidak menghasilkan meningkatkan diameter zona hambat dari siprofloksasin 5 µg pada pertumbuhan isolat klinis *E. coli* dari dalam penelitian ini.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini artesunat tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Hasil ini sesuai dengan penelitian uji daya hambat artesunat pada *E. coli* ATCC 35218 dan *E. coli* strain klinis sebelumnya oleh Li dkk yang menghasilkan nilai MIC 8000 mg/ml.⁸ Hasil studi tersebut tidak dianggap memiliki makna klinis karena nilai kadar obat dalam plasma darah untuk mencapai nilai MIC

tersebut tidak memungkinkan dalam praktek klinis pada umumnya. Namun Li dkk, menunjukkan bahwa artesunat (256 mg/L) secara signifikan mampu meningkatkan daya hambat dari berbagai jenis antibiotik golongan beta-laktam serta antibiotik novobiocin.⁸ Mekanisme yang mendasari temuan tersebut diduga akibat efek artesunat menghambat produksi mRNA AcrB, salah satu komponen kompleks protein AcrAB-TolC. AcrAB-TolC merupakan sistem pompa efluks utama *E. coli* berperan dalam resistensi obat multipel (*multidrug resistance system*). Hambatan dalam pembentukan sistem pompa efluks ini mendasari peningkatan akumulasi antibiotik beta-laktam dalam sel *E. coli* yang bersifat *dose-dependent*.⁸ Pada penelitian ini belum dapat dibuktikan akan adanya efek peningkatan daya hambat dari siprofloksasin 5 µg dengan penambahan artesunat 5 µg, 10 µg dan 15 µg. Efek sinergis artesunat dengan antibiotik golongan quinolon secara umum memang belum banyak diteliti. Akan tetapi Li dkk secara singkat menjelaskan bahwa uji coba kombinasi artesunat dengan gatifloksasin tidak meningkatkan daya hambat dari gatifloksasin.⁸

MIC diklofenak pada gram negatif (*E. coli*) yang dilaporkan pada studi oleh Laudy dkk tergolong tinggi yaitu 1600 mg/L.⁴ Efek antibakteri yang rendah pada bakteri gram negatif yang diduga akibat efek diklofenak dan NSAID lainnya merupakan substrat dari pompa efluks pada bakteri gram negatif. Pada penelitian oleh Laudy dkk. NSAID dapat menurunkan MIC beberapa jenis antibiotik >4 kali lipat dengan adanya inhibitor dari pompa efluks PaβN.⁴ Diklofenak dalam hal ini diduga bekerja dengan mekanisme inhibitor kompetitif dari pompa efluks pada sel bakteri gram negatif. Mekanisme inhibitor kompetitif diduga

berasal dari ikatan antara protein transport dan inhibitor (dalam hal ini diklofenak) yang mengakibatkan saturasi situs untuk interaksi antara pompa efluks dengan substrat antibiotik.¹³

Hasil penelitian ini belum dapat membuktikan hipotesis bahwa adanya diklofenak pada dosis yang diujikan dapat meningkatkan daya hambat dari siprofloksasin pada bakteri *E. coli*. Hasil penelitian ini konsisten dengan hasil penemuan Laudy dkk yaitu diklofenak tidak memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan pada dosis rendah.⁴ Walaupun terdapat hasil temuan positif pada literatur, studi tersebut laporkan pada tingkat dosis yang jauh lebih tinggi yaitu 100 µg dengan metode *disk diffusion* Kirby Bauer menghasilkan diameter daya hambat 16,6 mm pada *S. aureus* NCTC 6571 dan 13,2 mm pada *E. coli* ATCC 25922.¹⁵ Pada uji lanjutan penelitian tersebut ditemukan penurunan sintesis DNA pada bakteri uji setelah penambahan diklofenak. Dutta dkk¹⁵ juga menunjukkan bahwa diklofenak (100 µg) bersinergi dengan streptomisin (10 µg). Berbeda dengan hasil pada penelitian ini, penambahan diklofenak 5 µg, 10 µg dan 15 µg pada siprofloksasin 5 µg tidak menunjukkan peningkatan diameter zona hambat. Hal ini mungkin dapat dijelaskan bahwa dalam kadar rendah, diklofenak belum dapat menunjukkan pengaruh inhibisi pada sintesis DNA serta dapat di pompa keluar sel tanpa mengganggu kapasitas pompa efluks tersebut. Kadar diklofenak yang rendah tersebut belum dapat membuat saturasi dalam pompa efluks, sehingga laju pemompaan keluar molekul antibiotik siprofloksasin tidak mengalami penurunan yang bermakna.

Hasil penelitian ini juga belum dapat membuktikan hipotesis bahwa adanya loperamid pada dosis yang diujikan dapat

meningkatkan daya hambat dari siprofloksasin pada bakteri *E. coli*. Sejauh ini penelitian yang telah membuktikan efek sinergitas loperamid jika dikombinasikan dengan antibiotik minosiklin, yaitu varian antibiotik dari golongan tetrasiklin.¹⁴ Hasil yang diperoleh oleh Ejim dkk,¹⁴ yaitu ditemukan efek sinergistik loperamid jika dikombinasikan dengan minosiklin pada bakteri gram negatif seperti *Salmonella typhi*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Escherichia coli*. Hasil yang diperoleh diduga terjadi akibat aktivitas loperamid yang mampu secara spesifik mendisipasi komponen elektrik ($\Delta\Psi$) dari *proton motive force* pada membran sel bakteri *E. coli*.

Penurunan $\Delta\Psi$ yang tidak letal akan dibarengi dengan kompensasi peningkatan komponen lain dari *proton motive force* yaitu komponen gradien konsentrasi ion hidrogen transmembran (ΔpH). Peningkatan ΔpH ini akan meningkatkan penetrasi dari antibiotik terutama yang memanfaatkan ΔpH untuk masuk ke dalam sel, salah satu contohnya adalah tetrasiklin.^{14,17} Karakteristik tersebut berbeda dengan siprofloksasin yang penetrasi ke dalam sel memiliki mekanisme yang berbeda. Ejim dkk juga menguji kombinasi normofloksasin dengan loperamid dan ditemukan hasil yang tidak menunjukkan sinergitas.¹⁴ Selain itu kadar loperamid yang menunjukkan hasil pada penelitian tersebut adalah 256 µg/ml yang jauh lebih tinggi dari yang diujikan di penelitian ini.

Salah satu tantangan dalam kombinasi obat untuk tatalaksana klinis adalah usaha untuk mendapatkan karakteristik farmakologis yang mirip.¹⁴ Karakteristik farmakologis yang penting yaitu distribusi dan penetrasi akan berkaitan erat dengan kadar obat yang dapat dicapai di jaringan target. Pemilihan konsentrasi 5 µg,

10 µg, dan 15 µg pada setiap penambahan obat non-antibiotik di penelitian ini berasal dari pertimbangan kadar zat dalam plasma darah yang dapat dicapai pada pemberian obat dalam dosis normal pada penyakit atau keadaan klinis sesuai praktek klinis pada umumnya. Berdasarkan tinjauan pustaka, kadar maksimal plasma artesunat adalah 256 ng/ml setelah administrasi oral 200 mg¹⁸, diklofenak 6,63 ng/ml setelah administrasi oral 37,5 mg¹⁹ dan loperamid 2 ng/ml setelah administrasi oral 2 mg.²⁰ Angka konsentrasi plasma ini jauh lebih kecil dari hasil penelitian uji daya hambat pada literatur lain yang mendapatkan hasil positif, sehingga pada penelitian ini digunakan dosis yang lebih rendah agar hasilnya memiliki nilai praktis yang lebih baik.

Secara teoritis tingkat dosis yang tinggi pada penelitian-penelitian sebelumnya mungkin saja dapat tercapai, jika kombinasi dengan sediaan oral diterapkan untuk terapi penyakit infeksi gastrointestinal atau sediaan topikal untuk dermatologi atau sediaan injeksi untuk sendi. Sebagai contoh loperamid 2 mg (dosis awal) akan dapat dikombinasikan dengan antibiotik siprofloksasin 500 mg untuk penatalaksanaan *traveler diare*a saat ini. Konsep ini telah dibuktikan Ejim dkk dengan menguji efikasi kombinasi loperamid-minosiklin pada model tikus kolitis yang telah diinfeksi dengan *Salmonella enterica serovar typhimurium*. Hasil uji menunjukkan bahwa loperamid (dosis hingga 50 mg/kg berat badan) atau minosiklin (dosis hingga 100 mg/kg berat badan) tidak memiliki efek yang signifikan pada infeksi tersebut jika diberikan tersendiri. Namun jika dikombinasikan kombinasi loperamid (1 mg/kg)-minosiklin(100 mg/kg) mampu menurunkan jumlah kuman hingga 10^5 - 10^6 kali.¹⁴

Pada penelitian ini karena keterbatasan sumber daya dan ketersediaan jenis obat di Indonesia, peneliti hanya dapat memperoleh obat non-antibiotik diklofenak dan loperamid dalam bentuk sediaan tablet, dan artesunat dalam sediaan serbuk yang perlu dilarutkan. Walaupun penelitian dari Laudy dkk tidak menghasilkan perbedaan yang jauh antara hasil daya hambat (MIC) beberapa golongan NSAID dari sediaan tablet dengan sediaan standar zat aktif murni, faktor ketidakmurnian mungkin saja mempengaruhi hasil uji di penelitian ini.⁴ Faktor sediaan tablet obat yang telah dicampur dengan zat aditif seperti preservatif, dan zat pengisi obat mungkin dapat berpengaruh secara kimiawi maupun fisika pada campuran saat diujikan ke isolat bakteri. Reaksi kimia antar komponen yang dicampurkan sebelum di teteskan ke *disk* dapat mengganggu kestabilan zat aktif (faktor kimiawi) seperti pada pelarutan obat artesunat dilakukan dengan menambahkan natrium bikarbonat sesuai rekomendasi administrasi obat intravena dari manufaktur. Kelarutan dalam air yang berkurang pada sediaan sehingga penyebaran zat aktif pada media agar tidak sebaik pada siprofloksasin (kontrol) murni merupakan kemungkinan lain yang patut dicurigai. Perbedaan kelarutan zat uji akan sangat bermakna akibat perbedaan prinsip pada metode *disk-diffusion* dengan metode dilusi serial yang digunakan penelitian lainnya yang telah mempublikasikan hasil temuan positif.

SIMPULAN

Daya hambat antibiotik siprofloksasin 5 µg terhadap pertumbuhan isolat klinis bakteri *E. coli* tidak mengalami peningkatan jika dikombinasikan dengan non-antibiotik diklofenak, loperamid

maupun artesunat dengan dosis masing-masing 5 µg, 10 µg dan 15 µg.

SARAN

Penelitian ini tidak lepas dari keterbatasan metode *Disk diffusin* Kirby bauer. Untuk itu sebaiknya penelitian selanjutnya dilakukan dengan metode yang lebih baik. Sumber sediaan obat non-antibiotik adalah obat tablet natrium diklofenak dan loperamid merupakan hal yang tidak ideal dalam pengujian aktivitas antibakteri. Oleh karena itu diharapkan penelitian selanjutnya menggunakan sediaan larutan/cair murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(4):260-271. doi:10.1038/nrmicro2319.
- Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ V. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Publ Gr.* 2014;13(1):42-51. doi:10.1038/nrmicro3380.
- Woodford N, Livermore DM. Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge. *J Infect.* 2009;59:S4-S16. doi:10.1016/S0163-4453(09)60003-7.
- Laudy AE, Mrowka A, Krajewska J, Tyski S. The influence of efflux pump inhibitors on the activity of non-antibiotic NSAIDs against gram-negative rods. *PLoS One.* 2016;11(1):1-16. doi:10.1371/journal.pone.0147131.
- O'Neill J. Antimicrobial Resistance : Tackling a crisis for the health and wealth of nations. *Rev Antimicrob Resist.* 2014;(December):1-16. doi:10.1038/510015a.
- Ventola CL. The Antibiotic Resistance Crisis Part 1 : Causes and Threats. *P&T.* 2015;40(4):277-283.
- Sun J, Deng Z, Yan A. Biochemical and Biophysical Research Communications Bacterial multidrug efflux pumps : Mechanisms , physiology and pharmacological exploitations. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;453(2):254-267. doi:10.1016/j.bbrc.2014.05.090.
- Li B, Yao Q, Pan XC, et al. Artesunate enhances the antibacterial effect of β-lactam antibiotics against *Escherichia coli* by increasing antibiotic accumulation via inhibition of the multidrug efflux pump system AcrAB-ToiC. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(4):769-777. doi:10.1093/jac/dkr017.
- Ayaz M, Subhan F, Ahmed J, et al. Sertraline enhances the activity of antimicrobial agents against pathogens of clinical relevance. *J Biol Res (Thessalonikē, Greece).* 2015;22(1):4. doi:10.1186/s40709-015-0028-1.
- Dastidar SG, Ganguly K, Chaudhuri K, Chakrabarty AN. The anti-bacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA synthesis. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;14(3):249-251. doi:10.1016/S0924-8579(99)00159-4.
- Dutta NK, Mazumdar K, Dastidar SG, Park JH. Activity of diclofenac used alone and in combination with streptomycin against *Mycobacterium tuberculosis* in mice. *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30(4):336-340. doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.04.016.
- Kalayci S. Antimicrobial Properties of Various Non-Antibiotic Drugs against Microorganisms. *J Bioanal Biomed.* 2016;8(4). doi:10.4172/1948-593X.1000e142.
- Martins M, Dastidar SG, Fanning S, et al. Potential role of non-antibiotics (helper compounds) in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections: mechanisms for their direct and indirect activities. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;31(3):198-208. doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.10.025.

14. Ejim L, Farha M a, Falconer SB, et al. Combinations of antibiotics and nonantibiotic drugs enhance antimicrobial efficacy. *Nat Chem Biol.* 2011;7(6):348-350. doi:10.1038/nchembio.559.
15. Dutta NK, Annadurai S, Mazumdar K, et al. Potential management of resistant microbial infections with a novel non-antibiotic: the anti-inflammatory drug diclofenac sodium. *Int J Antimicrob Agents.* 2007;30(3):242-249. doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.04.018.
16. Cockerill FR, Wikler M a., Alder J, et al. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests ; Approved Atandard.* Vol 32.; 2012. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/01-CLSI-M02-A11-2012.pdf>.
17. Yamaguchi A, Ohmori H, Kaneko-ohdera M, Nomura T, Sawai T. pH-Dependent Accumulation of Tetracycline in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35(1):53-56.
18. Morris CA, Duparc S, Borghini-fuhrer I, Jung D, Shin C, Fleckenstein L. Review of the clinical pharmacokinetics of artesunate and its active metabolite dihydroartemisinin following intravenous , intramuscular , oral or rectal administration. *Malar J.* 2011;10(263):1-17.
19. Miyatake S, Ichiyama H, Kondo E, Yasuda K. Randomized clinical comparisons of diclofenac concentration in the soft tissues and blood plasma between topical and oral applications. *Br J Clin Pharmacol.* 2009;67(1):125-129. doi:10.1111/j.1365-2125.2008.03333.x.
20. PubChem. Loperamide. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=3955. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3955>. Published 2016. Accessed January 1, 2018.