



# ANTİVİRAL İLAÇLARIN HASTANE ENFEKSİYON ETKENİ PSEUDOMONAS AERUGINOSA ÜZERİNDE SİNERJİSTİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF THE SYNERGISTIC EFFECT ON THE HOSPITAL INFECTION  
AGENT PSEUDOMONAS AERUGINOSA OF ANTIVIRAL DRUGS

Şükran ÖZTÜRK<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Zonguldak Bulent Ecevit Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,  
67600, Zonguldak, Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Yaygın hastane enfeksiyon ajanı olan *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)'nın tedavisi amacıyla antiviral ilaçlar ile antibiyotiklerin kombinasyon olarak kullanılmalari sonucunda oluşan sinerjistik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Antiviral ilaçların etken maddesi olarak Umifenovir (UMF) ve Ribavirin (RBV) antibiyotiklerden kolistin ve beta laktamaz inhibitörü sulbaktam ile çalışılmıştır. Çok İlaça Dirençli (ÇİD) ve Kolistin (KOL) dirençli *P. aeruginosa* klinik izolatları çalışmaya dahil edilmiştir. *P. aeruginosa* üzerinde, UMF ve RBV' nin ayrı ayrı Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) mikrodilüsyon yöntemi ile, KOL ve Sulbaktam (SUL) ile sinerjistik etkinliğine ise dama tahtası sinerji testi ile araştırılmıştır.

**Sonuç ve Tartışma:** Dirençli suşlarda, RBV ile KOL ve SUL kombinasyonlarında sinerji ve kısmi sinerji oluşurken (FİK = 0.375-0.75), ATCC 27853 suşu ile yapılan çalışmada indeferans ve aditif (FİK=1.0-2.0) etkileşimin daha yoğun olduğu görülmüştür. UMF ile KOL ve SUL kombinasyonlarında ise sinerji ve kısmi sinerjiler (FİK=0.53-0.75) dikkat çekerken, ATCC 27853 suşlarında aditif (FİK=1.0) etki tespit edilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde UMF ve RBV' nin KOL ve SUL ile kombinasyon kullanımlarının dirençli suşlar üzerinde daha etkin olduğu görülmüş olup, kombinasyonların dirençli hastane enfeksiyon etkenlerinin tedavisinde alternatif bir seçenek olarak kullanılabilirliği fikri gelecek çalışmalarla desteklenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik direnci, antiviral ilaç, dama tahtası, *Pseudomonas aeruginosa*, sinerji

\* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Şükran Öztürk  
e-posta / e-mail: sukranozturk79@gmail.com, Tel. / Phone: +905056652387

Gönderilme / Submitted : 28.10.2022

Kabul / Accepted : 12.12.2022

Yayınlanma / Published : 20.01.2023

## ABSTRACT

**Objective:** It was aimed to investigate the synergistic efficacy of antiviral drugs and antibiotics in combination for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), which is a common nosocomial infection agent.

**Material and Method:** Umifenovir (UMF) and Ribavirin (RBV) antibiotics as active ingredients of antiviral drugs, colistin and beta-lactamase inhibitor sulbactam were studied. Multi-Drug Resistant (MDR) and Colistin (COL) resistant *P. aeruginosa* clinical isolates were included in the study. On *Pseudomonas aeruginosa*, the minimal inhibition concentration of UMF, RBV, KOL and SUL separately with the microdilution method, and the synergistic activity of UMF -RBV and KOL-Sulbactam (SUL) were examined with the checkerboard synergy test.

**Result and Discussion:** In resistant strains, synergy and partial synergy occurred in combinations of RBV with COL and SUL (FIC = 0.375-0.75), whereas in the study conducted with ATCC 27853 strain, inferential and additive (FIC = 1.0-2.0) interactions were observed to be more intense. While synergy and partial synergies (FIC=0.53-0.75) were noted in combinations of UMF with KOL and SUL, an additive effect (FIC=1.0) was detected in ATCC 27853 strains. When the results were evaluated, it was seen that the use of UMF and RBV in combination with KOL and SUL was more effective on resistant strains, and the idea that the combinations could be used as an alternative option in the treatment of resistant nosocomial infections should be supported by future studies.

**Keywords:** Antibiotic resistance, antiviral drug, checkerboard, *Pseudomonas aeruginosa*, synergy

## GİRİŞ

*P. aeruginosa*, hastane enfeksiyonlarında sık karşılaşılan ve çoğul antibiyotik direnci göstermesi nedeniyle tedavisi oldukça güç olan bir hastane enfeksiyonu etkeni olarak bilinmektedir [1]. *P. aeruginosa*, ÇİD izolatların ortaya çıkmasını tetikleyerek birden fazla antimikrobiyal madde sınıfına direnç geliştirme yeteneğine sahiptir. Uygunsuz antibiyotik kullanımının, çeşitli antibiyotiklere dirençli izolatların ortaya çıkmasında önemli bir faktör olduğu ve bu durumun dünya genelinde önemli bir sorun oluşturduğu bilinmektedir [2]. Antimikrobiyal direnç gelişiminde uygunsuz antibiyotik kullanımı önemli olmakla birlikte, *Pseudomonas* suşları ampisilin, amoksisilin, amoksisilin-klavunat, 1. ve 2. kuşak sefalosporinler, sefotaksim, seftriakson, nalidiksik asit ve trimetoprim gibi birçok antibiyotik grubuna da intrinsik olarak direnç gösterebilmektedir [3,4]. Buna karşılık, polimiksin tedavisinin artan kullanımı, dünya çapında polimiksine dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının ortaya çıkmasına da neden olmuştur.

*Pseudomonas* enfeksiyonlarının tedavisi, bakterinin birçok antibiyotiğe gösterdiği bu intrinsik direnç nedeniyle oldukça zordur. Ayrıca bu durum ampirik tedavi seçeneklerini de sınırlamaktadır [5]. *Pseudomonas* suşlarının etken olduğu enfeksiyonlarda diğer önemli sorun, antibiyotiklere direncin çabuk gelişmesi ve yüksek oranda olmasıdır [6, 7]. Tüm dünyada bakterinin antibiyotiklere karşı geliştirdiği kazanılmış direnç oranları giderek artmaktadır. Bu nedenle *Pseudomonas*'lar, tedavisi güç ve mortalite oranları yüksek olan ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır. Dirençli *Pseudomonas* suşlarında tedavi alternatiflerinden biri kolistindir. Kolistin *Bacillus polymxa* tarafından sentez edilen polimiksin grubu bir antibiyotiktir. En önemli yan etkisi nefrotoksisite olan kolistin 1950-1980 yılları arasında kullanılmış daha sonra 1980'lerde nefrotoksisite nedeniyle kullanımı çok azalmıştır. Son yıllarda *Acinetobacter baumannii* ve *P. aeruginosa* gibi çoklu ilaç direnci gösteren Gram negatiflerin ortaya çıkması ile yeniden kullanılmaya başlanmıştır. Yakın zamana kadar *Pseudomonas* 'larda kolistin direncinden söz edilmezken, son yıllarda dirençli suşlar bildirilmeye başlamıştır [8,9]. Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir peptid olan kolistin ile Gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki anyonik lipopolisakkarid molekülleri elektrostatik ilişkiye girerler ve hücre membranında düzensizliğe yol açarlar. Kolistin, lipopolisakkarid moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyumun yerini değiştirerek dış membranda bozulmaya ve oluşan permeabilite bozukluğu ile bakterinin ölümüne neden olmaktadır. Kolistinin antibakteriyel etkisine ek olarak anti-endotoksin aktivitesi de vardır ve lipopolisakkariti nötralize ederek etki göstermektedir [10,11].

Sulbaktam kimyasal olarak bir penisilanik asit sülfondur ve A sınıfı enzimlere karşı özel aktivite gösteren bir  $\beta$ -laktamaz inhibitörüdür. Sulbaktam,  $\beta$ -laktamazların hidrolitik aktivitesini geri dönüşümsüz olarak inhibe edebilen, antibakteriyel aktivite yeteneği az olan veya hiç olmayan, ticari olarak ampisilin veya sefoperazon ile kombinasyon halinde ve  $\beta$ -laktamazı inhibe etmek için genellikle  $\beta$ -laktam antibiyotikler ile birlikte kullanılmaktadır [12]. Sulbaktam, en yaygın  $\beta$ -laktamaz formlarını inhibe edebilir, ancak AmpC sefalosporinaz ile etkileşime giremez. Bu nedenle, genellikle bu geni ifade eden *P. aeruginosa*, *Citrobacter*, *Enterobacter* ve *Serratia* gibi bakterilere karşı çok az koruma sağlar [13].

RBV, özellikle Hepatit C ve belirli influenza virüslerine karşı bir dizi karmaşık tedavinin parçası olarak yaygın kullanılan bir antiviral ilaçtır. RBV' nin antiviral özelliklerinin uzun süredir bilinmesine rağmen, etki mekanizması net olarak araştırılmamıştır, ayrıca birkaç çalışma, antiviral özelliklere ek olarak ribavirin antibakteriyel özelliklere de sahip olduğunu göstermektedir [14]. UMF [Arbidol olarak da bilinir], S protein/ACE2 etkileşimini hedefleyen ve viral zarfın membran füzyonunu engelleyen benzersiz bir etki mekanizmasına sahip, daha umut verici bir amaca yönelik antiviral ajandır [15]. Arbidol, Hemaglutinin zarf glikoproteinini [HA], hedefleyen mevcut tek antiviral ilaçtır. Arbidol [umifenovir], İnfluenza, Respiratuar Sinsityal Virüs [RSV], Adenovirüs, Cocksackie B5, Parainfluenza, Ebola [EBOV] ve Hepatit B ve C gibi bir dizi zarflı ve zarfsız virüse karşı geniş spektrumlu bir antiviraldir. İnfluenza A ve B virüslerinin çeşitli suşlarına ve alt tiplerine karşı geniş aktivite gösterir [16]. Çalışmamızda, imipenem, meropenem, siprofloksasin vb. dirençli (ÇİD) (Tablo1) ve KOL dirençli *P. aeruginosa* izolatları üzerinde, KOL-RBV- UMF ve SUL-RBV-UMF olmak üzere 2 ayrı grupta sinerjistik etki araştırılmıştır. Literatür araştırmamızda ÇİD ve KOL dirençli olarak tanımlanmış *P. aeruginosa* izolatları üzerinde söz konusu antiviral ilaçlar ile antibiyotiklerin sinerjistik aktivitesini ilişkilendiren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma, ÇİD ve KOL dirençli *P. aeruginosa* klinik izolatları üzerinde SUL ve KOL antibiyotiklerinin, RBV ve UMF antiviral ilaçlar ile sinerjisini araştırmayı, dirençli suşlar üzerindeki tedavi seçeneklerine alternatif oluşturarak, çok ilaca dirençli klinik izolatları karşı antibiyotiklerden faydalanabilme seçeneklerini tespit edebilmeyi amaçlamıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Bakteriyel Suşlar ve Antibiyotik Duyarlılığı

Bu çalışmada üç ÇİD ve KOL dirençli *P. aeruginosa* suşu kullanılmış olup, PS1, PS2 ve PS3 olarak adlandırılmıştır. *P. aeruginosa* suşları kültür koleksiyonunda saklanan suşlardan seçilmiştir. ÇİD *P. aeruginosa* klinik izolatlarının ÇİD ve KOL direnci, Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi'nin tavsiyelerine göre belirlenmiştir [17].

### Bakteri İzolasyonu ve Kültüre Edilmesi

Bu izolatlar, kan, idrar, doku, radyolojik görüntü, analiz ve tedavi işlemleri gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji toplama materyalleri ile yapılacak araştırmalar kapsamında kullanılmak üzere hastane kültür koleksiyonundan elde edilmiştir.

Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi [European Centre for Disease Prevention and Control-ECDC] tavsiyeleri doğrultusunda, Genel ÇİD tanımı: "ÇİD:  $\geq 3$  antimikrobiyal kategoride  $\geq 1$  ajana duyarlı olmayan" olarak tanımlanmaktadır. *P. aeruginosa* için ÇİD tanımı; İzolat, listelenen  $\geq 3$  antimikrobiyal kategorisindeki en az 1 ajana duyarlı değildir.

ECDC tarafından yapılan ÇİD tanımı dikkate alınarak çalışmamızda ÇİD olarak tanımlanan ve çalışmaya dahil edilecek PS1 ve PS3 suşları için siprofloksasin, imipenem, levofloksasin, meropenem, seftazidime gibi antibiyotiklere karşı benzer direnç profilleri belirlenmiş izolatlar seçilmiştir (Tablo 1). ÇİD suşlarının antibiyotik direnci, belirlenen antibiyotikler kullanılarak disk difüzyon yöntemiyle doğrulanmıştır [17]. Buna göre siprofloksasin, imipenem, levofloksasin, meropenem, seftazidime dirençli PS1 ve PS3 suşları ÇİD olarak kabul edilmiştir [18, 19]. PS2 ise kolistine dirençli bir suştur ve bu şekilde değerlendirmeye alınmıştır.

### Minimal İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

ÇİD ve KOL dirençli PS'lere karşı olan minimum inhibisyon konsantrasyonları [17,21] tavsiyesine göre mikro dilüsyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, mikroplakalarda katyon ayarlı Mueller Hinton Broth [MHB] ile bileşiklerin çift kat dilüsyonları hazırlanmış ve bileşiklerin konsantrasyon aralıkları sırasıyla, RBV, UMF, KOL ve SUL için 128-0.25 µg/mş, 128-0.25 µg/ml, 64-0.125 µg/ml ve 256-0.5 µg/ml olarak ayarlanmıştır. Son aşamada plaklara  $5 \times 10^5$  CFU/ml olacak şekilde bakteri süspansiyonu eklendikten sonra  $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri üremesini engelleyen en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak kabul edilmiştir. Her deney üç kopya halinde gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 1.** *Pseudomonas aeruginosa* klinik izolatları suşların antibiyotik direnç profili

İzolatlar	Direnç profili	Direnç Genleri
<i>P.aeruginosa</i> 1: PS1	Siprofloksasin	
	İmipenem >8	
	Levofloksasin	OXA48, KPC
	Meropenem >8	
	Seftazidim	
<i>P.aeruginosa</i> 2: PS2	Kolistin>4	OXA48, KPC
<i>P.aeruginosa</i> 3: PS3	Beta laktamaz pozitif	
	İmipenem =8	
	Meropenem =8	OXA48, KPC
	Siprofloksasin	
	Levofloksasin	

### RBV ve UMF' nin Antibiyotiklerle Sinerjistik Etkisinin Belirlenmesi

RBV-KOL, UMF-KOL ve RBV-SUL, UMF-SUL arasındaki sinerjiyi [17,21] saptamak için dama tahtası mikro seyreltme yöntemi kullanılmıştır. Bunun için U Tabanlı 96' lık mikropolanın tüm kuyucuklarına 100 µl MHB ve yatay ekseninde seri KOL [64-0.25µg/ml] ve SUL [256-1 µg/ml] antibiyotik dilüsyonları ve dikey ekseninde RBV ve UMF [128-2 µg/ml] antiviral dilüsyonları dağıtılmıştır. Tüm izolatların bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland standart bulanıklığına göre hazırlanarak 1:10 oranında seyreltilip, her kuyucuktaki nihai bakteri konsantrasyonunun  $5 \times 10^5$  CFU/ml olmasını sağlamak için 100 µl hacimli her bir kuyucuğa 5 µl olarak inoküle edilmiştir. Mikropolanlar 16-20 saat  $35^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır.

RBV, UMF ve KOL ile RBV, UMF-SUL arasındaki sinerji ilişkisi, fraksiyonel inhibitör konsantrasyonu [FIK] ile belirlenerek nicelleştirilmiş ve sinerji,  $\text{FIK} \leq 0,5$  olarak tanımlanmıştır. FIK indeksi [FIKi] aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{FIK indeksi} = \text{FIKA} + \text{FIKB} = \frac{[A]}{\text{MİKA}} + \frac{[B]}{\text{MİKB}}$$

Elde edilen FIKi indeksi şu şekilde yorumlanacaktır: <0.5 sinerji; 0,5-0,75 kısmi sinerji; 0.76-1 katkı etkisi; 1-4 kayıtsızlık; ve >4 antagonizma [20,21].

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları

RBV, UMF ve KOL, SUL tedavi ajanlarının dirençli *P. aeruginosa* izolatlarına karşı antimikrobiyal duyarlılık testi MİK ve FİK değerleri Tablo 2 ve Tablo 3' de gösterilmiştir.

Bu çalışmaya, 3 adet ÇİD ve KOL dirençli *P. aeruginosa* klinik suşu dahil edilmiştir. UMF ve RBV antiviral ajanların çeşitli antibiyotiklerle sinerjistik etkisine bakılarak klinikte dirençli suşlara karşı

kullanılması mümkün olabilecek kombinasyonlar bulmak hedeflenmiştir. Bu veriler incelendiğinde RBV ve UMF'nin KOL ve SUL ile yapılan kombinasyon denemelerinde farklı sonuçlara ulaşılmıştır. RBV ile oluşan kombinasyonda dirençli suşlarda çoğunlukla kısmi sinerji görülürken (FİK= 0.5-0.75) *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda Aditif (FİK=0.76-1) ve İndeferas (FİK= 1-4) etkinin oluşması dikkat çekmiştir (Tablo 2, Tablo 3). Aynı şekilde UMF ile yapılan antibiyotik kombinasyonlarında ortaya çıkan sinerji tablosu da benzerlik göstermiştir. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte RBV'nin ve UMF'nin bakteriler üzerinde kullanımıyla ilgili sınırlı sayıda kaynağa ulaşılmıştır.

Kaynaklardan edinilen bilgiler ve yaptığımız çalışma verileri doğrultusunda, antiviral ilaçların antibiyotiklerle kombine bir şekilde uygulanmasının ve tedavi seçeneği olarak kullanılmasının, özellikle dirençli bakteri enfeksiyonları için alternatif bir yöntem olarak kliniğe katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

Penisilin keşfinden bu yana, antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonlara karşı birinci basamak tedavi ajanı olarak kullanılmaya devam etmektedir [23,24]. Ancak, antibiyotiklerin yanlış ve yaygın kullanımı, dirençli patojenlerin ortaya çıkmasını büyük ölçüde kolaylaştırmıştır [25,26]. Bu direncin, 2050'de 10 milyondan fazla ölüme sebebiyet verebileceği yönündeki öngörüler durumun ciddiyetini gözler önüne sermektedir [27]. Bu durum, halihazırda kullanımda olan antibiyotiklerin klinikte enfeksiyon etkeni bakterilerin tedavisinde yetersiz hale gelmesini ve dolayısıyla de yeni tedavi seçeneklerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır [28].

*P. aeruginosa*, farklı yerlerden izole edilebilen ve klinikte önemli bir enfeksiyon kaynağı olan Gram negatif fırsatçı bir patojen bakteridir [29,30]. Genom yapısı ve hücre iletişim mekanizması [quorum sensing-QS], virülans ve direncin gelişmesinde etkili bir özellik olarak kabul edilmiştir [31, 32].

Güncel çalışmalara bakıldığında, bakterilerin virülansını etkisiz hale getirecek yöntemler ve tedavi seçeneklerinin umut verici olduğu görülmüştür [33]. Bu amaçla kullanıma alınan antiviral ilaçların enfeksiyonu durdurucu bir özelliği gündeme gelmiştir ki bunu, toksin üretimi, sitokinler, bakterilerin yapısında bulunan ve enfeksiyona neden olan bazı işlevleri inhibe etmek suretiyle yapabildiği düşünülmüştür. Hücre sinyalizasyon sistemi gelişmiş bakteri türlerinden biri olan *P. aeruginosa*, antiviral ilaçların uygulanmasında model tür olarak sıklıkla kullanılmaktadır [32].

*P. aeruginosa*, genellikle klinik tedavi başarısızlığına neden olan çeşitli antibiyotik direnç mekanizmalarına sahiptir. Bu nedenle, *P. aeruginosa* enfeksiyonuna karşı yeni alternatif tedavi seçeneklerinin bulunması giderek daha önemli bir hal almaya başlamıştır. Bu bilgilerden yola çıkarak geniş spektrumlu antiviral bir ilaç olan RBV ve UMF' nin *P. aeruginosa* üzerindeki etkinliği ve antibiyotiklerle sinerjistik etki potansiyeli araştırılmıştır.

Yuan vd, 2022' nin yapmış olduğu çalışmada, dimetridazol ve RBV' nin sinerjistik aktivitelerini araştırmış ve ek olarak, bunların polimiksin B, meropenem ve kanamisin ile sinerjistik etkileşimlerini de tanımlayarak antibiyotiklere yüksek dirençli *P. aeruginosa* klinik izolatlarının duyarlılığını arttırdığı sonucuna varmıştır. Araştırmacılar dimetridazole RBV takviyesinin, piyosyanin, hücre dışı proteazlar ve biyofilm dahil olmak üzere *P. aeruginosa* virülans faktörlerinin üretimini de inhibe ettiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda ÇİD bakterilerin ortaya çıkmasıyla oluşan halk sağlığı sorununun ele alınmasına da katkıda bulunmaktadır. Mevcut çalışmamızda benzer şekilde, *P. aeruginosa* klinik izolatu üzerinde RBV ile KOL ve SUL'un sinerjistik etkisi araştırılmış ve elde edilen sonuçlar antiviral ilaç olan RBV ile test edilen antibiyotik inhibitör kombinasyonlarının umut vaat edici sinerjistik etkisini göstermiştir (FİK = 0.375-0.75). Aynı yaklaşımlar çerçevesinde çalışmamızda, tek başına kullanıldığında SUL ile RBV' nin birlikte kullanımından doğan sinerjinin dirençli *P. aeruginosa* 'nın oluşturduğu enfeksiyonlarda tedavi edici olarak alternatif oluşturabileceği fikri ortaya çıkmıştır.

**Tablo 2.** PS1, PS2 ve PS3 için KOL, RBV ve UMF MİK ve FIKi değerleri

MİK [ $\mu\text{g/ml}$ ]						
Bakteri	Ajan	Tek	Kombinasyon	FIK	FIKi	Yorum
PS1	KOL	1	0.25	0,25	0.75	Kısmi sinerji
	RBV	128	64	0,5		
PS1	KOL	1	0.5	0,5	1	Aditif
	UMF	64	32	0,5		
PS2	KOL	4	1	0.25	0.75	Kısmi sinerji
	RBV	128	64	0.5		
PS2	KOL	4	0.5	0.125	0.375	Sinerji
	UMF	32	8	0.25		
PS3	KOL	1	0.125	0.125	0.625	Kısmi sinerji
	RBV	128	64	0.5		
PS3	KOL	1	0.125	0.125	0.625	Kısmi sinerji
	UMF	64	32	0,5		
ATCC 27853	KOL	2	2	1	2	İndeferans
	RBV	128	128	1		
	KOL	2	1	0.5	1	Aditif
	UMF	64	32	0.5		

Elde edilen FIK indeksi şu şekilde yorumlanmıştır: <0.5 sinerji; 0,5-0,75 kısmi sinerji; 0.76–1 Aditif [katkı etkisi]; 1-4 indeferans [kayıtsızlık]; ve >4 antagonizma [20,21].

**Tablo 3.** PS1, PS2 ve PS3 için SUL, RBV ve UMF MİK ve FIKi değerleri

MİK [ $\mu\text{g/ml}$ ]						
Bakteri	Ajan	Tek	Kombinasyon	FIK	FIKi	Yorum
PS1	SUL	128	32	0.25	1.25	İndeferans
	RBV	128	128	1		
PS1	SUL	128	32	0,25	0.75	Kısmi sinerji
	UMF	64	32	0,5		
PS2	SUL	256	8	0.0312	0.53	Sinerji
	RBV	128	64	0.5		
PS2	SUL	256	8	0.0312	0.53	Sinerji
	UMF	64	32	0.5		
PS3	SUL	128	32	0.25	1.25	İndeferans
	RBV	128	128	1		
PS3	SUL	128	32	0,25	0.75	Kısmi sinerji
	UMF	64	32	0,5		
ATCC 27853	SUL	64	32	0.5	1.0	Aditif
	RBV	64	32	0.5		
	SUL	64	32	0.5	1.0	Aditif
	UMF	64	32	0.5		

Elde edilen FIK indeksi şu şekilde yorumlanmıştır: <0.5 sinerji; 0,5-0,75 kısmi sinerji; 0.76–1 Aditif [katkı etkisi]; 1-4 indeferans [kayıtsızlık]; ve >4 antagonizma [20,21].

Di Bonaventura vd. (2022)'nin yaptığı çalışmada, genel olarak, bulgular, siklopiroks ve RBV nin *P. aeruginosa* kaynaklı Kistik Fibrozis (KF) hastalarında anti- *P. aeruginosa* ajanları olarak yeniden kullanım için dikkat çekici adaylar olduğunu göstermiştir. Geniş spektrumlu viral üremeyi durdurucu aktiviteye sahip bir guanozin analogu olan RBV' nin antibiyofilm etkisi gösterdiğinin söylenebileceğini belirtmişlerdir [34,35]. Siklopiroks ve RBV' nin anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkinliğinin olduğu da gösterilmiştir [36]. Bu etkiler, KF hastalarında, özellikle, enfeksiyonu temizlemede başarısızlık ve alevlenmiş akut inflamatuvar yanıtın pulmoner doku hasarına yol açması k nedeniyle oldukça önemlidir [37,38]. Bu sonuçlar incelendiğinde, siklopiroks ve RBV' kombinasyonunun, geleneksel tıbbi kimya için ilaç geliştirme potansiyeli açısından iyi bir başlangıç noktası olabileceği düşünülmüştür. SUL ve KOL ile RBV' nin kombinasyonu ile ilgili mevcut çalışmamızda özellikle dirençli *P. aeruginosa* suşlarında sinerji ve kısmi sinerji gözlenmiş olup, antibiyotik-antiviral kombinasyon tedavisinin özellikle hastane enfeksiyon etkeni dirençli suşlar üzerinde etkili olduğunu gözlenmiştir. ATTC suşları üzerinde aynı etkiyi oluşturmayan bu kombinasyon seçenekleri, *P. aeruginosa*' ya ait direnç mekanizmalarına müdahale edebilen bir sistemin varlığını akla getirmektedir.

Lenava ve ark. nın (2014) yaptığı çalışmada, kombine anti viral-bakteriyel ilaçların etkinliğinin fare pnömonisi modelinde değerlendirilmesi yapılmıştır. Ostelmavir kullanımı, İnfluenza A virüsü ile enfekte olmuş farelerde nöraminidaz inhibitörü olarak işlev yaparken, *Streptococcus pneumoniae* ile ikincil bakteri kaynaklı enfeksiyon gelişmiş ve bu kombin tedavi seçeneği uygulamasında deneylerde ölüm oranlarının azaldığı gözlenmiştir. Grip enfeksiyonu sonrası gelişen pnömoni semptomlarını ve hastalığın seyrini hafiflettiği görülmüştür [39, 40]. Oseltamivir'in düzenli kullanımının, bir antibiyotik olan ampisilin kullanmaktan daha etkili bulunduğu bildirilmiştir. UMF' nin antibiyotik ile kombinasyonunda hastalarda komplikasyon gelişmediği gözlenmiştir. Yapılan bazı araştırmalarda arbidol kullanımının çocuk ve yetişkinlerde komplikasyon sayısını azalttığı bildirilmiştir [39]. Tüm bu çalışmalarla bağlantılı olarak, mevcut durumda alınan mifenovirin etkinlik verileri kombine viral-bakteriyel modelde virüs kaynaklı pnömoniyi müteakip bakteriyel enfeksiyon ile İnfluenza sonuçlarına önemli bir katkı sağlamıştır. Ayrıca UMF, bu veriler kapsamında, kullanılabilir daha ileri klinik çalışmaların tasarlanması ve geliştirilmesine konu olan ana etken madde olarak değerlendirilebilir. UMF'yi optimize etmek için tedavi rejiminin ve dozların seçiminin, İnfluenza ve ilişkili ikincil bakteriyel pnömoni olgularını önleme ve tedavi için kullanımının, araştırılmaya devam edilmesi klinik için önemli kazanım olabilir [39].

Veriler incelendiğinde sekonder enfeksiyon olarak gelişen *Pseudomonas* enfeksiyonları için antibiyotikle birlikte verilen UMF' nin bu enfeksiyonların iyileşme sürecinde de katkı sağladığı düşünülmektedir. Çalışmamızda *P. aeruginosa*' ya karşı tek başına ve antibiyotik kombinasyonu ile verilen UMF' nin FİK değerleri incelendiğinde yararlanımının özellikle dirençli suşlara karşı daha yüksek seviyelerde olduğu dikkat çekmiştir. Konuyla ilgili daha detaylı çalışmaların ve in vivo deneylerin yapılması literatüre katkı sağlayabilir.

Sulbaktamın beta-laktam antibiyotiklerle sinerjisi, en belirgin olarak beta laktamazın ana direnç mekanizması olduğu bakteri türlerinde görülmektedir. Bu bileşik ticari olarak ampisilin veya sefoperazon ile kombinasyon halinde mevcuttur. Sulbaktam kombinasyonları, geniş spektrumlu  $\beta$ -laktamaz üreten Enterobacteriaceae ve vankomisine dirençli enterokoklar için güçlü seçici tedaviler göstermemiştir. Toplam 3134 aerobik ve fakültatif Gram-negatif basil içeren bir çalışmada, sulbaktam-ampisilin, sırasıyla %56 ve %73 duyarlılık oranlarıyla *E. coli* ve *Klebsiella* spp.'ye karşı test edilen 12 antibiyotik arasında en az aktif ajan olarak bildirilmiştir [40]. Sulbaktam-ampisilin tedavisinden sonra, İdrar yolu ve solunum yolu enfeksiyonlarının persistant, nüks ve süperenfeksiyonlar bildirilmiştir. Kombinasyon psödomonal enfeksiyonlara karşı etkili değildir [12]. Bu nedenle SUL ile yapılan kombin tedavi protokolüne alternatif bir yol sunmak klinik için önemli bir çıkarım olabilir. Çalışma sonuçlarımız incelendiğinde, SUL ile yapılan kombinasyonların FİK değerlerinin tedavide kullanılabilir ölçüde olduğu gözlenmektedir. Özellikle, UMF ve SUL kombinasyonu ile yapılan sinerji çalışmaları sonucunda hastane enfeksiyon etkeni *P. aeruginosa* üzerinde kullanılacak bir tedavi seçeneği olabileceği ve antimikrobiyal direncin arttığı bu yüzyılda yan etkileri az, ulaşılabilir bu tip kombin tedavilere şans vermek gerektiği ve daha farklı açılardan araştırılmaya değer olduğu düşünülmektedir. Mevcut veriler, başta toksisite testleri olmak üzere *in vivo* çalışmalarla desteklenmelidir.

## TEŞEKKÜR

*P. aeruginosa* klinik izolatlarını paylaşan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sayın Zeynep Ceren KARAHAN' a ve antiviral ilaçları temin etmemde yardımcı olan ve çalışmamı destekleyen Ankara Üniversitesi Kök Hücre Enstitüsü Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Sayın Mehmet Altay ÜNAL'a teşekkür ederim.

## YAZAR KATKILARI

Kavram: Ş.Ö.; Tasarım: Ş.Ö.; Denetim: Ş.Ö.; Kaynaklar: Ş.Ö.; Malzemeler: Ş.Ö.; Veri Toplama ve/veya İşleme: Ş.Ö.; Analiz ve/veya Yorumlama: Ş.Ö.; Literatür Taraması: Ş.Ö.; Makalenin Yazılması: Ş.Ö.; Kritik İnceleme: Ş.Ö.; Diğer: Ş.Ö.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## ETİK KURUL ONAYI

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 05/10/2022 Tarih ve 2022/17 Sayı'lı Etik Kurul onayı alınmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Mayrand, D., Laforce-Lavoie, A., Larochelle, S., Langlois, A., Genest, H., Roy, M., Moulin, V. J. (2012). Angiogenic properties of myofibroblasts isolated from normal human skin wounds. *Angiogenesis*, 15(2), 199-212. [CrossRef]
2. Gales, A.C., Menezes, L.C., Silbert, S., Sader, H.S. (2003). Dissemination in distinct Brazilian regions of an epidemic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing SPM metallo- $\beta$ -lactamase. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(4), 699-702. [CrossRef]
3. Taşbent, F.E., Doğan M., Feyzioğlu, B., Baykan, M. (2013). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas* türlerinin antibiyotiklere direnci. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 43(4), 138-143. [CrossRef]
4. Lee, J.Y., Chung, E.S., Na, I.Y., Kim, H., Shin, D., Ko, K.S. (2014). Development of colistin resistance in *pmrA*-, *phoP*-, *parR*-and *cprR*-inactivated mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(11), 2966-2971. [CrossRef]
5. Kollef, M.H. (2006). Is antibiotic cycling the answer to preventing the emergence of bacterial resistance in the intensive care unit? *Clinical infectious diseases*, 43(Supplement\_2), S82-S88. [CrossRef]
6. Henwood, C.J., Livermore, D.M., James, D., Warner, M., *Pseudomonas Study Group*, T. (2001). Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: Results of a UK survey and evaluation of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy disc susceptibility test. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(6), 789-799. [CrossRef]
7. Ak, S., Yıldız, F., Gündüz, A., Köroğlu, M. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıklarının vitek 2 otomatize sistemi ile değerlendirilmesi. *Gazi Medical Journal*, 27(2), 62-64. [CrossRef]
8. Özünel L, Boyacıoğlu Z.İ., Güreşer A.S., Taylan Ö.A.. (2014). Çorum Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde derin trekeal aspirat örneklerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarının antimikrobiyal duyarlılık paternlerinin değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 271, 81-88.
9. Şenol A., Çelik İ. (2021). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen çok ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* suşlarına karşı çeşitli antimikrobiyallerin *in vitro* aktiviteleri. *Flora*, 26(1), 96-103. [CrossRef]
10. Evans, M.E., Feola, D.J., Rapp, R.P. (1999). Polymyxin B sulfate and colistin: Old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Annals of Pharmacotherapy*, 33(9), 960-967. [CrossRef]
11. Gales, A.C., Reis, A.O., Jones, R.N. (2001). Contemporary assessment of antimicrobial susceptibility testing methods for polymyxin B and colistin: Review of available interpretative criteria and quality control guidelines. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1), 183-190. [CrossRef]



12. Akova M. (2008). Sulbactam-containing  $\beta$ -lactamase inhibitor combinations. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 185-188. [\[CrossRef\]](#)
13. Nakae T., Saito K., Nakajima, A. (2000). Effect of sulbactam on anti-pseudomonal activity of  $\beta$ -lactam antibiotics in cells producing various levels of the MexAB-OprM efflux pump and  $\beta$ -lactamase. *Microbiology and immunology*, 44(12), 997-1001.
14. Sardushkin, M.V., Shiryaeva, Y.K., Donskaya, L., Vifor, R. (2020). Colloid-Chemical and Antimicrobial Properties of Ribavirin Aqueous Solutions. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(12), 2050-2053.
15. Sanders, J.M., Monogue, M.L., Jodlowski, T.Z., Cutrell, J.B. (2020). Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *Jama*, 323(18), 1824-1836. [\[CrossRef\]](#)
16. Kadam, R.U., Wilson, I.A. (2017). Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(2), 206-214. [\[CrossRef\]](#)
17. ISO [2006] ISO 20776-1 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices - Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
18. Hashemi, A.B., Nakhaei Moghaddam, M., Forghanifard, M.M., Yousefi, E. (2021). Detection of blaOXA-10 and blaOXA-48 Genes in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates by Multiplex PCR. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 9(3), 142-147.
19. Verma, N., Prahraj, A., Mishra, B., Behera, B., Gupta, K. (2019). Detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* by phenotypic and genotypic methods in a tertiary care hospital of East India. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(04), 287-291. [\[CrossRef\]](#)
20. Timurkaynak, F., Can, F., Azap, Ö. K., Demirbilek, M., Arslan, H., Karaman, S.Ö. (2006). *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. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(3), 224-228. [\[CrossRef\]](#)
21. Sasidharan, N.K., Sreekala, S.R., Jacob, J., Nambisan, B. (2014). *In vitro* synergistic effect of curcumin in combination with third generation cephalosporins against bacteria associated with infectious diarrhea. *BioMed Research International*, 2014, 561456. [\[CrossRef\]](#)
22. Witzany, C., Bonhoeffer, S., Rolff, J. (2020). Is antimicrobial resistance evolution accelerating? *PLoS pathogens*, 16(10), e1008905. [\[CrossRef\]](#)
23. Czaplewski, L., Bax, R., Clokie, M., Dawson, M., Fairhead, H., Fischetti, V.A., Silverman, J., Hutchings, M.L., Truman, A.W., Wilkinson, B. (2019). Alternatives to antibiotics—a pipeline portfolio Antibiotics: Past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51, 72-80.
24. Dickey, S.W., Cheung, G.Y., Otto, M. (2017). Different drugs for bad bugs: Antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(7), 457-471. [\[CrossRef\]](#)
25. Nadeem, S.F., Gohar, U.F., Tahir, S.F., Mukhtar, H., Pornpukdeewattana, S., Nukthamna, P., Massa, S. (2020). Antimicrobial resistance: More than 70 years of war between humans and bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 46(5), 578-599. [\[CrossRef\]](#)
26. Tagliabue, A., Rappuoli, R. (2018). Changing priorities in vaccinology: Antibiotic resistance moving to the top. *Frontiers in Immunology*, 9, 1068. [\[CrossRef\]](#)
27. Lu, L., Li, M., Yi, G., Liao, L., Cheng, Q., Zhu, J., Zeng, M. (2021). Screening strategies for quorum sensing inhibitors in combating bacterial infection. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(1), 1-14. [\[CrossRef\]](#)
28. Kalia, V.C., Purohit, H.J. (2011). Quenching the quorum sensing system: Potential antibacterial drug targets. *Critical Reviews in Microbiology*, 37(2), 121-140. [\[CrossRef\]](#)
29. Zhao, K., Li, W., Li, J., Ma, T., Wang, K., Yuan, Y., Zhou, X. (2019). TesG is a type I secretion effector of *Pseudomonas aeruginosa* that suppresses the host immune response during chronic infection. *Nature Microbiology*, 4(3), 459-469. [\[CrossRef\]](#)
30. Kumar, L., Brenner, N., Brice, J., Klein-Seetharaman, J., Sarkar, S.K. (2021). Cephalosporins interfere with quorum sensing and improve the ability of *Caenorhabditis elegans* to survive *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Frontiers in Microbiology*, 12, 598498. [\[CrossRef\]](#)
31. Yuan, Y., Yang, X., Zeng, Q., Li, H., Fu, R., Du, L., Zhao, K. (2022). Repurposing Dimetridazole and Ribavirin to disarm *Pseudomonas aeruginosa* virulence by targeting the quorum sensing system. *Frontiers in Microbiology*, 13, 978502. [\[CrossRef\]](#)
32. Fleitas Martínez, O., Cardoso, M.H., Ribeiro, S.M., Franco, O.L. (2019). Recent advances in anti-virulence therapeutic strategies with a focus on dismantling bacterial membrane microdomains, toxin neutralization, quorum-sensing interference and biofilm inhibition. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9, 74. [\[CrossRef\]](#)

33. Di Bonaventura, G., Lupetti, V., De Fabritiis, S., Piccirilli, A., Porreca, A., Di Nicola, M., Pompilio, A. (2022). Giving drugs a second chance: antibacterial and antibiofilm effects of ciclopirox and ribavirin against cystic fibrosis *Pseudomonas aeruginosa* strains. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5029. [[CrossRef](#)]
34. She, P., Wang, Y., Luo, Z., Chen, L., Tan, R., Wang, Y., Wu, Y. (2018). Meloxicam inhibits biofilm formation and enhances antimicrobial agents efficacy by *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology Open*, 7(1), e00545. [[CrossRef](#)]
35. Gupta, A.K., Skinner, A.R. (2003). Ciclopirox for the treatment of superficial fungal infections: A review. *International Journal of Dermatology*, 42(S1), 3-9. [[CrossRef](#)]
36. Bergeron, C., Cantin, A.M. (2019). Cystic fibrosis: Pathophysiology of lung disease. In *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* Thieme Medical Publishers, 40(06), 715-726. [[CrossRef](#)]
37. Chmiel, J.F., Berger, M., Konstan, M.W. (2002). The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 23(1), 5-27. [[CrossRef](#)]
38. Leneva, I.A., Falynskova, I.N., Leonova, E I., Fedyakina, I.T., Makhmudova, N.R., Osipova, E.A., Zverev, V.V. (2014). Umifenovir (Arbidol) efficacy in experimental mixed viral and bacterial pneumonia of mice. *Антибиотики и химиотерапия*, 59(9-10), 17-24.
39. McCullers, J.A. (2011). Preventing and treating secondary bacterial infections with antiviral agents. *Antiviral Therapy*, 16(2), 123-135. [[CrossRef](#)]
40. Noguchi, J.K., Gill, M.A. (1988). Sulbactam: A beta-lactamase inhibitor. *Clinical Pharmacy*, 7(1), 37-51.