

DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* SUŞLARININ DİRENÇ MEKANİZMALARI VE TEDAVİ SEÇENEKLERİ

RESISTANCE MECHANISMS AND TREATMENT OPTIONS IN MULTIPLE DRUG RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS

Öğr. Gör. Dr. Bashar İBRAHİM 

Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Isparta, Türkiye

Mehdi MESKINI HEYDARLOU 

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Eskişehir, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 22.07.2020
Kabul Tarihi / Accepted: 23.09.2020

Derleme Makalesi/Review Article
DOI: 10.38065/euroasiaorg.229

ÖZET

Gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar arasında *Pseudomonas aeruginosa* özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda önemli bir etkidir. Yüksek mortalite ile seyir eden enfeksiyonlara sebep olan bu mikroorganizmaya karşı en önemli sorun, dirençli suşların ortaya çıkmasıdır. Kullanılan ilaçların eksikliği ile birlikte antibiyotiklere karşı artan direnç dünya genelinde önemli bir klinik ve halk sağlığı sorunu haline gelmektedir. Bu durum özellikle çoklu ilaca dirençli (MDR), aşırı artmış direnç (XDR) ve tüm ilaçlara dirençli (PDR) olan kökenlerin daha sık görülmesi endişe vericidir. Bu mikroorganizma'nın dış memberan geçirgenlik değişikliği, antibiyotikleri inaktive eden enzimler ve eflux pompaları gibi mekanizmalar sayesinde antimikrobiklere karşı doğal direnç kazanmaktadır. Çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* kökenlerinin tedavisi zordur ve tedaviyi optimize etmek için antibiyotik kombinasyonlarının yanı sıra farmakokinetik ve farmakodinamik parametrelerin analizi de gözden geçirilmesi gerekmektedir. Bu derlemede, laboratuvar ve klinikte görülen başlıca direnç mekanizmaları özetlenmesi amaçlanmaktadır. Ek olarak klinikte kullanılan terapötik ajanların sınırlı olması nedeniyle potansiyel alternatif ilaçlar ve yeni terapötik seçeneklerin de tartışılması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas aeruginosa*, Çoğul direnç, Direnç mekanizmaları

ABSTRACT

Among the infections caused by Gram-negative bacteria, *Pseudomonas aeruginosa* is an important factor, especially in immunocompromised patients. The most important problem against this microorganism that causes infections with high mortality is the emergence of resistant strains. The increasing resistance to antibiotics with the lack of drugs used is an important clinical and public health problem worldwide. This is particularly alarming with multiple drug-resistant (MDR) excessively increased resistance (XDR) and all drug-resistant (PDR) origins more common. This microorganism gains natural resistance to antimicrobials thanks to mechanisms such as external permeability changes, enzymes that inactivate antibiotics and efflux pumps. Multidrug-resistant *P. aeruginosa* strains are difficult to treat and analysis of pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters as well as antibiotic combinations needs to be reviewed to optimize treatment. In this review, it is aimed to summarize the main resistance mechanisms that appear in the laboratory and clinic. Additionally, due to the limited therapeutic agents used in the clinic, it is aimed to discuss potential alternative drugs and new therapeutic options.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*. Multi Drug Resistance. Resistance mechanisms

1. GİRİŞ

Pseudomonas aeruginosa nozokomiyal ve ventilator ile ilişkili enfeksiyonlara neden olan fırsatçı patojen olarak kabul edilmektedir. Nadiren sağlıklı bireylerde enfeksiyonlara neden olmaktadır ancak kistik fibrozisli hastalar ve bağımsızlığı baskılanmış bireylerde yüksek morbidite ve mortalite oranları ile seyretmektedir (Kollef, 2013; Pang, Raudonis, Glick, Lin, & Cheng, 2019; Potron, Poirel, & Nordmann, 2015; Sadikot, Blackwell, Christman, & Prince, 2005). Minimum koşullarda üreyebilmesi, çeşitli virulans faktörlerinin bulunmasının yanı sıra, geliştirdiği direnç mekanizmaları gibi özellikleri nedeniyle önemli bir enfeksiyon etkenidir (Yalçın, 2000). Çoğul direnli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının yetersiz tedavisi küresel olarak önemli bir sorun teşkil etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2017’de yapılan çalışmaların sonucunda yayımlanan rapora göre yeni antibiyotiklere acil olarak ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Horcajada et al., 2019; Tacconelli et al., 2018). *P. aeruginosa* kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde antibiyotiklere karşı dirençli suşların ortaya çıkması ve yayılmasının bazı önemli nedenleri bulunmaktadır. Bu nedenler sağlık merkezlerinde personelin ve immun yetmezliği olan bireylerin enfeksiyonlara maruz kalmaları, etkenin kolay üreyebilme yeteneği, ürettiği β -laktamaz enzimleri, diğer patojenlere göre kimyasal dezenfektanlara karşı daha dirençli olmaları, in vivo olarak antimikrobiyal direnç edinilmesi ve mikroorganizmanın hem doğal direnci hem de edinilmiş direnç kabiliyetleri gibi nedenler sayılabilir. Bu sebeple yüksek riskli klonlar dünya çapında önemli sorun olarak karşımıza daha sık olarak çıkmaktadır (Oliver, Mulet, López-Causapé, & Juan, 2015; Poole, 2011).

Günümüzde çoğul dirençli *P. aeruginosa* suşlarının yaygınlığı farklı bölgelerde %15-30 arasında olduğu raporlanırken kullanılan tüm antimikrobiyal gruplar için %10’dan daha fazla direnç oranları bildirilmektedir (Oliver et al., 2015; Prevention & Control, 2015; Sader, Castanheira, Duncan, & Flamm, 2018). *P. aeruginosa* suşları arasında kombine direncin sık olduğu bilinmektedir. Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) tarafından 2015 yılında *P. aeruginosa* izolatlarının %13,7’sinin en az üç antimikrobiyal gruba ve %5,5’inin en az beş antimikrobiyal gruba karşı dirençli olduğunu belirtmiştir (Prevention & Control, 2015). *P. aeruginosa*’da çoklu ilaç direnci intrensek veya edinilmiş direnç şeklindedir. Bu nedenle sorunu kontrol altına almak için yeni antimikrobiyallerin geliştirilmesi ve şu anda mevcut olan antimikrobiyal maddelerin kullanımını optimize etmek ihtiyacı duyulmaktadır. Bu derlemede, *P. aeruginosa*’daki direnç mekanizmaları ve yeni terapötik seçenekler olarak mevcut bilgiler ışığında gözden geçirilmektedir.

2. GENEL ÖZELLİKLERİ

Pseudomonas cinsi çoğu saprofit olan 140’tan fazla tür içermektedir. Bunların 25’inden fazlası insanla ilişkilidir. İnsanlarda hastalığa neden olan *Pseudomonas* türlerinin çoğu fırsatçı enfeksiyonlarla neden olduğu bilinmektedir. *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia*, *P. stutzeri*, *P. maltophilia* ve *P. putrefaciens* bilinen bazı türlerdir. *P. aeruginosa* klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas*’ların yaklaşık % 80’ini oluşturmaktadır. *Pseudomonas*’lar biyokimyasal ve DNA hibridizasyon testleri ile birbirinden ayırt edilmektedir. Klinikte *P. aeruginosa*’yı non-*aeruginosa pseudomonas*’lardan ayırmak için farklı şekerlerin oksidasyon testleri sonucuna göre ayırım yapılmaktadır (*P.aeruginosa* glikoz ve ksilozu okside ederken ancak maltozu okside edemez).

P. aeruginosa karakteristik olarak suda çözünür pigmentli, gram-negatif, basil şeklinde, hareketli bir bakteri olup ürettiği piyosyanin (mavi-yeşil), pyoverdin (sarı-yeşil) ve piyorubin (kırmızı-kahverengi) floresan veren bilinen pigmentleridir. Genellikle nemli ortamlarda serbest olarak bulunur ancak aynı zamanda bitki, hayvan ve insan patojenidir (Kirienko et al., 2013; Roy et al., 2010).

P. aeruginosa üreme için minimum gereksinime sahiptir. Rutin mikrobiyolojik genel kullanım besiyerlerinde kolaylıkla ürerler. Laboratuvar kuşullarında üremesi için asgari ihtiyacı olan karbon kaynağı için asetat ve azot kaynağı için ise amonyum sülfattan oluşmaktadır. *P. aeruginosa*’nın optimum



ısı ihtiyacı 37°C'dir ve 42°C kadar üreyebilir. Isı ve değişik fiziki koşullara dayanaklıdır. Tuz ve boya, zayıf antiseptikler ve birçok yaygın olarak kullanılan antibiyotiklere karşı dirençlidir (Garrity, Bell, & Lilburn, 2004; Yabuuchi et al., 1992).

3. DOĞAL (İNTRENSİK) ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Bakterilerin yapısal veya fonksiyonel özellikleri yoluyla spesifik bir antibiyotik madenin etkinliğini azaltma yeteneğine denilmektedir (Blair, Webber, Baylay, Ogbolu, & Piddock, 2015). *P. aeruginosa*'a kısmi dış membran geçirgenliği, antibiyotikleri hücre içerisinden dışarı pompalayan efflux sistemleri ve β -laktam antibiyotikleri inaktive eden β -laktamaz enzimlerin üretimi gibi mekanizmalarla antibiyotiklere karşı yüksek intrensik dirence sahiptir (Breidenstein, de la Fuente-Núñez, & Hancock, 2011).

3. 1. Dış membran geçirgenliği

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisi için kullanılan çoğu antibiyotik intrasellüler hedeflere ulaşmak için mikroorganizmanın hücre zarını geçmeleri gerekmektedir (Lambert, 2002). Örneğin tobramisin, gentamisin ve amikasin gibi aminoglikozit sınıfı antibiyotikler ribozomal 30S alt ünitesine bağlanarak bakterinin protein sentezini inhibe etmektedir (MP, 1999). Siprofloksasin ve levofloksasin gibi kinolon gurubu antibiyotikler ise DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimleri inhibe ederek DNA replikasyonu bozarlar (Aldred, Kerns, & Osherooff, 2014) Penisilin, sefalosporin, karbapenem ve monobaktam gibi β -laktam antibiyotikler ise moleküler yapılarında β laktam halkası içerirler. Bu antibiyotik sınıfı peptidoglikan tabaka sentezinde görevli enzim olan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak bakteri hücre duvarı biyosentezini inhibe ederler (Srikumar, Li, & Poole, 1997). Polimiksinler Gram negatif bakterilerin lipopolisakaritlerine bağlanarak hücre membranının permabilite değişikliği nedeniyle antibiyotik maddenin bakteri hücre içine nüfuz etmesi sonucu etki gösterirler. Polimiksinler polipeptid yapıda antibiyotiklerdir. Polimiksin B ve polimiksin E, klinikte kullanılan polimiksindir. Hidroksil radikalleri vasıtasıyla hücre ölüm yollarını uyararak bakteri ölümüne sebep olurlar (Zavascki, Goldani, Li, & Nation, 2007). Bakteri hücrelerine geçiş için β -laktamlar ve kinolonlar porin kanallarını kullanarak hücre içine nüfuz ederken, aminoglikozitler ve polimiksinler Gram-negatif bakterilerin dış zarındaki LPS tabakası ile etkileşerek hücre içersine girerler (Lambert, 2002).

P. aeruginosa gibi Gram-negatif bakterilerde antibiyotik girişini önlemek için seçici bir bariyer görevi yapan dış membrane porin kanalları gömülü fosfolipid ve LPS'den oluşmaktadır (Delcour, 2009). Genel olarak porin ailesi dört sınıfa ayrılır: Birinci sınıf küçük ve hidrofilik olan moleküllerin genellikle yavaş difüzyonuna izin veren spesifik olmayan porinler; İkinci sınıf spesifik molekül grubuna bağlamak için spesifik domaine sahip spesifik porinler; Üçüncü sınıf iyon alımından sorumlu dış zar proteinleri olan geçişli porinler; Dördüncü sınıf ise efflux pompalarının önemli bileşenleri olan efflux porinleridir (Hancock & Brinkman, 2002; Welte, Nestel, Wacker, & Diederichs, 1995). *P. aeruginosa*'da, OprF proteini en çok bulunan ve spesifik olmayan porindir. OprB, OprD, OprE, OprO ve OprP spesifik olan porinlerdir ve OprC ve OprH geçişli porin sınıfına aittir. efflux pompaları OprM, OprN ve OprJ sınıfı porinleri içerir (Hancock & Brinkman, 2002).

P. aeruginosa'nın dış membran geçirgenliği son derece kısıtlıdır ve *E. coli*'ye kıyasla 12-100 kat daha düşüktür (Bellido, Martin, Siehnel, & Hancock, 1992; Hancock & Brinkman, 2002). *E. coli* dış membran protein A'nın (OmpA) bir homologu olan OprF *P. aeruginosa*'nın baskın porinidir. İyonların ve sakaritlerin alımından sorumludur ancak antibiyotik geçirgenliği azdır (Bellido et al., 1992; X.-Z. Li & Nikaido, 2009). Kapalı olan domain, OprF kanallarının dominant yapısıdır ve OprF'nin sadece % 5'inden azı açık kanallardan oluşmaktadır (Sugawara, Nestorovich, Bezrukov, & Nikaido, 2006). Çoğunlukla kapalı OprF kanallarının varlığı, *P. aeruginosa*'nın dış membran geçirgenliğinin neden diğer bakterilerden daha düşük olduğunu açıklamaktadır. Ek olarak, *P. aeruginosa*'da OprF'nin varlığı



biyofilm yapımının artmasına sebep olur ve bu artış siklik di guanosin monofosfatın (c-di-GMP) artmasıyla ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Bouffartigues et al., 2015).

Yukarıda belirtildiği gibi, karbonhidratlara özgü OprB, temel amino asidlere özgü OprD, fosfata özgü OprP ve pirofosfata özgü OprO porinlere sahiptir (Hancock & Brinkman, 2002). Porinler arasında OprD antibiyotikleri bakteri hücre içine alımında önemli role sahiptir. Ayrıca β -laktam antibiyotik sınıfı olan karbapenemler için bağlanma yerlerine sahiptirler ve OprD'nin olmaması, bu antibiyotik sınıfına direnci artırır (H. Li, Luo, Williams, Blackwell, & Xie, 2012).

OprH en küçük *P. aeruginosa* porinidir ve Mg^{2+} azlığının neticesinde OprH aşırı eksprese edildiği bilinmektedir. Bu porinin aşırı ekspersiyonu LPS modifikasyonunu indükleyerek dış membranı değiştirir ve polimiksin B ve gentamisine karşı artan dirence neden olur (Bell, Bains, & Hancock, 1991; Macfarlane, Kwasnicka, Ochs, & Hancock, 1999).

3. 2. Efflux sistemleri

Bakteri efflux pompaları toksik maddelerin hücre dışına atılımında önemli bir role sahiptir. Bu pompalar beş aile olarak sınıflandırılır: rsistance-nodulation-division (RND) familyası, major facilitator super familyası (MFS), ATP-binding cassette (ABC) super familyası, small multidrug resistance (SMR) familyası ve multidrug and toxic compound extrusion (MATE) familyası gibi çeşitli MDR pompa aileleri tanımlanmıştır (Sun, Deng, & Yan, 2014). Özellikle, RND efflux pompa ailesine ait olan proteinler *P. aeruginosa*'nın antibiyotik direncinde önemli bir role sahiptirler (X.-Z. Li & Nikaido, 2009). Protein yapıda olan pompalar sitoplazmik membran taşıyıcıları, periplazmik bağlayıcı proteinler ve dış membran porin proteinlerinden oluşurlar (Daury et al., 2016). *P. aeruginosa* RND pompalarının sitoplazmik ve periplazmik kısımlarına Mex ve dış membran porine ise bir harfle birlikte Opr adı verilir. *Pseudomonas aeruginosa* dördü MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN ve MexXY OprM olan ve antibiyotik direncine katkıda bulunan on iki RND ailesi efflux pompası eksprese etmektedir (Dreier & Ruggerone, 2015). MexAB-OprM efflux pompaları β -laktamların ve kinolonların geçişinden sorumludur (Dupont, Hocquet, Jeannot, Chavanet, & Plésiat, 2005; Masuda et al., 2000). MexCD-OprJ β -laktamları hücre dışına pompalar (Okamoto, Gotoh, & Nishino, 2002). MexEF-OprN kinolon sınıfı antibiyotikleri bakteri dışına atabilir (Llanes et al., 2011). MexXY-OprM aminoglikozitleri hücre dışına atımında görev yapar (Llanes et al., 2011; Masuda et al., 2000). Efflux pompalarının aşırı ekspresyonu bakterilerin antibiyotik direncine sebep olur ve çoklu ilaç direncine katkıda bulunan bazı *P. aeruginosa* klinik suşlarında bulunmuştur (Cabot et al., 2011; Llanes et al., 2004). Ayrıca efflux pompası inhibitörlerinin kullanımı, *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisi için potansiyel bir terapötik stratejidir (Askoura, Mattawa, Abujamel, & Taher, 2011).

Fenilalanin arginil β -naftilamid (PA β N) sadece efflux pompaların antibiyotik akışını bozmakla kalmayıp aynı zamanda bakterilerin dış membran geçirgenliğini de arttıran bir efflux pompası inhibitörüdür (Lamers, Cavallari, & Burrows, 2013). Bu ajanın bakteri virülansı ve quorum sensing'i azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca *P. aeruginosa*'nın antibiyotiklere karşı duyarlılığını arttırdığını çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Lamers et al., 2013; Rampioni et al., 2017).

3.3. Antibiyotikleri inaktive eden enzimler

Antibiyotikleri parçalayan veya yapılarını bozan antibiyotik inaktive edici enzimlerin üretimi bakterilerdeki doğal direnç mekanizmalarından biridir. Birçok β -laktam ve aminoglikozit gibi antibiyotikleri modifiye eden enzimler *P. aeruginosa* tarafından yaygın olarak üretilmektedir. Antibiyotikleri inaktiv eden enzimler hidroliz olabilen amidler ve esterler gibi kimyasal bağlara etki ederler.

Diğer Gram-negatif bakteriler gibi *P. aeruginosa* da hidrolitik β -laktamaz enzimini kodlayan indüklenebilir bir *ampC* genine sahiptir. Bu enzim β -laktam halkasının amid bağı kırarak β -laktam

antibiyotiklerin inaktivasyonuna yol açar (Wright, 2005). Ayrıca, β -laktamazlar amino asit sekanslarına göre A, B, C ve D sınıfa ayrılırlar. A, C ve D enzimler β -laktamaları serin yoluyla hidroliz ederler. Aksine B gurubu β -laktamazlar, β -laktam antibiyotikleri hidroliz etmek için iki değerli çinko iyonlarına ihtiyaç duyan metalo enzimlerdir (Bush & Jacoby, 2010). *P. aeruginosa* tarafından üretilen C sınıfı, β -laktam gurubu antibiyotiklerden olan antipseudomonal sefalosporinleri inhibe ettiği gösterilmiştir (Berrazeg et al., 2015). Bazı *P. aeruginosa* izolatlarının penisilinler, sefalosporinler ve aztreonam dahil olmak üzere β -laktam antibiyotiklerin çoğuna yüksek derecede direnç sağlayan genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (ESBL) ürettiği bilinmektedir (Paterson & Bonomo, 2005; Rawat & Nair, 2010). ESBL'ler ağırlıklı olarak A sınıfındadır, ancak oksasilini hidrolize etme yetenekleri olduğu için adlandırılan OXA tipi ESBL'ler D sınıfındadır ve ilk olarak *P. aeruginosa* izolatlarında bulunmuştur (Rawat & Nair, 2010). β -laktamaz direncin üstesinden gelmek için klinik uygulamada klavulanat, sulbaktam ve tazobaktam gibi β -laktamaz inhibitörleri kullanılmaktadır. Komine tedavilerde ise β -laktamaz inhibitörleri etkinliği büyük ölçüde arttırdığı bilinmektedir (Drawz, Papp-Wallace, & Bonomo, 2014).

Glikozid bağlarla amino şekerlere bağlanan aminosiklitol halka içeren aminoglikozitler *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan antibiyotik grubudur (Ratjen, Brockhaus, & Angyalosi, 2009). *P. aeruginosa*'daki aminoglikozit direnci azalmış hücre zarı geçirgenliği, artmış akış, ribozomal değişiklikler ve enzim modifikasyonu gibi birçok faktörden kaynaklanmaktadır. Bu mekanizmalar arasında, aminoglikozit moleküler yapısındaki amino ve glikozit gruplarının enzimatik modifikasyonu bu antibiyotik sınıfına dirençte baskın bir rol oynamaktadır (Ratjen et al., 2009). Bakterilerde üç tip aminoglikozit modifiye edici enzim bulunmaktadır: aminoglikozit fosfotransferaz (APH), aminoglikozit asetiltransferaz (AAC) ve aminoglikozit nükleotidiltransferaz (ANT) (Ramirez & Tolmasky, 2010). *P. aeruginosa* aminoglikozit fosfotransferaz sayesinde bir fosfor grubunu kanamisin, neomisin ve streptomisin gibi antibiyotiklerin 3'-hidroksil aminoglikozitlere eklediği ve böylece bu antibiyotikleri inaktive ettiği bulunmuştur (Hächler, Santanam, & Kayser, 1996; Hainrichson et al., 2007) *P. aeruginosa*'nın aminoglikozit asetiltransferaz'lerinin, gentamisin, tobramisin, netilmisin, kanamisin ve amikasinin inaktivasyonundan sorumlu aminoglikozitlerin 3. ve 6. pozisyonlarındaki amino grubuna bir asetil grubunu eklediği ve dirence sebep olduğu anlaşılmıştır (Poole, 2005). Gentamisin, amikasin ve tobramisine direnç ise, bir adenilil grubunu bu aminoglikozitlerin amino veya hidroksil grubuna ekleyen aminoglikozit nükleotidiltransferaz enzimleri ile sağlanmaktadır (Jacoby et al., 1990; Subedi, Vijay, & Willcox, 2018).

4. EDİNİLMİŞ ANTİBİYOTİK DİRENCİ

Bakterilerde mutasyon sonucunda meydana gelen değişikliklere bağlı antibiyotiklere karşı direnç kazanabilirler veya yatay gen transferi yoluyla direnç genlerini elde edebilirler (Munita & Arias, 2016). *P. aeruginosa*'nın yüksek düzeyde intrensik dirence ek olarak edinilmiş direnç bu mikroorganizmanın tedavisini zorlaştıran ve daha fazla kronik enfeksiyonlara sebep olan dirençli suşların gelişimine katkıda bulunur (Henrichfreise, Wiegand, Pfister, & Wiedemann, 2007).

4.1. Mutasyon yoluyla direnç

Mutasyonlara bağlı değişiklikler antibiyotik alımının azalmasına, antibiyotik hedeflerinde değişikliklere, efflux pompalarının ve antibiyotik inaktive edici enzimlerin aşırı ekspresyonuna neden olabilir; bu değişikliklerin hepsi bakterilerin antimikrobiyal moleküllerin varlığında yaşamlarını kolaylaştırır (Munita & Arias, 2016).

Porinler membranlar içinde belli boyutta olan hidrofilik antibiyotiklerin difüzyonuna aracılık eden küçük su dolu kanallardır (Welte et al., 1995). Spontan mutasyonlar belirli bir porin ekspresyonunu veya fonksiyonunu etkileyerek böylece bakteri membran geçirgenliğini azaltarak antibiyotik direnç artışına neden olurlar (Fernández & Hancock, 2012). Örneğin, *P. aeruginosa*'da OprD eksikliği olan suşlar



karbapenemlere özellikle imipeneme karşı yüksek direnç gösterirler (Fang et al., 2014). Çin’de yapılan 61 imipenem dirençli *P. aeruginosa* klinik izolatın analiz sonucu 50 izolatın deforme OprD ile sonuçlanan mutasyonlara sahip olduğunu ve 5 izolata ise permeabilite azalması tespit edilememiştir. Oysa 6 izolatta OprD, tespit edilemedi. Ayrıca diğer fonksiyonel bir çalışma OprD proteininde bulunan 2 ve 3 kıvrımları imipenem için giriş veya bağlanma bölgeleri içerdiğini göstermiştir. Bu nedenle OprD'nin 2 veya 3 kıvrımlarında oluşan mutasyonlar yapısal değişikliklere ve indüklenmiş karbapenem direncine neden olduğu düşünülmektedir (Ochs, Bains, & Hancock, 2000).

Daha önce de belirtildiği gibi toksik bileşiklerin hücre içi birikimini önlemek için bakteriler toksik molekülleri hücrelerden dışarı pompalamak amacıyla enerjiye bağımlı efflux sistemleri kullanırlar (Sun et al., 2014). Bu nedenle, aşırı eksprese olmuş efflux pompalarına sahip olan *P.aeruginosa* klinik izolatları antibiyotiklere duyarlılıkları azaldığı gösterilmiştir (Cabot et al., 2011; Cabot et al., 2016). Örneğin, transkripsiyonel regülatörler olan *mexR*, *nalB* *nalC* veya *nalD* mutasyonlarının sonucu olarak ortaya çıkan *P. aeruginosa* MexAB-OprM'nin aşırı ekspresyonu, bakterinin β -laktamlar ve florokinolonlara karşı artmış dirence neden olmaktadır (Braz, Furlan, Fernandes, & Stehling, 2016; Saito, Yoneyama, & Nakae, 1999). MexZ geninin mutasyon sonucu indüklenen MexXY-OprM'nin aşırı ekspresyonu *P. aeruginosa* klinik izolatlarda aminoglikozit, β -laktam ve florokinolon grupları antibiyotiklere karşı artan dirence neden olmaktadır (Baum et al., 2009; Guénard et al., 2014; Hocquet, Nordmann, El Garch, Cabanne, & Plésiat, 2006). Transkripsiyonel bir regülatörü kodlayan *nfxB* genindeki mutasyonlara sahip *P. aeruginosa* suşları MexCD OprJ'yi aşırı eksprese ederek β -laktam alt ailesi, florokinolonlar ve karbapenem antibiyotiklere direnç gösterirler (Okamoto et al., 2002).

Antibakteriyellerin bağlanma hedeflerine yönelik engelleme bakteriler tarafından antibiyotiklerin antimikrobiyal etkisini önlemek için kullanılan yaygın bir stratejidir ve hedeflerin korunması, hedef bölgelerin modifikasyonları ile gerçekleştirilir (Munita & Arias, 2016). Bu nedenle, *P. aeruginosa*'daki hedef bölgelerin mutasyon modifikasyonları da antibiyotik direncine katkıda bulunur. En iyi bilinen örneklerden biri kinolonların hedef bölgelerinin modifikasyonudur. Yukarıda belirtildiği gibi, kinolon antibiyotikler DNA girazı ve topoizomeraz IV'ü hedefleyerek bakteri DNA replikasyonunu inhibe ederler (Aldred et al., 2014). Böylece DNA girazı (*gyrA* ve *gyrB*) veya topoizomeraz IV'ü (*parC* ve *parE*) kodlayan genlerdeki mutasyonlara bağlı üretilen proteinlerin kinolonlara bağlanma afinitesinin azalması sonucu *P. aeruginosa*'da kinolonlara karşı dirence neden olur (Bruchmann, Dötsch, Nouri, Chaberny, & Häussler, 2013). Ribozomal mutasyonlara sahip *P. aeruginosa* suşlarının aminoglikozitlere karşı yüksek düzeyde direnç geliştirdiği gösterilmiştir, çünkü bu antibiyotik grubu 30S ribozomal alt birimini hedefleyerek protein translasyonunu inhibe ederek etki gösterirler (El'Garch, Jeannot, Hocquet, Llanes-Barakat, & Plésiat, 2007). *P. aeruginosa*'da penisilin bağlayıcı proteinlerin modifikasyonunun β -laktam antibiyotiklere karşı direnci arttırdığı bilinmektedir (Moyá et al., 2012). *P. aeruginosa*'daki polimiksin direncinin, lipid A kısmında bulunan fosfat gruplarına 4 amino-L-arabinoz (L-Ara4N) ilavesiyle polimiksin bağlayıcı ortak LPS'nin modifikasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (Boll, Radziejewska-Lebrecht, Warth, Krajewska-Pietrasik, & Mayer, 1994). Ek olarak, PhoPQ ve PmrAB'nin düzenleyici sistemlerindeki mutasyonlar lipid A'ya aminoarabinoz bağlanmasını arttırdığı ve polimiksine karşı direnç artmasına yol açmaktadır (Miller et al., 2011; Moskowitz, Ernst, & Miller, 2004).

P. aeruginosa'da antibiyotik inaktive edici enzimlerin aşırı ekspresyonuna neden olan mutasyon, kazanılmış direncin diğer mekanizmasıdır (Munita & Arias, 2016). Bazı *P. aeruginosa* klinik izolatları, sefalosporinlere karşı direnci arttıran indüklenebilir β laktamazların aşırı üretimine sahiptir. Bu enzimler *ampC* geninde meydana gelen mutasyonların sonucu üretildiği bilinmektedir (Berrazeg et al., 2015) Ek olarak bir sitosolik N-asetil-anhidromuramil-l-alanin amidazı kodlayan ve *ampC* ekspresyonunun inhibitörü olarak görev yapan *ampD* genindeki inaktive edici mutasyonlar β laktamazların yüksek üretimi ile sonuçlanır (Juan et al., 2005).



4.2. Direnç genlerinin elde edilmesi

Antibiyotik direnç genleri plazmidler, transpozonlar, integronlar ve fajlar üzerinde taşınabilir. Bakteriler bu genleri aynı veya farklı bakteri türlerinden yatay gen transferi aracılığıyla elde edebilirler (Breidenstein et al., 2011). Integronlar bölgeye özgü rekombinasyon vasıtasıyla mobil gen kasetlerini belirli bir genetik bölgeye yerleştiren genetik elementlerdir (Hall & Collis, 1995) ve *P. aeruginosa* suşları arasında antibiyotik direncinin yayılmasında önemli oldukları bilinmektedir (Chen et al., 2009; Khosravi, Motahar, & Montazeri, 2017). Yatay gen transferinin önemli mekanizmaları transformasyon, transdüksiyon ve konjugasyondur (Arber, 2014). Aminoglikozit ve β -laktam direnç genlerinin aktarılması *P. aeruginosa* köknlerinde tanımlanmıştır (Cavalcanti et al., 2015). Örneğin, imipenemaz (IMP) çoğu β -laktam bazlı antibiyotikleri hidrolize eden B sınıfı β -laktamazlara ait olan altı tip *P. aeruginosa* metalo-beta-laktamaz (MBL) tanımlanmıştır. Bunlar verona integron ile kodlanmış metallo- β -laktamaz (VIM), Sao Paulo metallo- β -laktamaz (SPM), Almanya imipenemaz (GIM), Yeni Delhi metallo- β -laktamaz (NDM) ve Floransa imipenemaz (FIM) olarak isimlendirilmektedir (Hong et al., 2015). Bu *P. aeruginosa* MBL'lerin üretimi için gerekli genlerin integronlar ve plazmidler gibi genetik elementler tarafından taşındığı bilinmektedir (Bonomo & Szabo, 2006; Cavalcanti et al., 2015). Ek olarak, tek bir integronda çoklu antibiyotik direnç genleri taşınabilir. *P. aeruginosa* klinik izolatlarının sınıf I integronlarında sırasıyla karbapenem hidrolize edici β laktamaz VIM-2 gen kaseti ve iki yeni aminoglikozit direnç geni olan *aacA29a* ve *aacA29b* tanımlanmıştır (Poirel et al., 2001).

5. ADAPTİF ANTİBİYOTİK DİRENÇ

Adaptif direnç, bir bakterinin hayatta kalma kabiliyetini artırır. Gen veya proteinde geçici değişikliklere bağlı antibiyotik atımı bir çevresel uyarıya tepki olarak ifade edilir ve uyarı olmadığında geri dönüşümlüdür (Sandoval-Motta & Aldana, 2016). *P. aeruginosa*'da, adaptif direncin en iyi karakterize edilmiş mekanizmaları, biyofilm oluşumu ve persister hücrelerin üretilmesidir. Bu durum kistik fibrozisli hastalarda persistant enfeksiyon ve kötü prognoz ile sonuçlanır (Taylor, Yeung, & Hancock, 2014).

6. KLİNİK ÖNEM

P. aeruginosa hastane ortamında solunum cihazları, antiseptikler, lavabolar, paspaslar, ilaçlar, fizyoterapi ve hidroterapi havuzları gibi çeşitli kaynaklardan izole edilmektedir. Bununla birlikte, özellikle mekanik ventilatör, trakeostomi, kateterler, cerrahi veya ciddi yanıklarla kutanöz, mukozal bariyerlerde travması olan hastalar arasında kolonizasyon oranları %50'yi aşmaktadır (Lister, Wolter, & Hanson, 2009). *P. aeruginosa* enfeksiyonu üç aşamada kolonizasyon, invazyon ve sistemik yayılım şeklinde seyretmektedir. Cilt ve mukoza yüzeylerine kolonize olan bakterilerin yayılımında virülans faktörleri, konağın immün direnci ve anatomik bariyerler önemli rol oynamaktadır (Bergogne-Berezin, 2004). *P. aeruginosa* pnömonisinde mortalite sebebi septik şok gelişimi ve çoklu organ yetmezliğidir. Bu durumun sebebi bazı suşların akciğer epitelyumunun nekrozuna neden olması ve kan dolaşımına geçebilme yeteneğine bağlanmaktadır (Sawa, 2014). Klinik smptomların bebek ve çocuklarda daha ağır seyrettiği ve ölümcül olduğu rapor edilmektedir (16).

7. TEDAVİDE KULLANILAN ANTİBİYOTİKLER

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisi genel olarak zor ve komplikedir. Bu bakteri birçok ilaç grubuna doğal olarak dirençlidir ve tüm etkili antibiyotiklere tedavi esnasında da direnç kazanabilir. Terapötik olarak kullanılan antibiyotikler çoğunlukla aminoglikozidler, karbapenemler, antipseudomonal penisilinler, kinolonlar ve sefalosporinlerdir (Corehtash, Ahmad Khorshidi, Akbari, & Aznavah, 2015).



P. aeruginosa enfeksiyonlarında ciddi yan etkileri bulunan eski antibiyotiklerden polimiksin E (kolistin) de kullanılmaktadır. Kombine tedavi olarak kullanılan anti-antipseudomonal β -laktamlar ile aminoglikozid ya da florokinolonlar tercih edilen seçeneklerdir (Dundar & Otkun, 2010; Gellatly & Hancock, 2013; Wang et al., 2016).

Antibiyotik kombinasyonların kullanılmasıyla, dirençli suşların oluşmasının engellenmesi ve sinerjik etki elde edilmesi amaçlanmaktadır. Kombine sinerjik etki oluştuğunda antibiyotiklerin hepsinin MİK değerinde azalma meydana gelmektedir (Lima, Nascimento, Vitali, & Martinez, 2013).

7. 1. β -laktam antibiyotikler

β -laktam antibiyotikler bakterilerde hücre duvarı sentezinde görevli olan penisilin bağlayan proteinler (PBP)'in transpeptidaz aktivitesini bloke ederek hücre duvarının peptidoglikan tabaka sentezini bozarlar. Peptidoglikan tabakası olmayan mikroorganizma hücre duvarı sentezini tamamlayamaz ve bakteri lizise uğrayarak ölür. β -laktamlar bakterisidal etki gösterirler (Morita, Tomida, & Kawamura, 2014). Bu grupta *P. aeruginosa*'ya etkili olan antimikrobialer arasında; geniş spektrumlu sefalosporinlerden seftazidim (3. kuşak sefalosporin) ve sefepim (4. kuşak sefalosporin) ile birlikte geniş spektrumlu penisilinlerden piperasilin-tazobaktam (β -laktam- β -laktamaz inhibitör kombinasyonu) yer alır (Meletis, Exindari, Vavatsi, Sofianou, & Diza, 2012). Karbapenemler sınıfında bulunan imipenem, meropenem antipseudomonal β -laktamların önemli bir gurubudur. meropenem gram-negatif, imipenem ise gram-pozitif etkinliği kısmen daha fazladır (Lambert, 2002; Morita et al., 2014).

7. 2. Florokinolonlar

Florokinolonlar, özellikle siprofloksasin *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında en sık kullanılan antibiyotiklerden biridir. Florokinolonlar DNA giraz ve topoizomerez IV'e etki ederek DNA replikasyonunu, yani nükleik asit sentezini inhibe ederler (Meletis et al., 2012). Yapılan geniş çaplı sürveyans çalışmalarında *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında artan florokinolon direnci saptanmaktadır (Adabi et al., 2015).

7. 3. Aminoglikozidler

Gentamisin, amikasin, netilmisin, tobramisin, streptomisin aminoglikozid sınıfı antibiyotikler olarak bilinmekte. Bu ajanlar bakterilerin 30S ribozomal alt ünitesine bağlanır ve protein sentezini inhibe ederler. Yanlış translokasyon sonucunda lizis gerçekleşmeden hücre ölümü meydana gelir. (Karadağ, Günel, & Barut, 2013; Meletis et al., 2012) Amikasin, gentamisin, tobramisin antipseudomonal aminoglikozidler olarak *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında kullanılmaktadır (Morita et al., 2014).

7. 4. Polimiksinler

Polimiksinler siklik yapıları katyonik polipeptid antibiyotiklerdendir. Hücre zarında bulunan fosfolipidlere bağlanarak hücre zarının fonksiyonunu bozarlar. Dış membranda bozulma ve permeabilite artışı takibinde bakteride ölüm meydana gelir. Bu ajanlar nefrotoksiktirler ve LPS tabakasında bulunan lipid A molekülüne bağlanarak etki ederler (Karadağ et al., 2013; Meletis et al., 2012).

8. YENİ ANTIPSEUDOMONAL ANTİBİYOTİKLER

P. aeruginosa enfeksiyonlarına karşı geleneksel antibiyotik tedavileri çoklu ilaca dirençli suşların çoğalması nedeniyle giderek etkisiz hale gelmektedir (Chatterjee et al., 2016). *P. aeruginosa* tedavisi için mevcut terapötik seçenekler, farklı antibiyotik kombinasyonlarının kullanılması ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi şarttır (Hancock & Speert, 2000). Yeni antibiyotiklerin *P. aeruginosa* suşlarını yoketmede daha etkili olduğu ve yeni etki mekanizmaları ve bakterilerin enzimler vasıtasıyla

modifikasyona dayanıklı olması nedeniyle mevcut antibiyotiklere kıyasla daha düşük bir direnç gelişimine sahip oldukları gösterilmiştir (Chatterjee et al., 2016).

8.1. Doripenem

Doripenem, penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanarak bakteri hücre duvarı sentezinin inhibisyonu aracılığıyla Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı geniş spektrum aktiviteye sahip yeni bir karbapenem antibiyotiktir; ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından komplike abdominal enfeksiyonlar ve idrar yolu enfeksiyonları için kullanımı onaylanmıştır (Greer, 2008; Paterson & DePestel, 2009). Doripenem B sınıfı metalo- β -laktamazlar hariç birçok β -laktamaz tarafından hidroliz olmaya dirençlidir (Queenan, Shang, Flamm, & Bush, 2010). Önemli olarak, doripenemin kistik fibrozisli hastalarda *P. aeruginosa* izolatlarına karşı in vitro antibakteriyel aktivitesinin meropenem ve imipenem gibi karbapenem antibiyotiklere kıyasla daha etkili olduğu bulunmuştur (Riera et al., 2011). Ayrıca, Doripenem'in etkinliği ventilatör ilişkili pnömonisi olan hastalarda değerlendirilmiştir (Chastre et al., 2008; Luyt et al., 2014). Ventilatör ilişkili pnömonili hastaların klinik faz III çalışması sonucunda doripenem ile tedavi edilen hastaların imipenem ile tedavi edilen hastalara kıyasla daha yüksek kür oranlarına sahip olduğunu bulmuştur (Chastre et al., 2008). Dikkat edilmesi gereken durum ise doripenemin yan etkileri arasında baş ağrısı, bulantı, ishal, döküntü ve tromboflebit bulunmaktadır. (Hilas, Ezzo, & Jodlowski, 2008).

8.2. Plazomisin

Plazomisin doğal ürün olan sisomisin'den sentetik olarak türetilmiş yeni nesil, yarı sentetik bir aminoglikozit gurubu antibiyotiktir (Aggen et al., 2010). Plazomisin geniş bir aminoglikozit modifiye edici enzim spektrumuna dayanabilir. Ancak 16S rRNA metiltransferazlara karşı dayanıksızdır (Cox et al., 2018). Plazomisin hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakteriyel patojenlere karşı güçlü in vitro aktiviteye sahiptir. Çoklu ilaç dirençli *P. aeruginosa* suşlarına karşı amikasine benzer aktivite gösterir (Walkty et al., 2014). Ayrıca yapılan bir çalışmada sefepim, doripenem, imipenem veya piperasilin tazobaktam ile kombine edildiğinde *P. aeruginosa* klinik izolatlarına karşı plazomisinin in vitro sinerjistik aktivitesinin olduğu rapore edilmiştir. Plazomisinin dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının kombine tedavisi için potansiyel terapötik aday olduğu düşünülmektedir (Pankuch et al., 2011). Plazomisin hafif veya orta derecede nefrotoksik ve ototoksik etkilere neden olabilir (Walkty et al., 2014).

8.3. POL7001

Protein epitop mimetik (PEM) molekülleri, *P. aeruginosa*'ya karşı yeni bir antibiyotik sınıfı olarak ortaya çıkmıştır; bazı PEM molekülleri LPS'nin bakteri dış membrana transportunu engeller (Srinivas et al., 2010). POL7001, PEM antibiyotik ailesine ait bir moleküldür. *P. aeruginosa* akut ve kronik pnömonisinin hem in vitro hem de fare modellerinde POL7001'in etkinliğini değerlendirmiştir (Cigana et al., 2016). Kistik fibrozis hastalarından alınan dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının POL7001'e duyarlı olduğunu ve POL7001 ile tedavi edilen farelerin *P. aeruginosa* akut ve kronik enfeksiyonu sırasında akciğerde önemli ölçüde azalmış bakteri yükü ve inflamasyon seviyesinin azaldığı saptanmıştır. Yeni etki mekanizması, etkili pulmoner uygulama ve güçlü in vitro ve in vivo aktivitesi nedeniyle POL7001'in gelecekteki klinik çalışmalar için yeni terapötik ajan olduğu düşünülmektedir. POL7001'in yan etkileri henüz bilinmemektedir.

9. SONUÇ

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisi halen zor ve komplike olmaya devam etmektedir. *P. aeruginosa*'daki antibiyotik direnci doğal, edinilmiş veya uyarlanabilir mekanizmalar vasıtasıyla olmakta ve multifaktörlüdür. Antibiyotik direnç mekanizmalarının farklılığı çoklu ilaç dirençli suşların



gelişimine neden olarak geleneksel antibiyotikleri bu enfeksiyonlarının tedavisi için etkisiz hale getirmektedir. Ayrıca, *P. aeruginosa* biyofilm ve persister hücrelerin oluşumu kistik fibrozisli hastalarda persistant ve inatçı enfeksiyonların sorumlusudur. Son zamanda yeni etki mekanizmalara sahip yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi aracılığıyla bakteri enzimlerin modifikasyonuna karşı ilerleme kaydedilmiştir. Bununla birlikte *P. aeruginosa* yeni antibiyotiklere karşı yeni direnç mekanizmaları geliştirme konusunda potansiyel kapasiteye sahiptir. Antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsiz kullanımı halk sağlığı açısından ciddi sorun teşkil etmektedir.

Sonuç olarak, dirençli bakteri enfeksiyonlarının tedavisi zor ve pahalıdır; konuyla ilgili olarak Tıbbi mikrobiyoloji laboratuvarının görüşlerine başvurulmalıdır ve bu mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlarda korunma ve kontrol politikalarına daha fazla önem verilmelidir.

KAYNAKLAR

- Adabi, M., Talebi-Taher, M., Arbabi, L., Afshar, M., Fathizadeh, S., Minaeian, S., . . . Majidpour, A. (2015). Spread of efflux pump overexpressing-mediated fluoroquinolone resistance and multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa* by using an efflux pump inhibitor. *Infection & chemotherapy*, 47(2), 98-104.
- Aggen, J. B., Armstrong, E. S., Goldblum, A. A., Dozzo, P., Linsell, M. S., Gliedt, M. J., . . . Matias, R. D. (2010). Synthesis and spectrum of the neoglycoside ACHN-490. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(11), 4636-4642.
- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53(10), 1565-1574.
- Arber, W. (2014). Horizontal gene transfer among bacteria and its role in biological evolution. *Life*, 4(2), 217-224.
- Askoura, M., Mattawa, W., Abujamel, T., & Taher, I. (2011). Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. *Libyan Journal of Medicine*, 6(1), 5870.
- Baum, E. Z., Crespo-Carbone, S. M., Morrow, B. J., Davies, T. A., Foleno, B. D., He, W., . . . Bush, K. (2009). Effect of MexXY overexpression on ceftobiprole susceptibility in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(7), 2785-2790.
- Bell, A., Bains, M., & Hancock, R. (1991). *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane protein OprH: expression from the cloned gene and function in EDTA and gentamicin resistance. *Journal of Bacteriology*, 173(21), 6657-6664.
- Bellido, F., Martin, N. L., Siehnel, R. J., & Hancock, R. (1992). Reevaluation, using intact cells, of the exclusion limit and role of porin OprF in *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane permeability. *Journal of Bacteriology*, 174(16), 5196-5203.
- Bergogne-Berezin, E. (2004). *Pseudomonas* and miscellaneous gram-negative bacilli. *Infections Disease. 2nd ed. Philadelphia, PA: Mosby*, 2203-2217.
- Berrazeg, M., Jeannot, K., Enguéné, V. Y. N., Broutin, I., Loeffert, S., Fournier, D., & Plésiat, P. (2015). Mutations in β -lactamase AmpC increase resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolates to antipseudomonal cephalosporins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(10), 6248-6255.
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13(1), 42-51.
- Boll, M., Radziejewska-Lebrecht, J., Warth, C., Krajewska-Pietrasik, D., & Mayer, H. (1994). 4-Amino-4-deoxy-L-arabinose in LPS of enterobacterial R-mutants and its possible role for their polymyxin reactivity. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 8(4), 329-341.
- Bonomo, R. A., & Szabo, D. (2006). Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical infectious diseases*, 43(Supplement_2), S49-S56.



- Bouffartigues, E., Moscoso, J. A., Duchesne, R., Rosay, T., Fito-Boncompte, L., Gicquel, G., . . . Brenner-Weiss, G. (2015). The absence of the *Pseudomonas aeruginosa* OprF protein leads to increased biofilm formation through variation in c-di-GMP level. *Frontiers in microbiology*, 6, 630.
- Braz, V. S., Furlan, J. P. R., Fernandes, A. F. T., & Stehling, E. G. (2016). Mutations in NalC induce MexAB-OprM overexpression resulting in high level of aztreonam resistance in environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS microbiology letters*, 363(16), fnw166.
- Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R. E. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*, 19(8), 419-426.
- Bruchmann, S., Dötsch, A., Nouri, B., Chaberny, I. F., & Häussler, S. (2013). Quantitative contributions of target alteration and decreased drug accumulation to *Pseudomonas aeruginosa* fluoroquinolone resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(3), 1361-1368.
- Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 969-976.
- Cabot, G., Ocampo-Sosa, A. A., Tubau, F., Macia, M. D., Rodríguez, C., Moya, B., . . . Martínez-Martínez, L. (2011). Overexpression of AmpC and efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from bloodstream infections: prevalence and impact on resistance in a Spanish multicenter study. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(5), 1906-1911.
- Cabot, G., Zamorano, L., Moyà, B., Juan, C., Navas, A., Blázquez, J., & Oliver, A. (2016). Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance and fitness under low and high mutation rates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(3), 1767-1778.
- Cavalcanti, F. L. d. S., Mirones, C. R., Paucar, E. R., Montes, L. Á., Leal-Balbino, T. C., Morais, M. M. C. d., . . . Ocampo-Sosa, A. A. (2015). Mutational and acquired carbapenem resistance mechanisms in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from Recife, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(8), 1003-1009.
- Chastre, J., Wunderink, R., Prokocimer, P., Lee, M., Kaniga, K., & Friedland, I. (2008). Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. *Critical care medicine*, 36(4), 1089-1096.
- Chatterjee, M., Anju, C., Biswas, L., Kumar, V. A., Mohan, C. G., & Biswas, R. (2016). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options. *International Journal of Medical Microbiology*, 306(1), 48-58.
- Chen, J., Su, Z., Liu, Y., Wang, S., Dai, X., Li, Y., . . . Wen, P. (2009). Identification and characterization of class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in Zhenjiang, China. *International Journal of Infectious Diseases*, 13(6), 717-721.
- Cigana, C., Bernardini, F., Facchini, M., Alcalá-Franco, B., Riva, C., De Fino, I., . . . Chevalier, E. (2016). Efficacy of the novel antibiotic POL7001 in preclinical models of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(8), 4991-5000.
- Corehtash, Z. G., Ahmad Khorshidi, F. F., Akbari, H., & Aznavah, A. M. (2015). Biofilm formation and virulence factors among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Jundishapur journal of microbiology*, 8(10).
- Cox, G., Ejim, L., Stogios, P. J., Koteva, K., Bordeleau, E., Evdokimova, E., . . . Krause, K. M. (2018). Plazomicin retains antibiotic activity against most aminoglycoside modifying enzymes. *ACS infectious diseases*, 4(6), 980-987.
- Daury, L., Orange, F., Taveau, J.-C., Verchère, A., Monlezun, L., Gounou, C., . . . Pos, K. M. (2016). Tripartite assembly of RND multidrug efflux pumps. *Nature communications*, 7(1), 1-8.
- Delcour, A. H. (2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1794(5), 808-816.



- Drawz, S. M., Papp-Wallace, K. M., & Bonomo, R. A. (2014). New β -lactamase inhibitors: a therapeutic renaissance in an MDR world. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(4), 1835-1846.
- Dreier, J., & Ruggerone, P. (2015). Interaction of antibacterial compounds with RND efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*, 6, 660.
- Dundar, D., & Otkun, M. (2010). In-vitro efficacy of synergistic antibiotic combinations in multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Yonsei medical journal*, 51(1), 111-116.
- Dupont, P., Hocquet, D., Jeannot, K., Chavanet, P., & Plésiat, P. (2005). Bacteriostatic and bactericidal activities of eight fluoroquinolones against MexAB-OprM-overproducing clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 55(4), 518-522.
- El'Garch, F., Jeannot, K., Hocquet, D., Llanes-Barakat, C., & Plésiat, P. (2007). Cumulative effects of several nonenzymatic mechanisms on the resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(3), 1016-1021.
- Fang, Z.-l., Zhang, L.-y., Huang, Y.-m., Qing, Y., Cao, K.-y., Tian, G.-b., & Huang, X. (2014). OprD mutations and inactivation in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from China. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 124-128.
- Fernández, L., & Hancock, R. E. (2012). Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clinical microbiology reviews*, 25(4), 661-681.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. G. (2004). Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer, New York, Berlin, Heidelberg.
- Gellatly, S. L., & Hancock, R. E. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and disease*, 67(3), 159-173.
- Greer, N. D. (2008). *Doripenem (Doribax): the newest addition to the carbapenems*. Paper presented at the Baylor University Medical Center Proceedings.
- Guénard, S., Muller, C., Monlezun, L., Benas, P., Broutin, I., Jeannot, K., & Plésiat, P. (2014). Multiple mutations lead to MexXY-OprM-dependent aminoglycoside resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(1), 221-228.
- Hächler, H., Santanam, P., & Kayser, F. H. (1996). Sequence and characterization of a novel chromosomal aminoglycoside phosphotransferase gene, aph (3')-IIb, in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 40(5), 1254-1256.
- Hainrichson, M., Yaniv, O., Cherniavsky, M., Nudelman, I., Shallom-Shezifi, D., Yaron, S., & Baasov, T. (2007). Overexpression and initial characterization of the chromosomal aminoglycoside 3'-O-phosphotransferase APH (3')-IIb from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(2), 774-776.
- Hall, R. M., & Collis, C. M. (1995). Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Molecular microbiology*, 15(4), 593-600.
- Hancock, R. E., & Brinkman, F. S. (2002). Function of *Pseudomonas* porins in uptake and efflux. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 17-38.
- Hancock, R. E., & Speert, D. P. (2000). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and impact on treatment. *Drug Resistance Updates*, 3(4), 247-255.
- Henrichfreise, B., Wiegand, I., Pfister, W., & Wiedemann, B. (2007). Resistance mechanisms of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from Germany and correlation with hypermutation. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(11), 4062-4070.
- Hilas, O., Ezzo, D. C., & Jodlowski, T. Z. (2008). Doripenem (doribax), a new carbapenem antibacterial agent. *Pharmacy and therapeutics*, 33(3), 134.



- Hocquet, D., Nordmann, P., El Garch, F., Cabanne, L., & Plésiat, P. (2006). Involvement of the MexXY-OprM efflux system in emergence of cefepime resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(4), 1347-1351.
- Hong, D. J., Bae, I. K., Jang, I.-H., Jeong, S. H., Kang, H.-K., & Lee, K. (2015). Epidemiology and characteristics of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection & chemotherapy*, 47(2), 81-97.
- Horcajada, J. P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., . . . Grau, S. (2019). Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clinical microbiology reviews*, 32(4), e00031-00019.
- Jacoby, G. A., Blaser, M., Santanam, P., Hächler, H., Kayser, F., Hare, R., & Miller, G. (1990). Appearance of amikacin and tobramycin resistance due to 4'-aminoglycoside nucleotidyltransferase [ANT (4')-II] in gram-negative pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34(12), 2381-2386.
- Juan, C., Maciá, M. D., Gutiérrez, O., Vidal, C., Pérez, J. L., & Oliver, A. (2005). Molecular mechanisms of β -lactam resistance mediated by AmpC hyperproduction in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(11), 4733-4738.
- Karadağ, F. Y., Günel, Ö., & Barut, H. Ş. (2013). Güncel Bilgiler Işığında *Clostridium Difficile* Enfeksiyonu. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 5(2), 68-73.
- Khosravi, A. D., Motahar, M., & Montazeri, E. A. (2017). The frequency of class 1 and 2 integrons in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in a burn center of Ahvaz, Iran. *PloS one*, 12(8).
- Kirienko, N. V., Kirienko, D. R., Larkins-Ford, J., Wählby, C., Ruvkun, G., & Ausubel, F. M. (2013). *Pseudomonas aeruginosa* disrupts *Caenorhabditis elegans* iron homeostasis, causing a hypoxic response and death. *Cell host & microbe*, 13(4), 406-416.
- Kollef, M. H. (2013). Antibiotics for the critically ill: more than just selecting appropriate initial therapy. *Critical Care*, 17(3), 146.
- Lambert, P. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the royal society of medicine*, 95(Suppl 41), 22.
- Lamers, R. P., Cavallari, J. F., & Burrows, L. L. (2013). The efflux inhibitor phenylalanine-arginine beta-naphthylamide (PA β N) permeabilizes the outer membrane of gram-negative bacteria. *PloS one*, 8(3).
- Li, H., Luo, Y.-F., Williams, B. J., Blackwell, T. S., & Xie, C.-M. (2012). Structure and function of OprD protein in *Pseudomonas aeruginosa*: from antibiotic resistance to novel therapies. *International Journal of Medical Microbiology*, 302(2), 63-68.
- Li, X.-Z., & Nikaido, H. (2009). Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 69(12), 1555-1623.
- Lima, D. A. F. d. S., Nascimento, M. M. P. d., Vitali, L. H., & Martinez, R. (2013). In vitro activity of antimicrobial combinations against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(3), 299-303.
- Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 582-610.
- Llanes, C., Hocquet, D., Vogne, C., Benali-Baitich, D., Neuwirth, C., & Plésiat, P. (2004). Clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* overproducing MexAB-OprM and MexXY efflux pumps simultaneously. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(5), 1797-1802.
- Llanes, C., Köhler, T., Patry, I., Dehecq, B., Van Delden, C., & Plésiat, P. (2011). Role of the MexEF-OprN efflux system in low-level resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(12), 5676-5684.



- Luyt, C.-E., Aubry, A., Lu, Q., Micaelo, M., Bréchet, N., Brossier, F., . . . Combes, A. (2014). Imipenem, meropenem, or doripenem to treat patients with *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(3), 1372-1380.
- Macfarlane, E. L., Kwasnicka, A., Ochs, M. M., & Hancock, R. E. (1999). PhoP–PhoQ homologues in *Pseudomonas aeruginosa* regulate expression of the outer-membrane protein OprH and polymyxin B resistance. *Molecular microbiology*, 34(2), 305-316.
- Masuda, N., Sakagawa, E., Ohya, S., Gotoh, N., Tsujimoto, H., & Nishino, T. (2000). Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-oprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(12), 3322-3327.
- Meletis, G., Exindari, M., Vavatsi, N., Sofianou, D., & Diza, E. (2012). Mechanisms responsible for the emergence of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Hippokratia*, 16(4), 303.
- Miller, A. K., Brannon, M. K., Stevens, L., Johansen, H. K., Selgrade, S. E., Miller, S. I., . . . Moskowitz, S. M. (2011). PhoQ mutations promote lipid A modification and polymyxin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* found in colistin-treated cystic fibrosis patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(12), 5761-5769.
- Morita, Y., Tomida, J., & Kawamura, Y. (2014). Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials. *Frontiers in microbiology*, 4, 422.
- Moskowitz, S. M., Ernst, R. K., & Miller, S. I. (2004). PmrAB, a two-component regulatory system of *Pseudomonas aeruginosa* that modulates resistance to cationic antimicrobial peptides and addition of aminoarabinose to lipid A. *Journal of Bacteriology*, 186(2), 575-579.
- Moyá, B., Beceiro, A., Cabot, G., Juan, C., Zamorano, L., Alberti, S., & Oliver, A. (2012). Pan- β -lactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains: molecular mechanisms, penicillin-binding protein profiles, and binding affinities. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56(9), 4771-4778.
- MP, M.-L. (1999). Glupczynski Y. Tulkens PM. Aminoglycosides: Activity and Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 43, 727-737.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. *Virulence mechanisms of bacterial pathogens*, 481-511.
- Ochs, M. M., Bains, M., & Hancock, R. E. (2000). Role of putative loops 2 and 3 in imipenem passage through the specific porin OprD of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 44(7), 1983-1985.
- Okamoto, K., Gotoh, N., & Nishino, T. (2002). Extrusion of penem antibiotics by multicomponent efflux systems MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(8), 2696-2699.
- Oliver, A., Mulet, X., López-Causapé, C., & Juan, C. (2015). The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resistance Updates*, 21, 41-59.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T.-J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177-192.
- Pankuch, G. A., Lin, G., Kubo, A., Armstrong, E. S., Appelbaum, P. C., & Kosowska-Shick, K. (2011). Activity of ACHN-490 tested alone and in combination with other agents against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(5), 2463-2465.
- Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*, 18(4), 657-686.
- Paterson, D. L., & DePestel, D. D. (2009). Doripenem. *Clinical infectious diseases*, 49(2), 291-298.
- Poirel, L., Lambert, T., Türkoglü, S., Ronco, E., Gaillard, J.-L., & Nordmann, P. (2001). Characterization of Class 1 Integrons from *Pseudomonas aeruginosa* That Contain the bla VIM-2Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase Gene and of Two Novel Aminoglycoside Resistance Gene Cassettes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(2), 546-552.



- Poole, K. (2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(2), 479-487.
- Poole, K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to the max. *Frontiers in microbiology*, 2, 65.
- Potron, A., Poirel, L., & Nordmann, P. (2015). Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *International journal of antimicrobial agents*, 45(6), 568-585.
- Prevention, E. C. f. D., & Control. (2015). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net): ECDC Stockholm.
- Queenan, A. M., Shang, W., Flamm, R., & Bush, K. (2010). Hydrolysis and inhibition profiles of β -lactamases from molecular classes A to D with doripenem, imipenem, and meropenem. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(1), 565-569.
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13(6), 151-171.
- Rampioni, G., Pillai, C. R., Longo, F., Bondi, R., Baldelli, V., Messina, M., . . . Leoni, L. (2017). Effect of efflux pump inhibition on *Pseudomonas aeruginosa* transcriptome and virulence. *Scientific reports*, 7(1), 1-14.
- Ratjen, F., Brockhaus, F., & Angyalosi, G. (2009). Aminoglycoside therapy against *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis: a review. *Journal of Cystic Fibrosis*, 8(6), 361-369.
- Rawat, D., & Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. *Journal of global infectious diseases*, 2(3), 263.
- Riera, E., Cabot, G., Mulet, X., García-Castillo, M., del Campo, R., Juan, C., . . . Oliver, A. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* carbapenem resistance mechanisms in Spain: impact on the activity of imipenem, meropenem and doripenem. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 66(9), 2022-2027.
- Roy, P. H., Tetu, S. G., Larouche, A., Elbourne, L., Tremblay, S., Ren, Q., . . . Watkins, K. (2010). Complete genome sequence of the multiresistant taxonomic outlier *Pseudomonas aeruginosa* PA7. *PloS one*, 5(1).
- Sader, H. S., Castanheira, M., Duncan, L. R., & Flamm, R. K. (2018). Antimicrobial susceptibility of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from United States medical centers stratified by infection type: Results from the international network for optimal resistance monitoring (INFORM) surveillance program, 2015–2016. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 92(1), 69-74.
- Sadikot, R. T., Blackwell, T. S., Christman, J. W., & Prince, A. S. (2005). Pathogen–host interactions in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 171(11), 1209-1223.
- Saito, K., Yoneyama, H., & Nakae, T. (1999). nalB-type mutations causing the overexpression of the MexAB-OprM efflux pump are located in the mexR gene of the *Pseudomonas aeruginosa* chromosome. *FEMS microbiology letters*, 179(1), 67-72.
- Sandoval-Motta, S., & Aldana, M. (2016). Adaptive resistance to antibiotics in bacteria: a systems biology perspective. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 8(3), 253-267.
- Sawa, T. (2014). The molecular mechanism of acute lung injury caused by *Pseudomonas aeruginosa*: from bacterial pathogenesis to host response. *Journal of intensive care*, 2(1), 10.
- Srikumar, R., Li, X.-Z., & Poole, K. (1997). Inner membrane efflux components are responsible for beta-lactam specificity of multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 179(24), 7875-7881.
- Srinivas, N., Jetter, P., Ueberbacher, B. J., Werneburg, M., Zerbe, K., Steinmann, J., . . . Dias, R. L. (2010). Peptidomimetic antibiotics target outer-membrane biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Science*, 327(5968), 1010-1013.
- Subedi, D., Vijay, A. K., & Willcox, M. (2018). Overview of mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: an ocular perspective. *Clinical and Experimental Optometry*, 101(2), 162-171.



- Sugawara, E., Nestorovich, E. M., Bezrukov, S. M., & Nikaido, H. (2006). Pseudomonas aeruginosa porin OprF exists in two different conformations. *Journal of Biological Chemistry*, 281(24), 16220-16229.
- Sun, J., Deng, Z., & Yan, A. (2014). Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochemical and biophysical research communications*, 453(2), 254-267.
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., . . . Carmeli, Y. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet infectious diseases*, 18(3), 318-327.
- Taylor, P. K., Yeung, A. T., & Hancock, R. E. (2014). Antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *Journal of biotechnology*, 191, 121-130.
- Walkty, A., Adam, H., Baxter, M., Denisuik, A., Lagace-Wiens, P., Karlowsky, J., . . . Zhanel, G. (2014). In vitro activity of plazomicin against 5,015 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates obtained from patients in Canadian hospitals as part of the CANWARD study, 2011-2012. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(5), 2554-2563.
- Wang, G.-Q., Li, T.-T., Li, Z.-R., Zhang, L.-C., Zhang, L.-H., Han, L., & Tang, P.-F. (2016). Effect of negative pressure on proliferation, virulence factor secretion, biofilm formation, and virulence-regulated gene expression of Pseudomonas aeruginosa in vitro. *BioMed research international*, 2016.
- Welte, W., Nestel, U., Wacker, T., & Diederichs, K. (1995). Structure and function of the porin channel. *Kidney international*, 48(4), 930-940.
- Wright, G. D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Advanced drug delivery reviews*, 57(10), 1451-1470.
- Yabuuchi, E., Kosako, Y., Oyaizu, H., Yano, I., Hotta, H., Hashimoto, Y., . . . Arakawa, M. (1992). Proposal of Burkholderia gen. nov. and transfer of seven species of the genus Pseudomonas homology group II to the new genus, with the type species Burkholderia cepacia (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiology and immunology*, 36(12), 1251-1275.
- Yalçın, N. (2000). Nozokomiyal Gram-negatif çomak infeksiyonları. *Klimik Derg*, 13, 23-25.
- Zavascki, A. P., Goldani, L. Z., Li, J., & Nation, R. L. (2007). Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 60(6), 1206-1215.