



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**LİTİK BAKTERİYOFAJLARIN İZOLASYONU
KARAKTERİZASYONU VE ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA'YA KARŞI ÇEŞİTLİ
ANTİMİKROBİYAL AJANLARLA SİNERJİK
ETKİLEŞİMİNİN *İN VİTRO* ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

UMUT YILMAZ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bilim Alan Kodu: 1039.09



BALIKESİR

2025

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LİTİK BAKTERİYOFAJLARIN İZOLASYONU
KARAKTERİZASYONU VE ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA'YA KARŞI ÇEŞİTLİ
ANTİMİKROBİYAL AJANLARLA SİNERJİK ETKİLEŞİMİNİN *IN*
VITRO ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

UMUT YILMAZ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÜLHAN VARDAR-ÜNLÜ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Bilim Alan Kodu: 1039.09

BALIKESİR

2025

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LİTİK BAKTERİYOFAJLARIN İZOLASYONU
KARAKTERİZASYONU VE ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ
PSEUDOMONAS AERUGINOSA'YA KARŞI ÇEŞİTLİ
ANTİMİKROBİYAL AJANLARLA SİNERJİK ETKİLEŞİMİNİN *IN*
VITRO ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

UMUT YILMAZ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. GÜLHAN VARDAR-ÜNLÜ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Bilim Alan Kodu: 1039.09

BALIKESİR

2025



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ KABUL VE ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı
Çerçevesinde **Umut YILMAZ** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan
**“LİTİK BAKTERİYOFAJLARIN İZOLASYONU KARAKTERİZASYONU
VE ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ PSEUDOMONAS AERUGINOSA'YA KARŞI
ÇEŞİTLİ ANTİMİKROBİYAL AJANLARLA SİNERJİK ETKİLEŞİMİNİN
IN VİTRO ARAŞTIRILMASI”**

başlıklı tez çalışması,
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından
DOKTORA TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04/07/2025

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ
Balıkesir Üniversitesi
(Başkan)

Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÜNLÜ
Balıkesir Üniversitesi
Üye **(Danışman)**

Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Nöğay
GİRGİNKARDEŞLER
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan KORKUT
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Doktora Tezi,
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 22 /07/2025 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI
Enstitü Müdürü

BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi **beyan ederim**.

22/07/2025

Umut YILMAZ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecinden başlayarak doktora çalışmamın sonuna kadar geçen altı yıllık akademik yolculuğumdaki, bilimsel katkısı, sabrı ve sonsuz desteğiyle bana rehberlik eden değerli danışmanım **Prof. Dr. Gülhan VARDAR-ÜNLÜ**'ye en derin şükranlarımı sunarım. Eğitimim boyunca eş danışman titizliğiyle akademik hayatıma yön veren, engin bilgi ve deneyimini cömertçe paylaşan değerli hocam **Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ**'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın farklı aşamalarında bilimsel katkılarıyla destek olan değerli hocalarım **Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN, Prof. Dr. Nogay GİRGINKARDEŞLER, Prof. Dr. Sema BAĞDAT** ve **Dr. Öğr. Üyesi Oğuzhan KORKUT**'a teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak laboratuvar olanaklarını kullanmama imkân tanıyan, her türlü bilimsel desteğini esirgemeyen kıymetli hocam **Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN**'a özel teşekkürlerimi iletirim. Ayrıca doktora öğrencisi **Abdülkerim KARAYNIR** başta olmak üzere Adnan Menderes Üniversitesi Rekombinant DNA ve Rekombinant Protein Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin tüm ekibine destekleri için teşekkür ederim.

Tecrübesi ve yönlendirmeleriyle her daim yanımda olan, sürecin işleyişine katkı sunan Enstitü Sekreterimiz **Fatma İŞLER**'e ve Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün kıymetli personeline teşekkür ederim.

Değerli katkıları için **Dr. İbrahim ÇAVUŞ, Dr. Tuğçin MUTLU, Dr. Özlem ERKOÇ**'a ve sabırla desteklerini esirgemeyen ve bana güç veren aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bu sürecin tüm ayrıntıları zihnimdeki canlılığı daima koruyacak; bundan sonraki her akademik adımı, bu ayrıntıların bana öğrettiği kararlılıkla atacağım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
2.1.1. Tarihçe	4
2.1.2. Epidemiyoloji	5
2.1.3. Patogenez ve Virülans Faktörleri	7
2.1.4. Klinik Hastalıklar	10
2.1.5. Laboratuvar Tanısı	11
2.1.6. Tedavi ve Antibiyotik Direnci	12
2.1.7. Korunma ve Kontrol	13
2.2. Bakteriyofaj	14
2.2.1. Tarihçe	15
2.2.2. Yapı ve Sınıflandırma	16
2.2.3. Yaşam Döngüsü	17
2.2.4. Bakteriyofaj Terapisi	19
2.3. Antimikrobiyal Maddeler	20
2.3.1. Antibiyotikler	20

2.3.2. Antimikrobiyal Peptidler	23
2.4. Bakteriyofaj Antibiyotik/Peptid Sinerjisi	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Cihaz, Kimyasal ve Diğer Malzemeler	28
3.2. Besiyeri ve Çözeltiler	29
3.3. Antimikrobiyal Maddeler	31
3.4. Bakteri İzolatları	31
3.5. Bakteriyofaj İzolasyonu	32
3.5.1. Atık Su Örneklerinin Toplanması	32
3.5.2. Konak Bakteri Kültürünün Hazırlanması	33
3.5.3. Su Örneklerinden Bakteriyofajların Zenginleştirilmesi	33
3.5.4. Bakteriyofaj Varlığının Agar Spot Test ile Araştırılması	34
3.5.5. Çift Tabakalı Agar Yöntemi	34
3.5.6. Bakteriyofajın Tek Plak Yöntemi ile Saflaştırılması	36
3.5.7. Bakteriyofaj Titrelerinin Hesaplanması	36
3.6. Bakteriyofajların Karakterizasyonu	37
3.6.1. Bakteriyofaj DNA İzolasyonu	37
3.6.2. Bakteriyofajların Restriksiyon Profilinin Belirlenmesi	37
3.6.3. Optimum Enfeksiyon Çokluğu Değerinin Belirlenmesi	38
3.6.4. Bakteriyofajların Konak Aralığının Belirlenmesi	39
3.6.5. Bakteriyofajların Zamana Bağlı Etkinliklerinin Belirlenmesi	39
3.6.6. Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi Deneyi	39
3.6.7. Farklı Ortam Koşullarında Bakteriyofajların Titre Değişimi	41
3.6.8. Bakteriyofajların Morfolojik Karakterizasyonu	42
3.7. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	42

3.7.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	42
3.7.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi	43
3.8. Bakteriyofaj Antibiyotik/Peptid Sinerjik Etkileşiminin Belirlenmesi.....	44
3.8.1. Modifiye Çift Tabakalı Agar Yöntemi	44
3.8.2. Dama Tahtası Yöntemi	45
3.9. Antimikrobiyal Peptidlerin Sitotoksik Aktivitesinin Belirlenmesi	48
3.9.1. Hücre Hattının Hazırlanması	48
3.9.2. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi.....	49
3.10. İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR	51
4.1. İzolasyon ve Saflaştırılma	51
4.2. Karakterizasyon.....	52
4.2.1. Total DNA ve Restriksiyon Profili	52
4.2.2. Optimum Enfeksiyon Çokluğu	53
4.2.3. Konak Aralığı	54
4.2.4. Zamana Bağlı Etkinlik.....	55
4.2.5. Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi.....	57
4.2.6. Farklı Çevresel Koşulların Stabiliteye Etkisi.....	59
4.2.7. Morfolojik Karakterizasyon.....	61
4.3. İzolatların Örnek Türlerine Göre Dağılımı.....	62
4.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri.....	62
4.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçları	63
4.4.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi Sonuçları.....	63
4.5. Bakteriyofaj-Antibiyotik/Peptid Sinerjik Etkileşim Sonuçları.....	65
4.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	65

4.5.2. Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/ Peptid Eklenmesi.....	68
4.5.3. Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/ Peptid Eklenmesi	71
4.5.4. Dama Tahtası Yöntemi	74
4.6. Sitotoksik Aktivite.....	77
4.7. İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	79
5. TARTIŞMA	84
5.1. Bakteriyofajların Genomik Farklılığının RFLP ile Analizi	84
5.2. Bakteriyofajların Litik Aktivitesi	85
5.3. Bakteriyofaj Verimliliği	87
5.4. Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi	88
5.5. Farklı Çevresel Koşulların Stabiliteye Etkisi	89
5.6. İzolatların Örnek Türlerine Göre Dağılımı.....	91
5.7. Antibiyotik ve Peptidlerin Duyarlılık Profilleri	92
5.8. Bakteriyofaj-Antibiyotik Sinerjisi.....	94
5.8.1. Modifiye Çift Tabakalı Agar Yöntemi	96
5.8.2. Dama Tahtası Yöntemi	98
5.9. Bakteriyofaj-Peptid Sinerjisi	101
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	106
KAYNAKLAR	107
ÖZGEÇMİŞ	131
EKLER	132
EK1. Etik Kurul Belgesi.....	132

ÖZET

LİTİK BAKTERİYOFAJLARIN İZOLASYONU KARAKTERİZASYONU VE ÇOKLU İLAÇ DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'YA KARŞI ÇEŞİTLİ ANTİMİKROBİYAL AJANLARLA SİNERJİK ETKİLEŞİMİNİN *IN VİTRO* ARAŞTIRILMASI

Çoklu ilaç dirençli *Pseudomonas aeruginosa*, artan tedavi zorlukları nedeniyle kritik bir halk sağlığı sorunudur. Bu çalışmada, Balıkesir bölgesindeki atık sulardan izole edilen iki litik bakteriyofaj (BAUNPA1 ve BAUNPA3), farklı antibiyotikler [kolistin (COL), siprofloksasin (CIP), meropenem (MEM), tobramisin (TOB)] ve antimikrobiyal peptitler [murepavadin (MUR), peksiganan (PEX)] ile kombinasyon halinde *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Fajlar morfolojik (TEM) ve genetik (RFLP) analizlerle karakterize edilmiştir. Her iki fajın biyolojik özellikleri değerlendirilmiş 30 dk lık latent dönem, optimum MOI değeri 10, pH 6–8 aralığında ve 50 °C'ye kadar stabilite ile birlikte, BAUNPA1 için yaklaşık 189 ve BAUNPA3 için yaklaşık 43 gibi patlama boyutu değerleri saptanmıştır. Konak aralığı analizinde BAUNPA1 %34, BAUNPA3 %60 oranında lizis göstermiştir. Klinik örneklerden soyutlanan elli *P. aeruginosa* izolatına karşı, kolistin ve murepavadin, en düşük MİK₅₀/MİK₉₀ (0.5/1 µg/mL) değerleriyle en etkili ajanlar olmuştur.

Faj-antimikrobiyal madde kombinasyonları, seçilmiş beş klinik izolat üzerinde modifiye çift tabakalı agar (disk difüzyon, alt agar ve yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi) ve dama tahtası yöntemleriyle, eşzamanlı ve ardışık uygulama modelleriyle test edilmiştir. Disk difüzyon yöntemi, plak boyutunda sınırlı bir artış sağlarken; alt veya yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesiyle plak sayısı ve boyutunda anlamlı artışlar gözlemlenmiştir. Alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi plak boyutunu artırmada daha etkili olurken; yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi ise plak sayısında daha fazla artışa neden olmuştur. Plak boyutunda en belirgin artış MEM ile sağlanırken, plak sayısında artışa neden olan antibiyotikler MEM, COL ve CIP olmuştur. Dama tahtası yönteminde eşzamanlı uygulamalarda CIP, COL ve MEM ile genellikle sinerjik etkileşim gözlenirken, ardışık modelde (faj-önce) antibiyotiklerin yanı sıra MUR ve PEX ile de sinerjik etkileşim gözlenmiştir (FİKİ ≤ 0.5).

Bu tez, litik fajların klinik kullanımdaki antibiyotikler ve antimikrobiyal peptitlerle kombinasyonlarının farklı *in vitro* modellerde karşılaştırmalı analizini sunarak, dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarında yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Bakteriyofaj, antibiyotik, antimikrobiyal peptid, *Pseudomonas aeruginosa*, sinerji

ABSTRACT

ISOLATION CHARACTERIZATION OF LYTIC BACTERIOPHAGES AND *IN VITRO* INVESTIGATION OF THEIR SYNERGISTIC INTERACTION WITH VARIOUS ANTIMICROBIAL AGENTS AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* is a critical public health concern due to increasing treatment challenges. In this study, two lytic bacteriophages (BAUNPA1 and BAUNPA3) isolated from wastewater in the Balıkesir region were evaluated *in vitro* in combination with various antibiotics [colistin (COL), ciprofloxacin (CIP), meropenem (MEM), tobramycin (TOB)] and antimicrobial peptides [murepavadin (MUR), pexiganan (PEX)]. The phages were characterized morphologically (TEM) and genetically (RFLP). Biological properties of both phages were assessed, revealing a 30-minute latent period, an optimal MOI value of 10, stability between pH 6–8 and up to 50 °C, and burst sizes of approximately 189 for BAUNPA1 and 43 for BAUNPA3. In host range analysis, BAUNPA1 and BAUNPA3 showed lysis rates of 34% and 60%, respectively. Among fifty *P. aeruginosa* isolates obtained from clinical samples, COL and MUR were the most effective agents with the lowest MIC₅₀/MIC₉₀ values (0.5/1 µg/mL).

Phage–antimicrobial agent combinations were tested on five selected clinical isolates using modified double-layer agar methods (disk diffusion, incorporation of sub-MIC antibiotic/peptide into bottom or soft agar) and checkerboard assays under simultaneous and sequential application models. The disk diffusion method yielded limited increases in plaque size, whereas the addition of sub-MIC antibiotics/peptides to the bottom or soft agar led to significant increases in both plaque number and size. Incorporation into bottom agar was more effective in increasing plaque size, while incorporation into soft agar caused greater increases in plaque number. The most notable increase in plaque size was observed with MEM, while MEM, COL, and CIP contributed to increased plaque numbers. In checkerboard assays, simultaneous application generally resulted in synergistic interactions with CIP, COL, and MEM, whereas in the sequential model (phage first), synergistic effects were also observed with MUR and PEX (FICI ≤ 0.5).

This thesis presents a comparative analysis of lytic phage combinations with clinically used antibiotics and antimicrobial peptides across different *in vitro* models, contributing to the development of novel therapeutic strategies against resistant *P. aeruginosa* infections.

Keywords: Bacteriophage, antibiotic, antimicrobial peptide, *Pseudomonas aeruginosa*, synergy

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

AAC	:	Aminoglikozit Modifiye Edici Enzim Tipleri
AMP	:	Antimikrobiyal Peptid
ATCC	:	American Type Culture Collection
CaCl ₂	:	Kalsiyum Klorür
CDC	:	Centers for Disease Control and Prevention
CRPA	:	Karbapenem Dirençli <i>P. aeruginosa</i>
CLSI	:	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	:	Etilendiamintetraasetik Asit
EUCAST	:	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FİKİ	:	Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi
ICTV	:	Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi
KAMHB	:	Kasyon Ayarlı Muller-Hinton Broth
KF	:	Kistik Fibrozis
KKMHA	:	Koyun Kanlı Mueller-Hinton Agar
LB	:	Luria Bertani
MÇTAY	:	Modifiye Çift Tabakalı Agar Yöntemi
MİK	:	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MOI	:	Multiplicity of Infection (Enfeksiyon çokluluğu)
NaCl	:	Sodyum klorür
OD	:	Optik Dansite
PAS	:	Phage–Antibiotic Synergy (Bakteriyofaj Antibiyotik Sinerji)
POB	:	Plak Oluşturan Birim
RFLP	:	Restriction Fragment Length Polymorphism
WHO	:	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Bakteriyofaj Yapısı	16
Şekil 2.2. Bakteriyofajların Sınıflandırılması.....	17
Şekil 2.3. Bakteriyofaj Yaşam Döngüsü.....	18
Şekil 2.4. Siprofloksasinin Kimyasal Yapısı.....	21
Şekil 2.5. Kolistinin Kimyasal Yapısı.....	22
Şekil 2.6. Meropenemin Kimyasal Yapısı.....	22
Şekil 2.7. Tobramisininin Kimyasal Yapısı.....	23
Şekil 2.8. Murepavadinin Kimyasal Yapısı.....	24
Şekil 2.9. Peksigananın Kimyasal Yapısı.....	25
Şekil 3.1. Atık Su Örneklerinden Bakteriyofaj Zenginleştirilmesi.....	33
Şekil 3.2. Bakteriyofaj Varlığının Agar Spot Test ile Araştırılması.....	34
Şekil 3.3. Bakteriyofaj Dilüsyon Örneklerinin Hazırlanması.....	35
Şekil 3.4. Çift Tabakalı Agar Yöntemi.....	35
Şekil 3.5. Tek Plak İzolasyonu ile Bakteriyofajların Saflaştırılması.....	36
Şekil 3.6. Bakteriyofaj-Antibiyotik/Peptidlerin Kullanım Sırası.....	46
Şekil 3.7. Dama Tahtası Yöntemi ile Bakteriyofaj ve Antibiyotik/Peptid Sinerjisinin Saptanması.....	48
Şekil 4.1. İzole Edilen Bakteriyofajların Plak Morfolojisi.....	51
Şekil 4.2. Bakteriyofajlara ait Total DNA Agaroz Jel Elektroforezi.....	52
Şekil 4.3. BAUNPA1 ve BAUNPA3 Genomik DNA'larının HinDIII Kesim Profili.....	53
Şekil 4.4. Farklı MOI Değerlerinde Bakteriyofaj Titreleleri.....	53
Şekil 4.5. Bakteriyofaj Konak Aralığının Belirlenmesi	54
Şekil 4.6. BAUNPA1'in Zamana Bağlı Üreme İnhibisyonu.....	56
Şekil 4.7. BAUNPA3'ün Zamana Bağlı Üreme İnhibisyonu.....	57
Şekil 4.8. BAUNPA1'in Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi.....	58
Şekil 4.9. BAUNPA3'ün Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi.....	58

Şekil 4.10. BAUNPA1'in Farklı Sıcaklıklardaki Titre Değişimi.....	59
Şekil 4.11. BAUNPA3'ün Farklı Sıcaklıklardaki Titre Değişimi.....	60
Şekil 4.12. Farklı pH Değerlerinde Bakteriyofajların Titre Değişimi.....	60
Şekil 4.13. BAUNPA1'in TEM Görüntüsü.....	61
Şekil 4.14. BAUNPA3'ün TEM Görüntüsü.....	61
Şekil 4.15. PA29 Suşuna Karşı BAUNPA1-Meropenem Kombinasyonun MÇTAY-DD ile Değerlendirilmesi.....	65
Şekil 4.16. BAUNPA1-Antimikrobiyal Disk Kombinasyonlarının Plak Morfolojisi ve İnhibisyon Zonu Üzerine Etkisi.....	66
Şekil 4.17. BAUNPA3-Antimikrobiyal Disk Kombinasyonlarının Plak Morfolojisi ve İnhibisyon Zonu Üzerine Etkisi.....	67
Şekil 4.18. Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid Eklenmesinin BAUNPA1'in Plak boyutuna ve Plak Sayısına Etkisi.....	69
Şekil 4.19. Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid Eklenmesinin BAUNPA3'ün Plak boyutuna ve Plak Sayısına Etkisi.....	71
Şekil 4.20. Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid Eklenmesinin BAUNPA1'in Plak boyutuna ve Plak Sayısına Etkisi.....	72
Şekil 4.21. Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid Eklenmesinin BAUNPA3'ün Plak boyutuna ve Plak Sayısına Etkisi.....	73
Şekil 4.22. BAUNPA3-Meropenem Kombinasyonunun PA29 Suşuna Karşı Dama Tahtası ile Değerlendirilmesi.....	74
Şekil 4.23. Murepavadinin IC50 Değeri.....	78
Şekil 4.24. Peksigananın IC50 Değeri.....	79

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın Keşfinden Günümüze Tarihsel Gelişimi.....	5
Tablo 2.2. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Virülans Faktörleri ve Patogenezdeki Rollerini.....	8
Tablo 2.3. <i>P. aeruginosa</i> 'nın Direnç Mekanizmaları.....	13
Tablo 3.1. Bakteriyofaj İzolasyonu Amacıyla Su Örneklerinin Alındığı Lokasyonlara Ait Coğrafi Koordinatlar.....	32
Tablo 4.1. BAUNPA1 Bakteriyofajının Litik Etkinlik Dağılımı.....	55
Tablo 4.2. BAUNPA3 Bakteriyofajının Litik Etkinlik Dağılımı.....	55
Tablo 4.3. <i>P. aeruginosa</i> İzolatlarının Dağılımı.....	62
Tablo 4.4. Disk Difüzyon Yöntemine Göre Antibiyotik ve Peptidlerin İnhibisyon Zon Çapları.....	63
Tablo 4.5. Antibiyotik ve Peptidlerin MİK Değerlerinin Dağılımı.....	64
Tablo 4.6. Antibiyotik ve Peptidlerin Duyarlılık Profillerinin Dağılımı.....	64
Tablo 4.7. BAUNPA1 ile Antibiyotik/Peptid Disk Kombinasyonlarının İnhibisyon Zon Çapları.....	66
Tablo 4.8. BAUNPA1 ile Antibiyotik/Peptid Disk Kombinasyonlarının Plak Boyutu Üzerindeki Etkisi.....	66
Tablo 4.9. BAUNPA3 ile Antibiyotik/Peptid Disk Kombinasyonlarının İnhibisyon Zon Çapları.....	67
Tablo 4.10. BAUNPA3 ile Antibiyotik/Peptid Disk Kombinasyonlarının Plak Boyutuna Etkisi.....	68
Tablo 4.11. BAUNPA1 ile Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid Eklenmesinin Plak Boyutuna Etkisi.....	68
Tablo 4.12. BAUNPA1 ile Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid Eklenmesinin Plak Sayısına Etkisi.....	69
Tablo 4.13. BAUNPA3 ile Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid	

Eklenmesinin Plak Boyutuna Etkisi.....	70
Tablo 4.14. BAUNPA3 ile Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid	
Eklenmesinin Plak Sayısına Etkisi.....	70
Tablo 4.15. BAUNPA1 ile Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid	
Eklenmesinin Plak Boyutuna Etkisi.....	71
Tablo 4.16. BAUNPA1 ile Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid	
Eklenmesinin Plak Sayısına Etkisi.....	72
Tablo 4.17. BAUNPA3 ile Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid	
Eklenmesinin Plak Boyutuna Etkisi.....	73
Tablo 4.18. BAUNPA3 ile Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/Peptid	
Eklenmesinin Plak Sayısına Etkisi.....	74
Tablo 4.19. BAUNPA1 ve Antibiyotik/Peptid Eşzamanlı	
Kombinasyonlarının FİKİ Değerleri ve Etkileşim Sonuçları...	75
Tablo 4.20. BAUNPA3 ve Antibiyotik/Peptid Eşzamanlı	
Kombinasyonlarının FİKİ Değerleri ve Etkileşim Sonuçları...	75
Tablo 4.21. BAUNPA1 ve Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce Faj)	
Kombinasyonlarına Ait FİKİ Değerleri ve Etkileşim	
Sonuçları.....	76
Tablo 4.22. BAUNPA3 ve Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce Faj)	
Kombinasyonlarına Ait FİKİ Değerleri ve Etkileşim	
Sonuçları.....	76
Tablo 4.23. BAUNPA1 ve Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce	
Antibiyotik/Peptid Kombinasyonlarına Ait FİKİ Değerleri	
ve Etkileşim Sonuçları.....	77
Tablo 4.24. BAUNPA3 ve Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce	
Antibiyotik/Peptid) Kombinasyonlarına Ait FİKİ Değerleri	
ve Etkileşim Sonuçları.....	77
Tablo 4.25. Modifiye Çift Tabakalı Agar Yönteminde Anlamlı Fark	
Gösteren Kombinasyonlar.....	80

Tablo 4.26. BAUNPA1-Antibiyotik/Peptid Eşzamanlı Kullanımın İstatistiksel Analizi.....	80
Tablo 4.27. BAUNPA1-Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce Faj) Kullanımın İstatistiksel Analizi.....	80
Tablo 4.28. BAUNPA1-Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce Antibiyotik/Peptid) Kullanımın İstatistiksel Analizi.....	81
Tablo 4.29. BAUNPA3-Antibiyotik/Peptidlerin Eşzamanlı Kullanımın İstatistiksel Analizi.....	81
Tablo 4.30. BAUNPA3-Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce Faj) Kullanımın İstatistiksel Analizi.....	82
Tablo 4.31. BAUNPA3-Antibiyotik/Peptidlerin Ardışık (Önce Antibiyotik/Peptid) Kullanımın FİKİ Değerlerine Etkisi.....	82
Tablo 4.32. Bakteriyofaj-Antibiyotik/Peptidlerin Kullanım Sırasının FİKİ Değerlerine Etkisi.....	83
Tablo 5.1. Dama Tahtası Yöntemiyle Yapılan Faj-Antibiyotik Sinerji Çalışmaları.....	100
Tablo 5.2. Faj-Peptid Sinerjisine Ait Çalışmalar.....	103

1. GİRİŞ

Çoklu ilaca dirençli (ÇİD) *Pseudomonas aeruginosa*, hastane enfeksiyonlarında ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde veya uzun süre hastanede yatan hastalarda yüksek mortaliteyle seyreden enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Appaneal ve ark., 2018; Al-Orphaly ve ark., 2021). Bu Gram-negatif fırsatçı patojen; nozokomiyal pnömoni, kan dolaşımı enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve yara enfeksiyonları gibi çeşitli klinik tablolarla ilişkilidir. Düşük dış zar geçirgenliği, aktif dışa atım sistemleri ve çok sayıda β -laktamaz enzimi üretimi gibi direnç mekanizmaları, farklı antibiyotik sınıflarına karşı direnç gelişimini kolaylaştırarak tedavi seçeneklerini ciddi biçimde kısıtlamaktadır (Botelho ve ark., 2019; Lorusso ve ark., 2022).

Son yıllarda, yaygın ilaçlara dirençli (YİD) *P. aeruginosa* klonlarının küresel ölçekte yayılımı, klinik tedavide önemli zorluklara neden olmuştur (Del Giacomo ve ark., 2022; Cosentino ve ark., 2023; Kothari ve ark., 2023). Karbapenemler, aminoglikozitler ve polimiksinler gibi geleneksel antibiyotiklerin etkinliği sınırlı kalmakta, hatta sefalosporin- β -laktamaz inhibitör kombinasyonları gibi yeni geliştirilen ajanlarda bile direnç sorunları ortaya çıkmaktadır (Soltani ve ark., 2024; Gadaime ve ark., 2024; Shah ve ark., 2025). Bu yüzden, ÇİD *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına karşı alternatif veya tamamlayıcı terapötik stratejilerin geliştirilmesi acil bir gereklilik haline gelmiştir (Pang ve ark., 2019; Chegini ve ark., 2020; Montero ve Horcajada, 2023). Artan antibiyotik direnci, bakteriyofajlar ve antimikrobiyal peptitler (AMP'ler) gibi biyolojik ajanlara olan ilgiyi de beraberinde getirmiştir (Al-Anany ve ark., 2021; Łusiak-Szelachowska ve ark., 2022).

Bakteriyofajlar, konak bakterilere özgül olarak bağlanarak onları lizis yoluyla ortadan kaldıran litik virüslerdir. Bu özgülük, özellikle dirençli bakterilere karşı seçici tedavi avantajı sağlamaktadır. Preklinik ve klinik veriler, bakteriyofajların enfeksiyon kontrolünde terapötik potansiyelini desteklemektedir (Law ve ark., 2019; Aslam ve ark.,

2020; Holger ve ark., 2021; Manohar ve ark., 2024). Bununla birlikte, litik bakteriyofajların monoterapi olarak kullanımı; dar konak spektrumu, bakteriyel reseptörlerin değişimiyle gelişebilecek direnç mekanizmaları ve konak immün sistemi tarafından nötralize edilme riski gibi sınırlayıcı faktörlere sahiptir (Zalewska-Piątek, 2023). Bu nedenle, son dönemde bakteriyofajların antibiyotiklerle kombinasyonuna ve bu kombinasyonların potansiyel sinerjisine yönelik çalışmalar artmıştır (Nikolich ve Filippov, 2020).

AMP'ler, genellikle 12–50 amino asitten oluşan, pozitif yüklü ve amfipatik yapıda küçük moleküllerdir (van Hoek, 2014). Günümüzde 3100'den fazla doğal AMP tanımlanmış olup, bakterilerden bitkilere, böceklerden omurgalılara kadar birçok canlıda bulunur (Lazzaro ve ark., 2020; Luo ve Song, 2021). Doğal bağışıklık sisteminin önemli efektörleri olan bu peptitler, patojenlere karşı ilk savunma hattının önemli bir bileşenidir (Diamond ve ark., 2009). Ortak bir yapısal motif taşımamalarına karşın çoğu, geniş antimikrobiyal spektruma sahip, kısa, amfipatik ve katyonik özellikte olup bakterilere, mantarlara ve virüslere karşı etkilidir (Chung ve Khanum, 2017). Ökaryotik hücrelere karşı düşük toksisite, yüksek ısı stabilitesi, çözünürlük, düşük moleküler ağırlık ve direnç geliştirmeme gibi avantajları, AMP'lerin terapötik kullanım potansiyelini artırmaktadır (Li ve ark., 2022).

Bakteriyofaj-antibiyotik sinerjisi (PAS), her iki ajanın birlikte kullanımının antimikrobiyal etkinliği artırması ve direnç gelişimini baskılaması olarak tanımlanır (Comeau ve ark., 2007). PAS etkisi; antibiyotiklerin hücre duvarı geçirgenliğini artırarak bakteriyofajların penetrasyonunu kolaylaştırması, bakteriyofajların bakterileri yeniden antibiyotiklere duyarlı hale getirmesi, biyofilmlerin parçalanması ve antibiyotik stresinin bakteriyel savunmaları zayıflatması gibi mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır (Santamaría-Corral ve ark., 2024; Kovacs ve ark., 2024). Bu sinerjik etkinlik yalnızca *in vitro* düzeyde kalmamakta; hayvan modellerinde de enfeksiyon yükünün azalması, enfeksiyonun yayılmasının önlenmesi ve hayatta kalma oranlarında artış gibi olumlu sonuçlarla desteklenmektedir (Nale ve ark., 2015; Rodriguez-Gonzalez ve ark., 2020; Blasco ve ark., 2020). Bu bulgular, bakteriyofaj-antibiyotik kombinasyonlarının hem etkinliği

artırabileceğini hem de direnç gelişimini engelleyebileceğini göstermektedir (Azam ve ark., 2024; Gil-Gil ve ark., 2025).

Benzer biçimde, bakteriyofaj-AMP kombinasyonları da dikkate değer terapötik sonuçlar doğurabilir. AMP'lerin bakteriyel zarları destabilize eden etkileri ile bakteriyofajların konak seçici lizis yetenekleri sinerjistik ya da tamamlayıcı bir etkileşim yaratabilir (Mirski ve ark., 2019; Kim ve ark., 2025; Xu ve ark., 2025). ÇİD *P. aeruginosa* suşlarına karşı murepavadin (MUR) ve pexiganan (PEX) gibi AMP'ler ön plana çıkmaktadır (Giacometti ve ark., 2005; Gottler ve Ramamoorthy, 2009; Hernández-García ve ark., 2024; Wei ve ark., 2024a). Bu AMP'lerin, *P. aeruginosa*'ya özgül litik fajlarla kombinasyonu, PAS yaklaşımını aşan, hedefe yönelik ve sinerjistik bir biyoterapötik strateji olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada, atık su kaynaklarından izole edilen iki litik *P. aeruginosa* bakteriyofajının karakterizasyonuna ek olarak, dört antibiyotik [siprofloksasin (CIP), kolistin (COL), meropenem (MEM), tobramisin (TOB)] ve iki AMP [MUR, PEX] ile *in vitro* sinerjik etkileşimlerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda; modifiye çift katmanlı agar yöntemleri (disk difüzyon, alt agara sub-MİK antibiyotik/peptit eklenmesi, yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptit eklenmesi) ve dama tahtası yöntemi (eşzamanlı ve ardışık uygulama) kullanılarak bakteriyofaj-antibiyotik ve bakteriyofaj-peptit kombinasyonlarının sinerji potansiyelleri belirlenmiştir. Söz konusu yöntemler, terapötik açıdan uygun kombinasyonların ön değerlendirilmesi için etkili bir tarama aracı olarak kullanılmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.1. Tarihçe

Pseudomonas aeruginosa, Proteobacteria şubesinin Gammaproteobacteria sınıfında, Pseudomonadales takımı ve *Pseudomonadaceae* ailesinde sınıflandırılan önemli bir bakteriyel patojendir. Cins adı olan *Pseudomonas*, Yunanca “sahte” anlamındaki pseudo- ve “birim” anlamındaki monas sözcüklerinin birleşiminden türetilmiştir. Aeruginosa ise, bu bakterinin karakteristik yeşilimsi-mavi pigmentasyonunu ifade eden Latince *aerūgō* (bakır pası) kelimesinden köken almaktadır (Palleroni, 2010). Bakterinin keşfi, 1882 yılında Fransız eczacı Carle Gessard'ın yara pansumanlarında gözlemlediği mavi-yeşil renk değişimini araştırmasıyla başlamıştır. Gessard, bu renklemenin fenazın türevi bir pigment olan piyosiyaninden kaynaklandığını saptamış ve *P. aeruginosa*'nın potansiyel patojenliğine dair ilk bilimsel verileri ortaya koymuştur (Gessard, 1884).

Alman mikrobiyolog Walter Migula, 1894 yılında morfolojik özelliklere dayanarak *Pseudomonas* cinsini tanımlamış ve *P. aeruginosa*'yı bu cinse ait bir tür olarak sınıflandırmıştır (Palleroni, 1984). Bakterinin sistematigi, 1966 yılında Stanier ve ark., (1966) gerçekleştirdiği fizyolojik ve biyokimyasal analizlere dayanan kapsamlı çalışmayla modern bir temele oturtulmuştur. 1984'te DNA-DNA hibridizasyon (DDH) ve ribozomal RNA temelli moleküler çalışmalar, *Pseudomonas* cinsinin beş ana gruba ayrıldığını göstermiş; *P. aeruginosa*'nın bu gruplar içerisinde Gammaproteobacteria ile uyumlu olan Grup I'te yer aldığı doğrulanmıştır (Lomholt ve ark., 2001). Bakterinin moleküler düzeyde daha ayrıntılı anlaşılmasını sağlayan önemli bir gelişme, 2000 yılında referans suş olan PAO1'in tam genom dizisinin yayımlanmasıyla yaşanmıştır (Stover ve ark., 2000). Bu çalışma, 6.3 Mbp büyüklüğünde bir genom ve 5.570 genin varlığını ortaya

koymuş; özellikle virülans faktörleri ve antibiyotik direnç mekanizmalarının çözülmesine büyük katkı sağlamıştır (Tablo 2.1).

2004 yılında, uluslararası bir araştırma konsorsiyumu tarafından ÇİD özelliği ile öne çıkan, VIM tip metallo- β -laktamaz üreten ve hastanelerde yayılım kapasitesi yüksek olan ST235 klonu tanımlanmıştır (Curran ve ark., 2004). Bu gelişmeler doğrultusunda, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında yayımladığı “Öncelikli Patojenler Listesi”nde, karbapenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarını “kritik öncelikli” patojenler kategorisine almıştır (Tacconelli ve ark., 2018). DSÖ’nün antibiyotik direncini küresel sağlık tehdidi olarak tanımlayan, acil yeni antibiyotik geliştirme ihtiyacını vurgulayan bu kararı, hastane enfeksiyon kontrol protokollerinin yeniden gözden geçirilmesi gerekliliği açısından büyük önem taşımaktadır (Reig ve ark., 2022).

Tablo 2.1. *Pseudomonas aeruginosa*'nın keşfinden günümüze tarihsel gelişimi.

Yıl	Açıklama	Önemi	Referans
1882	İlk izolasyon ve piyosiyanın keşfi	Patojenin ilk tanımlanması	Gessard, 1884
1894	<i>Pseudomonas</i> cinsinin tanımı	Taksonomik sınıflandırma	Palleroni, 1984
1969	İlk hastane salgını kaydı	Nozokomiyal patojen olarak tanınma	Shooter ve ark., 1966
1977	Kistik fibroziste kronik kolonizasyon	Kronik enfeksiyon paradigması	Hoiby ve ark., 1977
1983	İlk karbapenem direnci (imipenem)	Beta-laktam direncinde dönüm noktası	Watanabe ve ark., 1991
1999	İlk kolistin dirençli suş	Son çare antibiyotiğine direnç	Li ve ark., 2006
2000	PAO1 genom sekansı	Genomik çağın başlangıcı	Stover ve ark., 2000
2004	ST235 pandemik klon tanımı	Küresel direnç yayılımı	Curran ve ark., 2004
2016	mcr-1 geninin keşfi	Kolistin direncinin yatay transferi	Liu ve ark., 2016
2017	DSÖ kritik patojen listesi	Küresel sağlık tehdidi	Reig ve ark., 2022

2.1.2. Epidemiyoloji

P. aeruginosa, Gram-negatif, fırsatçı bir patojen olarak küresel halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç

geliştirme yeteneği, çevresel stres koşullarına toleransı ve immünsüprese bireylerde kronik enfeksiyonlara neden olma kapasitesi nedeniyle önem kazanmaktadır (Gellatly ve Hancock, 2013). Toprak, su ve bitki örtüsü gibi çeşitli çevresel ortamlarda doğal olarak bulunabilen bu bakteri, hastane koşullarına da kolaylıkla adapte olabilmekte; su sistemleri, tıbbi cihazlar ve yüzeylerde kolonize olarak sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların önde gelen etkenlerinden biri haline gelmektedir (Horcajada ve ark., 2019; Kizny Gordon ve ark., 2017).

Enfeksiyon riski, özellikle yoğun bakım ünitesi hastalarında, yanık ünitesi bireylerinde ve mekanik ventilasyon ya da invaziv tıbbi cihazlara maruz kalan hastalarda belirgin biçimde artmaktadır (Vincent ve ark., 2020). Bağışıklık sistemi baskılanmış bireyler —örneğin, kemoterapi gören kanser hastaları, organ nakli alıcıları ve HIV/AIDS'li hastalar— daha yüksek enfeksiyon riski altındadır (Pachori ve ark., 2019).

P. aeruginosa enfeksiyonlarının prevalansı, bölgesel enfeksiyon kontrol önlemleri, antibiyotiklerin akılcı kullanımı ve sağlık sistemlerinin altyapı düzeyine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bakterinin lavabolar, duş başlıkları ve boru sistemleri gibi hastane içi su kaynaklarında biyofilm oluşturma yeteneği, klasik dezenfeksiyon işlemlerine direnç gelişimine katkı sağlamakta ve tekrarlayan salgınlara zemin hazırlamaktadır (Kotsanas ve ark., 2013; Kos ve ark., 2015). Bulaşma yolları oldukça çeşitli olup hastane kaynaklı yayılım, genellikle kontamine ventilatörler, kateterler ve endoskoplar gibi invaziv tıbbi araçlar aracılığıyla gerçekleşirken, el hijyeni eksikliği ve yetersiz sterilizasyon uygulamaları bulaşmayı kolaylaştırmaktadır (Weiner ve ark., 2016; Sader ve ark., 2014). Hastane su sistemleri kalıcı enfeksiyon rezervuarları oluştururken, toplum kaynaklı enfeksiyonlar genellikle kontamine yüzme havuzları, jakuziler veya sterilize edilmemiş kontakt lens solüsyonlarıyla ilişkilidir (Taudien ve ark., 2023; Walker ve Moore, 2015).

Klinik spektrum oldukça geniştir ve *P. aeruginosa*, akut ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlardan kronik hastalıklara kadar çeşitli klinik tabloların etkeni olabilir. Özellikle ventilatörle ilişkili pnömoni (VAP), yüksek mortalite oranlarıyla dikkat çekerken (Modi ve Kovacs, 2020), KF hastalarında kronik akciğer enfeksiyonları,

ilerleyici akciğer hasarına yol açmaktadır (Hauser ve ark., 2011; Rossi ve ark., 2021). Kan dolaşımı enfeksiyonları sıklıkla fulminan sepsise neden olurken (Kang ve ark., 2011), deri ve yumuşak doku enfeksiyonları ise özellikle yanık hastalarında ağır klinik seyir göstermektedir (Spernovasilis ve ark., 2021). Enfeksiyonlara bağlı mortalite oranları; enfeksiyonun tipi, konağın bağışıklık durumu ve etkenin antibiyotik duyarlılığına göre değişmekle birlikte, VAP ve bakteriyemi gibi ciddi klinik durumlarda bu oran %30–50 arasında bildirilmektedir (Bassetti ve ark., 2018). Karbapenem dirençli *P. aeruginosa* (CRPA) suşlarının yaygınlaşması, tedavi seçeneklerini daha da sınırlandırarak mortalite riskini artırmaktadır (Jean ve ark., 2022).

Artan antibiyotik direnci, *P. aeruginosa*'yı DSÖ'nün "acil önlem alınması gereken kritik patojenler" listesine taşımıştır (Tacconelli ve ark., 2018). Bu bakterinin genetik plastisitesi, direnç genlerinin hızla edinilmesini kolaylaştırmakta; biyofilm oluşturma kapasitesi ve çevresel kalıcılığı ise dirençli suşların yayılımında önemli rol oynamaktadır (Gheorghita ve ark., 2023). Son yıllarda tüm genom dizileme gibi ileri moleküler teknikler, özellikle sağlık hizmeti ilişkili salgınlara takibi ve önlenmesinde etkili birer araç olarak öne çıkmaktadır (Hammoudi Halat ve Ayoub Moubareck, 2022).

2.1.3. Patogenez ve Virülans Faktörleri

P. aeruginosa, çok sayıda virülans faktörü ve bu faktörleri yöneten karmaşık düzenleyici ağlar sayesinde farklı çevresel koşullarda enfeksiyon oluşturabilen son derece adaptif bir patojendir (Tablo 2.2). İmmünsüprese bireylerde ve KF gibi kronik hastalık tablolarında gösterdiği kalıcılık, sahip olduğu çok yönlü patogenez stratejilerinin bir sonucudur (Qin ve ark., 2022).

Bu bakterinin dış zarı, patogenezde önemli işlevler üstlenen yapılar barındırır. Lipopolisakkarit (LPS), dış zarın temel bileşeni olup hücre bütünlüğünü korumakla kalmaz; aynı zamanda biyofilm oluşumu ve antimikrobiyal peptidlere karşı direnç geliştirme süreçlerinde kritik rol oynar (Ramsey ve ark., 2004; Chen ve ark., 2024). Dış membran vezikülleri (OMV'ler), yalnızca lipit ve genetik materyal taşımakla kalmaz, aynı zamanda bazik fosfataz, β -laktamaz, fosfolipaz C ve Cif gibi toksik bileşenleri de içerir

(Kulp ve Kuehn, 2010). Bu yapılar, konak bağışıklık sisteminden kaçış, epitel doku hasarının indüklenmesi ve biyofilm mimarisinin desteklenmesi gibi çeşitli patogenez mekanizmalarına katkı sağlar (Bomberger ve ark., 2009).

Tablo 2.2. *P. aeruginosa*'nın virülans faktörleri ve patogenezdaki rolleri.

Virülans Faktörü	İşlevi	Patogenezdaki Rolü	Referans
Lipopolisakkarit (LPS)	TLR4 aktivasyonu, kompleman direnci	Bağışıklık sistemi uyarımı, fagositozdan kaçış, biyofilm stabilitesi	Moradali ve ark., 2017
Dış membran vezikülleri (OMV)	Protein, toksin, sRNA taşınımı	Toksin iletimi, bağışıklık baskılama, biyofilm matürasyonu	Goman ve ark., 2025
Tip III Sekresyon Sistemi (T3SS)	ExoS, ExoT, ExoU, ExoY efektörlerinin iletimi	Hücre iskelet bozulması, apoptoz, inflamatuvar yanıt modülasyonu	Reuven ve ark., 2025
Tip VI Sekresyon Sistemi (T6SS)	Bakteriyel ve konak hedeflere toksin enjeksiyonu	Mikrobiyal rekabet, kolonizasyon, bağışıklık baskılama	Cianfanelli ve ark., 2016
Ekzotoksin A (ETA)	EF-2'yi ADP-ribozilasyonla inhibe eder	Protein sentezini durdurur, hücre ölümüne neden olur	Michalska ve Wolf, 2015
Piyosiyenin	Reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi	Oksidatif doku hasarı, silyer disfonksiyon	Lew ve ark., 2025
LasA / LasB elastazları	Elastin, kollajen, immünoglobulin parçalanması	Doku invazyonu, epitel bariyer bozulması	Cathcart ve ark., 2011
Alkalin proteaz (AprA)	Konak proteinlerinin parçalanması	Doku hasarı, bağışıklık kaçışı	Wang ve ark., 2025
Fosfolipaz C	Hücre zarlarını parçalama	Epitel hasarı, sitotoksisite	Akinboboye ve ark., 2025
Ramnolipidler	Hücre zarlarını ve biyofilm matrisini bozma	Biyofilm yayılımı, doku invazyonu	Abdel-Mawgoud ve ark., 2010

Virülansın en önemli yapısal araçlarından biri olan Tip III Salgılama Sistemi (T3SS), bakterinin konak hücreye toksik efektör proteinler enjekte etmesini sağlayarak "moleküler şırınga" işlevi görür. Bu sistem aracılığıyla taşınan ExoS, ExoT, ExoU ve

ExoY gibi efektör proteinler; hücre iskeletini hedef alarak bozulmaya neden olur veya fosfolipaz aktivitesiyle hızlı hücre lizisine yol açar (Hauser, 2009; Ullah ve ark., 2023).

Ayrıca Tip VI Salgılaşma Sistemi (T6SS), bakteriler arası rekabette ve konak hücre modifikasyonunda rol oynayan önemli bir yapı olup, *P. aeruginosa* genomunda üç alt tipte (H1-T6SS: bakterisidal, H2-T6SS: konak modifikasyonu, H3-T6SS: doku kolonizasyonu) tanımlanmıştır (Hood ve ark., 2010). Hücre dışı toksinler de virülans repertuarının önemli bileşenlerindedir. Ekzotoksin A (ETA), konak hücrede protein sentezini inhibe ederek apoptoz veya nekroz ile sonuçlanan hücre ölümüne neden olurken; piyosiyenin, oksidatif stres aracılığıyla hücre hasar oluşturur (Santamarina-Fernández ve ark., 2025). LasA ve LasB elastazları, alkalın proteaz, lipazlar, fosfolipaz C ve ramnolipidler gibi hidrolitik enzimler ise konak dokunun parçalanmasını kolaylaştırarak invazyonu destekler (Jurado-Martín ve ark., 2021). Ayrıca sideroforlar olan piyoverdin ve piyoşelin, demir alımını düzenlemenin yanı sıra quorum sensing (QS) sistemleri aracılığıyla virülans genlerinin ekspresyonunu da etkiler (Cox ve Adams, 1985).

Antibiyotik direnci ve virülans arasında köprü kuran mekanizmalardan biri de RND (Resistance-Nodulation-Division) ailesine ait efflux pompa sistemleridir. MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN ve MexXY-OprM gibi sistemler yalnızca antibiyotiklerin dışı atılımını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda QS sinyallerinin ve virülans ile ilişkili metabolitlerin düzenlenmesinde de görev alır (Phan ve ark., 2015).

P. aeruginosa'nın kronik enfeksiyonlardaki kalıcılığı büyük ölçüde biyofilm yapısına dayanmaktadır. Biyofilm matriksi; Psl, Pel ve aljinat gibi ekzopolisakkaritler, hücre dışı DNA (eDNA) ve membran veziküllerinden oluşur (Habib ve ark., 2025). Biyofilm oluşumu, Las, Rhl ve Pqs QS sistemleri ile GacS/GacA, RetS ve LadS gibi iki bileşenli düzenleyici sistemler tarafından kontrol edilmektedir (Dupont ve ark., 2025).

2.1.4. Klinik Hastalıklar

P. aeruginosa, hem lokalize yüzey enfeksiyonlarına hem de invaziv sistemik enfeksiyonlara yol açabilen önemli bir fırsatçı patojendir. Virülans faktörleri, biyofilm oluşturma kapasitesi ve artan antibiyotik direnci, özellikle immünsüprese bireylerde ciddi klinik tablolara neden olmasına zemin hazırlar (Mulcahy ve ark., 2014). Enfeksiyonların klinik manifestasyonu, konağın bağışıklık durumu, enfeksiyonun invazyon derinliği ve enfekte dokunun özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterir.

P. aeruginosa, birçok lokal enfeksiyonda özellikle doku hasarının olduğu ya da bariyer bütünlüğünün bozulduğu durumlarda öne çıkar. Lokal enfeksiyonlar arasında en sık karşılaşılanlar; dış kulak yolunun tutulduğu otitis eksterna (özellikle “yüzücü kulağı” olarak bilinen form), kontakt lens kullanımına bağlı gelişen akut keratit vakaları ve cerrahi insizyon bölgelerinde, diyabetik ayak ülserlerinde veya yanık yaralarında ortaya çıkan deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarıdır (Treviño González ve ark., 2021; Al-Mujaini ve ark., 2009; Ghanbarzadeh Corehtash ve ark., 2015). Ayrıca, *P. aeruginosa*, üriner kateterlerin uzun süreli kullanımı ile ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarına da neden olur; bu enfeksiyonlar sıklıkla biyofilm oluşumu nedeniyle tedaviye dirençli ve kronik seyirlidir (Flores-Mireles ve ark., 2019).

Sistemik enfeksiyonlar ise daha ciddi klinik sonuçlara yol açabilmektedir. Özellikle VAP, yoğun bakım hastalarında yüksek mortalite riski taşır (Koulenti ve ark., 2017). Kan dolaşımı enfeksiyonları (bakteriyemi ve sepsis) *P. aeruginosa*'nın en ciddi komplikasyonları arasında yer almakta olup hızlı ilerleyen sistemik inflamatuvar yanıt ve organ yetmezliklerine yol açabilir (Bassetti ve ark., 2018). Nadir olmakla birlikte, merkezi sinir sistemini etkileyen menenjit ve beyin apsesi gibi enfeksiyonlar, genellikle travma, cerrahi müdahale veya ventriküloperitoneal şantlar aracılığıyla gelişmektedir (van de Beek ve ark., 2016). Gastrointestinal sistem enfeksiyonları ise çoğunlukla immatür immün sisteme sahip yenidoğanlarda, özellikle de nekrotizan enterokolit gibi hayatı tehdit eden tablolar şeklinde görülür (Anderson ve ark., 2016).

2.1.5. Laboratuvar Tanısı

P. aeruginosa tanısı; konvansiyonel kültür tekniklerinden immünolojik testlere, moleküler yöntemlerden ileri tanı teknolojilerine kadar geniş bir yelpazede gerçekleştirilebilmektedir (Capatina ve ark., 2022). Geleneksel olarak, tanı süreci seçici besiyerlerinde yapılan kültürlerle dayanır. Özellikle setrimid agar gibi besiyerlerinde selektif olarak üreyebilmesi, tanılamada avantaj sağlar. Bu bakteriye özgü pigment üretimi —piyosiyanın (mavi-yeşil) ve piyoverdin (sarı-yeşil)— tanıyı destekleyici önemli fenotipik özelliklerdir. Ayrıca, oksidaz pozitifliği, 42 °C’de üreyebilme yeteneği ve karakteristik üzüm benzeri kokusu da tanılamada ayırt edici fenotipik kriterlerdendir (Lowbury ve Collins, 1955; Sarkheili ve ark., 2025).

Tanının doğruluğunu artırmak amacıyla kullanılan otomatize mikrobiyolojik sistemler (Vitek 2, Phoenix 100), hem hızlı tür tanılaması hem de antibiyotik duyarlılık testleri açısından avantaj sağlamaktadır. Ancak mukoid fenotip gösteren suşlarda bu sistemlerin sonuçları doğrulama gerektirebilir (Juretschko ve ark., 2007).

İmmünolojik yöntemler de tanı sürecinde destekleyici rol oynamaktadır. Enzim bağlantılı immünosorbent test (ELISA) ve immüno blotlama gibi teknikler, *P. aeruginosa*’nın lipopolisakkarit (LPS) yapısı ya da ekzotoksinlerine karşı gelişen özgül antikorların saptanmasında kullanılır. Ayrıca, monoklonal antikor temelli direkt immüno floresans testleri, özellikle balgam gibi solunum örneklerinde hızlı ve spesifik tanı sağlamaktadır (Lam ve ark., 1989; Mauch ve ark., 2014).

Moleküler biyolojiye dayalı yöntemler ise yüksek duyarlılık ve özgüllük düzeyleriyle dikkat çekmektedir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), gerçek zamanlı PCR (qPCR), izotermal amplifikasyon (LAMP) ve floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) gibi teknikler, hedef gen dizilerinin doğrudan tespitiyle hızlı sonuç verir. Bu nedenle, gyrB, oprL ve ecfX gibi korunmuş gen bölgelerinin amplifikasyonu, %100’e yakın özgüllükle tanı koymayı mümkün kılmaktadır (Deschaght ve ark., 2011; Mao ve ark., 2015).

Son yıllarda gelişen alternatif yaklaşımlar da tanı sürecine entegre edilmektedir. Elektrokimyasal sensörler ile piyosiyanın gibi spesifik metabolitlerin tespiti, hızlı ve kantitatif değerlendirme imkânı sunmaktadır (Webster ve ark., 2014). Ayrıca, matriks destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS), yüksek özgüllük ve hız avantajı ile tanı laboratuvarlarında yaygın biçimde kullanılmaya başlanmıştır (Kačániová ve ark., 2019).

2.1.6. Tedavi ve Antibiyotik Direnci

P. aeruginosa enfeksiyonlarının tedavisinde en uygun yaklaşım, her izolatin antimikrobiyal duyarlılık profilinin belirlenmesine dayalı bireyselleştirilmiş tedavi stratejileridir. Özellikle şiddetli enfeksiyonlarda, ampirik tedavi olarak antipseudomonal bir penisilin (örneğin piperasilin/tazobaktam) ile bir aminoglikozit (TOB/gentamisin [GEN]) kombinasyonu önerilmektedir (Tamma ve ark., 2022). Seftazidim (SEF) gibi üçüncü kuşak sefalosporinler de etkili olabilmekle birlikte, ÇİD veya YİD suşlara karşı COL çoğunlukla "son çare" ajan olarak kullanılmaktadır (Tsuji ve ark., 2019).

P. aeruginosa'nın antibiyotik direnci, çok katmanlı ve kompleks mekanizmalar üzerinden gelişmektedir (Tablo 2.3). Bu bakterinin doğal direnci, dış zarın düşük geçirgenliği, RND ailesine ait efflux pompa sistemleri ve kromozomal kaynaklı AmpC β -laktamaz üretimi gibi faktörlere dayanmaktadır (Morita ve ark., 2012). Öte yandan, edinilmiş direnç mekanizmaları, genişlemiş spektrumlu β -laktamazlar (ESBL'ler), metallo- β -laktamazlar (VIM, IMP, NDM), DNA giraz ve topoizomerez IV genlerinde (*gyrA*, *parC*) meydana gelen mutasyonlar ve plazmid kökenli direnç genlerinin kazanımı ile ilişkilidir (Pachori ve ark., 2019).

Klinik *P. aeruginosa* izolatlarında β -laktam antibiyotiklere karşı direnç oranları %20–40 arasında değişmekte olup; karbapenem direnci ise coğrafi dağılıma bağlı olarak %5 ile %50 arasında bildirilmektedir (Hu ve ark., 2020; Zeng ve ark., 2023). Bu yüksek direnç oranları, tedavi başarısını önemli ölçüde etkilemekte ve alternatif tedavi seçeneklerini gündeme getirmektedir.

Tablo 2.3. *P. aeruginosa*'nın direnç mekanizmaları.

Antibiyotik Sınıfı	Direnç Mekanizması	Klinik Etki	Referanslar
β-Laktamlar	1. Zar geçirgenliğinin azalması	Karbapenem direnci (MEM, IMP)	Chevalier ve ark., 2017
	2. Efflux pompalarının aşırı ifadesi	Çoklu ilaç direnci (SEF, aztreonam)	Morita ve ark., 2012
	3. β-Laktamaz üretimi	Geniş spektrumlu β-laktam direnci	Pachori ve ark., 2019
Aminoglikozitler	1. Enzimatik modifikasyon	GEN, TOB, AMC direnci	Ramirez ve Tolmasky, 2010
	2. Efflux pompaları	Pano-aminoglikozit direnci	Morita ve ark., 2012
Florokinolonlar	1. Hedef bölge mutasyonları	CIP, LEV direnci	Pachori ve ark., 2019
	2. Efflux pompaları	Çoklu ilaç direnci	Morita ve ark., 2012
Polimiksinler	1. LPS modifikasyonu	COL direnci	El-Sayed Ahmed ve ark., 2020
Fosfomisin	1. Hedef enzim mutasyonu	FOX direnci	Falagas ve ark., 2016
Yeni Ajanlar	1. β-Laktamaz varyantları	Yeni β-laktam/β-laktamaz inhibitörlerine direnç	Bassetti ve ark., 2018

Seftazidim-avibaktam, seftolozan-tazobaktam, imipenem-relebaktam ve sefidierokol gibi yeni nesil antibakteriyel ajanlar, ÇİD/YİD *P. aeruginosa* suşlarına karşı umut vadeden tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır (Bassetti ve ark., 2018; Zhanel ve ark., 2019). Bununla birlikte kolistin gibi antibiyotikler, nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi önemli yan etkilerine rağmen dirençli enfeksiyonlarda sıklıkla kombinasyon tedavilerinde yer bulabilmektedir.

2.1.7. Korunma ve Kontrol

P. aeruginosa'ya bağlı sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonların önlenmesinde, etkili enfeksiyon kontrol önlemleri temel bir gerekliliktir. Bu kapsamda el hijyenine uyum, hastane enfeksiyonlarının azaltılmasında en kritik faktörlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Alkol bazlı el antiseptiklerinin *P. aeruginosa*'ya karşı %99.99 oranında etkili olduğu gösterilmiştir (Kampf, 2018). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen “5

An” el hijyeni protokolünün düzenli olarak uygulanması, sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon oranlarını %50–60 oranında azaltabilmektedir (Mathur ve ark., 2022).

Çevresel dekontaminasyonda da etkili dezenfeksiyon stratejileri büyük önem taşır. %0.55’lik sodyum hipoklorit solüsyonları, özellikle biyofilm oluşturan *P. aeruginosa* suşlarına karşı en etkili dezenfektanlar arasında yer almaktadır (Otter ve ark., 2013). Bunun yanı sıra, invaziv cihazların kullanım süresinin sınırlandırılması da enfeksiyon riskini azaltmak açısından önemlidir. Örneğin, ventilatör devrelerinin 48–72 saat aralıklarla değiştirilmesi, VAP insidansını %40–45 oranında düşürebilmektedir (Lorente ve ark., 2004).

Dirençli suşların yayılımını önlemek amacıyla uygulanan temas önlemleri ve kohort izolasyonu da etkili korunma stratejilerindedir. Özellikle CRPA vakalarında, bu önlemler yayılımı %60–70 oranında azaltabilmektedir (Drees ve ark., 2014). Ayrıca, aktif sürveyans kültürlerinin uygulanması ve antimikrobiyal yönetim programlarının entegrasyonu, direnç gelişiminin önlenmesi ve antibiyotiklerin rasyonel kullanımı açısından kilit rol oynamaktadır (Harris ve ark., 2016; Baur ve ark., 2017).

2.2. Bakteriyofaj

Bakteriyofajların antimikrobiyal tedavi aracı olarak kullanımı, bir yüzyılı aşkın süredir süregelen ve dönemsel değişim gösteren bir bilimsel evrim sürecine sahiptir. Bu tarihsel gelişim üç ana dönemde incelenebilir: İlk dönem (1919–1950), bakteriyofajların keşfiyle birlikte klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanıldığı ve “Bakteriyofaj Terapisi I” olarak anılan erken dönemdir. İkinci dönem (1950–2005), antibiyotiklerin yaygınlaşmasıyla bakteriyofajlara olan ilginin azaldığı “karanlık çağ” niteliğindedir. Üçüncü ve güncel dönem ise, antibiyotik direncinin küresel bir kriz haline gelmesiyle birlikte bakteriyofajların yeniden bilimsel gündeme taşındığı “Bakteriyofaj Terapisi II” dönemidir (Rimon ve ark., 2022). Bu tarihsel çerçeve, bakteriyofajlara yönelik ilginin bilimsel, politik ve ekonomik faktörlerle nasıl şekillendiğini anlamada önem taşımaktadır.

2.2.1. Tarihçe

Bakteriyofajlara dair ilk gözlemler, 1896'da Hankin'in Hindistan'da koleraya karşı etkili, filtrelenebilir ve ısıya duyarlı bir ajan tanımlamasıyla başlamıştır (Hankin, 1896; Van Helvoort, 1992). 1915'te Twort'un stafilokok kültürlerinde gözlemlediği lizatlar bu bulguları desteklemiş, ancak sistematik bir yaklaşıma dönüştürülememiştir (Twort, 1936). D'Hérelle'in 1917'de Shigella içeren dışkı örneklerinde bakterisidal aktiviteye sahip bir ajan tanımlaması ve bunu "bakteriyofaj" olarak adlandırması, modern bakteriyofaj biliminin temelini oluşturmuştur (d'Hérelle, 1961; Sulakvelidze ve ark., 2001).

1920'li yıllardan itibaren bakteriyofajlar çeşitli enfeksiyonların tedavisinde klinik olarak kullanılmaya başlanmış, Hindistan, Brezilya ve Sovyetler Birliği gibi ülkelerde geniş çaplı uygulamalar yapılmıştır (Compton, 1942; Gordillo Altamirano ve Barr, 2019). Tiflis'teki Eliava Enstitüsü bu alandaki öncü merkezlerden biri olmuştur. Ancak antibiyotiklerin keşfiyle birlikte Batı'da faj terapisine olan ilgi hızla azalmış, bilimsel çevrelerde yöntem güvenilirliğine dair tartışmalar ortaya çıkmıştır (Salmond ve Fineran, 2015). Sovyetler Birliği'nde ise faj araştırmaları devam etmiş, ancak bu çalışmalar ideolojik önyargılar nedeniyle Batı'da uzun süre görmezden gelinmiştir.

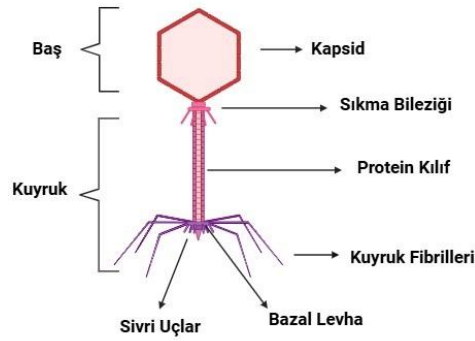
Bakteriyofajlar yalnızca terapötik değil, aynı zamanda moleküler biyolojinin temelini oluşturan model sistemler olarak da önem kazanmıştır. Luria ve Delbrück'ün fluktuasyon testi, Hershey-Chase deneyleri ve Benzer'in genetik haritalama çalışmaları bakteriyofajların genetik mekanizmaların aydınlatılmasındaki rolünü göstermiştir (Hershey ve Chase, 1952). Antibiyotik direncinin artışıyla birlikte 1980'lerden itibaren bakteriyofajlara olan ilgi yeniden canlanmış ve 2006'da FDA'nın ListShield ürününü onaylamasıyla klinik geçerlilik kazanmaya başlamıştır (Carlton ve ark., 2005; Schooley ve ark., 2017).

Günümüzde bakteriyofajlar, biyofilm çözülmesi, hedefe özgü moleküllerin taşınması ve CRISPR-Cas sistemlerinin anlaşılmasında da kullanılan biyoteknolojik araçlar olarak değerlendirilmektedir (Lu ve Collins, 2007; Barrangou ve Doudna, 2016).

Tüm bu gelişmeler, bakteriyofajların yalnızca antimikrobiyal değil, aynı zamanda genetik ve biyoteknolojik alanlarda da kilit rol oynadığını göstermektedir.

2.2.2. Yapı ve Sınıflandırma

Bakteriyofajların sınıflandırılmasında ilk yaklaşımlar morfolojik ve fenotipik özelliklere dayalıydı (Şekil 2.1). Elektron mikroskopisi ile kapsid ve kuyruk yapılarının gözlemlenmesiyle Myoviridae, Siphoviridae ve Podoviridae gibi aileler tanımlanmıştır (Ackermann, 2011). Ancak bu morfolojik sınıflamalar, genomik verilerin yaygınlaşmasıyla yetersiz kalmıştır. Günümüzde, filogenetik temelli ve monofiletik kriterlere dayanan sınıflandırmalar benimsenmektedir (Simmonds ve ark., 2023).



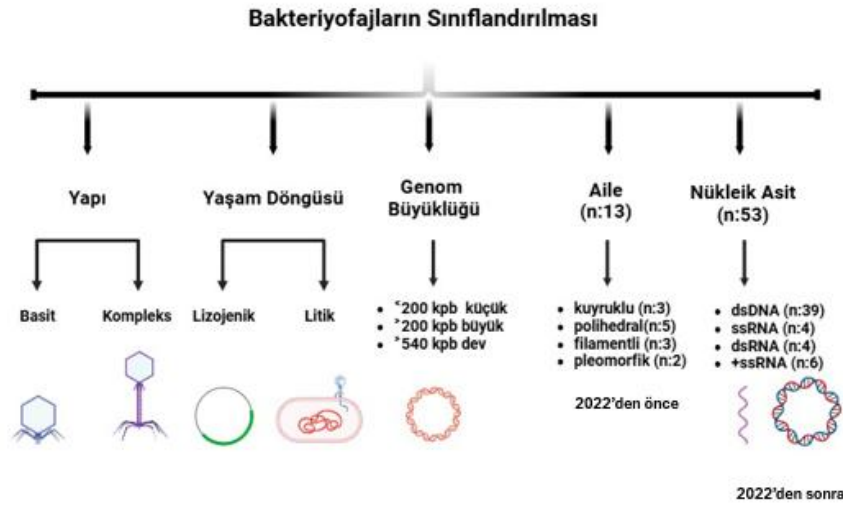
Şekil 2.1. Bakteriyofaj yapısı.

Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi (ICTV), 2022 yılında gerçekleştirdiği taksonomik revizyonla, önceki morfolojik temelli aileleri sistematikten çıkarmış ve yerine genetik temelli Caudoviricetes sınıfını getirmiştir. Yeni sınıflandırmada tür düzeyinde %95, cins düzeyinde %70 genom benzerliği gerekmektedir (Turner ve ark., 2023). Ayrıca bakteriyofaj türleri için binomiyal adlandırma sistemine geçilmiştir.

Güncel ICTV verilerine göre 47 aile, 1.199 cins ve 3.601 tür tanımlanmıştır. Crassvirales takımı altında yer alan crAss-fajlar gibi bazı faj grupları, insan mikrobiyotasında yaygın bulunmaları nedeniyle özel olarak sınıflandırılmıştır (Şekil 2.2).

Buna karşın “gubaphage” kladı gibi henüz sisteme entegre edilememiş gruplar da mevcuttur (Turner ve ark., 2023).

Genetik çeşitliliğin yüksekliği, yatay gen transferi ve rekombinasyon olayları, bakteriyofajların taksonomik sınıflandırılmasını zorlaştırmaktadır (Casjens ve Hendrix, 2015). Bu nedenle proteomik analizler ve biyoinformatik araçlar (VIRIDIC, vContact2 vb.) sınıflandırma sürecinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (Bin Jang ve ark., 2019; Moraru ve ark., 2020).



Şekil 2.2. Bakteriyofajların sınıflandırılması (Segundo-Arizmendi ve ark., 2025).

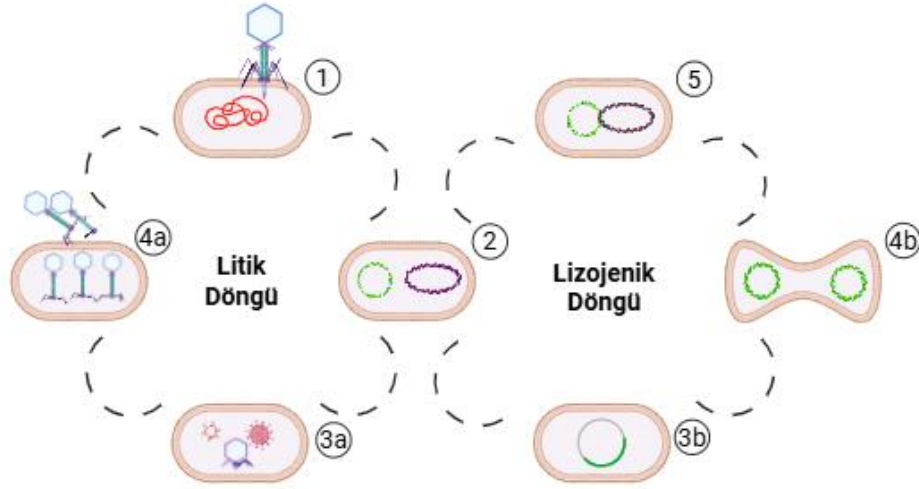
2.2.3. Yaşam Döngüsü

Bakteriyofajlar, bakterileri enfekte ederek çoğalan virüslerdir ve yaşam döngüleri litik ve lizojenik olmak üzere iki temel stratejiye ayrılır. Litik döngüde bakteriyofajlar konak hücreyi lizis ile parçalayarak yeni viryonlar üretir. Adsorpsiyon, penetrasyon, gen ekspresyonu, montaj ve lizis aşamalarını içeren bu süreç, terapötik kullanımda tercih edilen hızlı ve öldürücü etkisiyle dikkat çeker (Clokie ve ark., 2011; Olszak ve ark., 2017).

Lizojenik döngüde ise bakteriyofaj genomu konak DNA'sına entegre olur ve profaj formunda hücreyle birlikte pasif şekilde çoğalır. Çevresel stres faktörleriyle litik döngüye

geçiş tetiklenebilir (Howard-Varona ve ark., 2017). Bu süreçte bakteriyofajlar konak hücreye antibiyotik direnç genleri gibi genetik öğeler de aktarabilir (Keen, 2012).

Bazı bakteriyofajlar psödolizojenik davranış sergileyerek geçici olarak inaktif kalabilir ve uygun koşullar sağlandığında çoğalmaya devam edebilir (Cenens ve ark., 2013). Yaşam döngüsüne dair bu esneklik, bakteriyofajların biyolojik çeşitliliğini ve uyum kabiliyetini artıran temel özelliklerdendir.



Şekil 2.3. Bakteriyofaj yaşam döngüsü.

Bakteriyofajların yaşam döngülerine ilişkin süreç Şekil 2.3'te şematik olarak sunulmaktadır. Sürecin ilk aşamasında (1), bakteriyofaj partikülü, konak bakterinin hücre yüzeyinde bulunan özgül reseptör moleküllerine yüksek afinite ile bağlanarak adsorpsiyonu gerçekleştirir ve ardından genetik materyalini hücre içerisine enjekte eder. Devam eden aşamada (2), bakteriyofaj DNA'sı sitoplazmada halkasal bir yapı kazanarak replikasyon için uygun konformasyona ulaşır ve bu noktada iki olası çoğalma stratejisinden birine yönelir. Litik döngüye geçiş halinde (3a), bakteriyofaj genomu konak hücrede çoğaltılır, yapısal proteinlerin sentezi gerçekleştirilir ve bu yapı taşlarının bir araya gelmesiyle olgun bakteriyofaj partikülleri oluşturulur. Alternatif olarak (3b), lizojenik döngünün tercih edilmesi durumunda, bakteriyofaj DNA'sı konak bakterinin kromozomal DNA'sına entegre olur ve profaj adı verilen latent bir formda hücre genomunda stabil bir şekilde varlığını sürdürür. Litik döngünün ilerleyen safhasında (4a), bakteriyofaj replikasyonu tamamlandığında, hücre içinde biriken olgun viryonlar holin ve

endolizin gibi faj kaynaklı lizis proteinlerinin etkisiyle konak hücrenin parçalanmasına neden olur ve yüzlerce yeni bakteriyofaj partikülü çevre ortama salınır. Diğer yandan (4b), lizojenik fazda bulunan ve kromozomal DNA'ya entegre halde varlığını sürdüren profaj, konak hücre bölünmeleriyle birlikte nesilden nesile aktarılır ve bu süreçte bakteriyofaj genomu herhangi bir yapısal partikül oluşturmaksızın replikasyona katılır. Sürecin son basamağında (5), konak hücrenin maruz kaldığı çevresel stres koşulları (örneğin UV ışını, oksidatif ajanlar veya antibiyotikler gibi) profajın indüksiyonunu tetikleyebilir; böylece bakteriyofaj DNA'sı konak genomundan eksiz edilerek litik döngü yeniden başlatılır ve aktif faj üretimi tekrar devreye girer.

2.2.4. Bakteriyofaj Terapisi

Antibiyotik direncinin artışıyla birlikte bakteriyofajlar yeniden alternatif tedavi aracı olarak önem kazanmıştır (Palma ve Qi, 2024; Kim ve ark., 2025). Gürcistan ve Polonya gibi ülkelerde tarihsel olarak süregelen bakteriyofaj terapisi, günümüzde Batı'da da yeniden benimsenmeye başlanmıştır. Günümüzde bakteriyofaj terapisi iki ana strateji çerçevesinde uygulanmaktadır: bireyselleştirilmiş monofaj uygulamaları ve sabit faj kokteylleri. İlki, enfeksiyon etkenine özel olarak izole edilen bakteriyofajların doğrudan kullanımıyla gerçekleştirilirken; ikincisi, tanımlı patojen gruplarına karşı geliştirilmiş bakteriyofaj kokteyllerinin kullanımıyla uygulanmaktadır (Hatfull ve ark., 2022).

Son yıllarda bakteriyofajların solunum yolu, yara, ortopedik implant ve üriner sistem enfeksiyonlarında yüksek başarı oranlarıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Kim ve ark., 2025, Chang ve ark., 2018; Rimon ve ark., 2023). Klinik kullanım öncesi saflaştırma, endotoksin arındırma, genetik karakterizasyon ve stabilite gibi kalite kontrol adımları kritik önemdedir (Luong ve ark., 2020).

Bakteriyofajların antibiyotiklerle kombinasyonu, sinerjistik etki oluşturarak bakteriyel yükü azaltabilir ve direnç gelişimini engelleyebilir. Bu sinerji, fajların enfeksiyon sonrası bakteriyel metabolizmayı değiştirmesi ve hücre duvarında hedeflerin açığa çıkmasıyla ilişkilidir (Kortright ve ark., 2019). Ayrıca bakteriyofajların dışa atım pompalarını hedeflemesi, bakterilerin antibiyotiklere karşı duyarlılığını artırabilir (Abedon, 2019).

Tüm bu avantajlara karşın, klinik uygulamalarda karşılaşılan en büyük zorluklar arasında standart üretim protokollerinin eksikliği ve ruhsatlandırma süreçlerinin karmaşıklığı yer almaktadır. Yedi randomize kontrollü çalışmadan sadece ikisinde anlamlı klinik başarı elde edilebilmiş olması, faj-patojen uyumsuzluğu ve protokol heterojenliği gibi faktörlerin önemini ortaya koymaktadır (Kim ve ark., 2025).

Yapay zekâ destekli genom analizleri ve hücre içermeyen sistemlerle faj üretimi gibi yenilikçi yaklaşımlar, bu tedavi stratejisinin daha yaygın ve etkili biçimde uygulanmasının önünü açmaktadır (Clokier, 2021).

2.3. Antimikrobiyal Maddeler

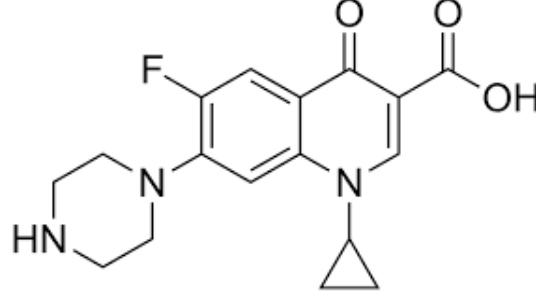
Bu çalışmada *P. aeruginosa*'ya karşı *in vitro* etkinlikleri ve bakteriyofajlarla potansiyel sinerjistik etkileşimleri değerlendirilmek üzere farklı etki mekanizmalarına sahip dört antibiyotik (CIP, COL, MEM ve TOB) ile iki antimikrobiyal peptid (MUR ve PEX) seçilmiştir. Seçilen ajanlar, yalnızca klinik öneme sahip olmaları değil, aynı zamanda hücresel hedefleri ve bakterisidal etkileri bakımından birbirini tamamlayan özellikler göstermeleri açısından da önem taşımaktadır. Bu çeşitlilik, kombinasyon tedavilerinin olası sinerjik etkilerini daha geniş bir perspektiften değerlendirme olanağı sunmaktadır.

2.3.1. Antibiyotikler

Siprofloksasin

Florokinolon sınıfının ikinci kuşak bir temsilcisi olan CIP (Şekil 2.3), DNA giraz ve topoizomeraz IV enzimlerini inhibe ederek DNA replikasyonunu bozar ve bakteriyel hücre ölümüne yol açar (Shariati ve ark., 2022). Gram negatif bakterilerde DNA giraz, gram pozitiflerde ise topoizomeraz IV üzerinde daha baskın etki gösterir (Aldred ve ark., 2014). Geniş spektrumlu etkisi, güçlü oral biyoyararlanımı ve iyi doku penetrasyonu sayesinde solunum, üriner ve gastrointestinal sistem enfeksiyonlarında yaygın biçimde

kullanılmaktadır (Ball, 2000; Fasugba ve ark., 2015). Ayrıca biyoterörizm kaynaklı enfeksiyonlarda da stratejik öneme sahiptir (Price ve ark., 2003).



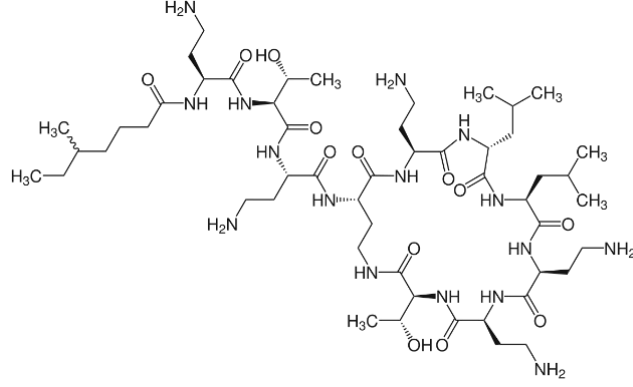
Şekil 2.4. Siprofloksasinin kimyasal yapısı.

P. aeruginosa'ya karşı en sık tercih edilen florokinolonlardan biri olmasına rağmen, CIP'e karşı direnç oranları dünya genelinde ve Türkiye'de artış göstermektedir. Örneğin, Birleşik Krallık'ta %30'a varan direnç oranları bildirilmektedir (Rehman ve ark., 2019). Türkiye'de yapılan çalışmalar bu oranın %24–35 arasında değiştiğini göstermektedir (Behçet ve ark., 2019; Akel ve ark., 2021).

Kolistin

Polimiksin E olarak da bilinen COL (Şekil 2.5), Gram negatif bakterilerin dış zarında yer alan LPS yapısına bağlanarak zar geçirgenliğini bozar ve hücre içeriğinin dışarı sızmasına neden olur (Velkov ve ark., 2013). Bu etkiyi, pozitif yüklü amin grupları aracılığıyla elektrostatik bağlarla gerçekleştirir. COL, 1950'li yıllarda klinik kullanıma girmiş; 1970'lerde toksisite nedeniyle terk edilmiş ancak ÇİD bakterilerin artışıyla son yıllarda yeniden terapötik bir seçenek haline gelmiştir (Falagas ve ark., 2005; Paterson ve Harris, 2016).

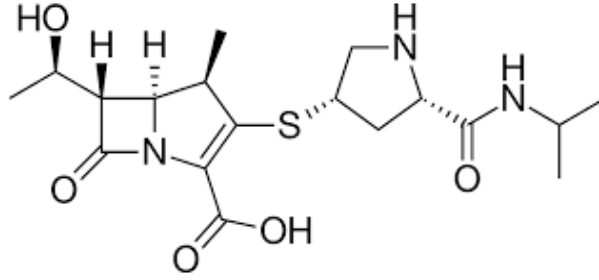
COL'e karşı direnç genellikle LPS yapısındaki değişikliklerle ilişkilidir. Bu değişiklikler *pmrA*, *pmrB* ve *mgrB* gibi genlerdeki mutasyonlara dayanır. Ayrıca plazmid kaynaklı *mcr* genleri, COL direncinin yatay transferle yayılmasına neden olarak halk sağlığı açısından ciddi risk oluşturur (Zhi ve ark., 2016; Bahçeci ve ark., 2025).



Şekil 2.5. Kolistinin kimyasal yapısı.

Meropenem

Geniş spektrumlu bir karbapenem olan MEM (Şekil 2.6), penisilin bağlayıcı proteinlerle etkileşerek bakteriyel hücre duvarı sentezini inhibe eder ve hücre lizisine yol açar (Hurst ve Lamb, 2000). Gram negatif bakterilere karşı güçlü etkisi nedeniyle özellikle yoğun bakım hastalarında, immünsüprese bireylerde ve dirençli enfeksiyonlarda sıklıkla tercih edilmektedir (Zhanel ve ark., 1998).

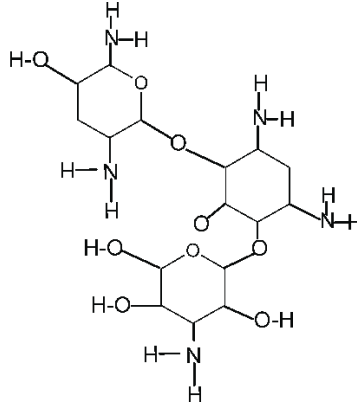


Şekil 2.6. Meropenemin kimyasal yapısı.

Direnç gelişimi karbapenemaz üretimi (NDM, KPC, VIM) ve dış zar geçirgenliğinde azalma (örneğin OprD porin kaybı) gibi mekanizmalarla ilişkilidir (Chotimakorn ve ark., 2025). Türkiye'de yapılan çalışmalarda MEM direncinin 1990'lı yıllardaki %4 düzeyinden, 2018–2023 döneminde %30'un üzerine çıktığı bildirilmektedir (Beder ve ark., 2024).

Tobramisin

Aminoglikozid sınıfına ait bir antibiyotik olan TOB (Şekil 2.7), ribozomun 30S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe eder ve bakteriyel hücre ölümüne yol açar (Li ve Schneider-Futschik, 2023). Ayrıca hücre zarı geçirgenliğini bozarak içerik sızıntısına neden olur. Hem intravenöz hem de inhalasyon formülasyonları bulunan TOB, özellikle KF hastalarında *P. aeruginosa* enfeksiyonlarının tedavisinde önemlidir (Ratjen ve ark., 2001; Fiel ve Roesch, 2022).



Şekil 2.7. Tobramisinin kimyasal yapısı.

Direnç mekanizmaları arasında aminoglikozid modifiye edici enzim üretimi, ribozomal hedef mutasyonları ve dışa atım pompalarının (*mexXY*) aşırı ekspresyonu yer almaktadır (Aghazadeh ve ark., 2014). Türkiye'de yapılan bir çalışmada TOB direnci yalnızca %4,1 olarak saptanmıştır (Beder ve ark., 2024).

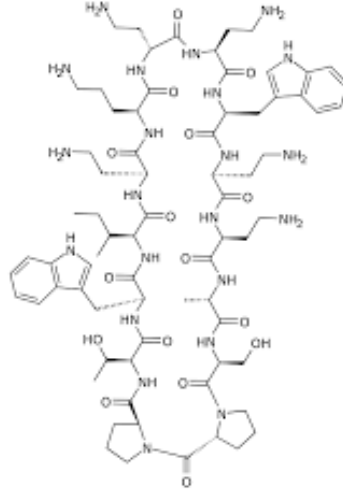
2.3.2. Antimikrobiyal Peptidler

Murepavadin

MUR (Şekil 2.8), Gram negatif bakterilerin dış zar biyogenezinde görevli LptD proteinini hedefleyen ve *P. aeruginosa*'ya özgü geliştirilmiş ilk peptidomimetik ajanlardan biridir (Martin-Loeches ve ark., 2018). Doğal bir AMP olan protegrin I'in (PG-1) yapısal özelliklerinden ilham alınarak tasarlanmıştır. PG-1'in güçlü antimikrobiyal

etkisine karşın yüksek hemolitik potansiyeli, MUR'nin daha seçici ve güvenli bir versiyon olarak geliştirilmesini gerekli kılmıştır (Wach ve ark., 2018).

MUR, bakteriyel membranı doğrudan delmeden LPS taşınımını engeller; böylece dış zar bütünlüğünü bozar ve hücre ölümüne neden olur. β -hairpin konformasyonuna sahip molekül, Trp2 ve Trp8 gibi aromatik kalıntılarla hedef bağlanmasını kuvvetlendirir (Wei ve ark., 2024b). Klinik olarak hem intravenöz hem de inhalasyon formülasyonları geliştirilmiştir. İnhalasyon formu özellikle kistik fibrozis hastalarında uygulanırken, sistemik enfeksiyonlar için IV form tercih edilmektedir (Sader ve ark., 2018a).

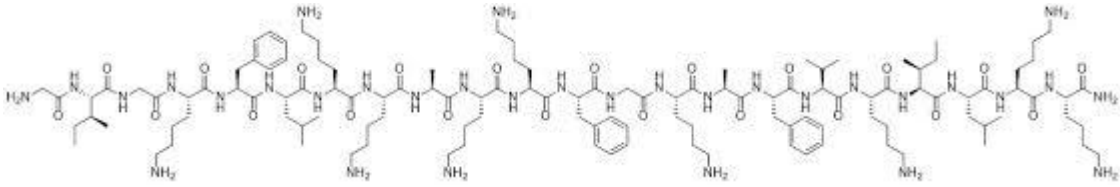


Şekil 2.8. Murepavadinin kimyasal yapısı.

Direnç gelişimi çoğunlukla LptD proteininde meydana gelen mutasyonlar ile ilişkilidir. Bu değişiklikler, MUR'nin bağlanma etkinliğini azaltarak bakteriyel duyarlılığı düşürebilir (Dale ve ark., 2018). Ancak MUR, klasik antibiyotiklerle çapraz direnç göstermemesi ve özgül etki mekanizması sayesinde, dirençli suşlara karşı terapötik açıdan önemli bir alternatif sunmaktadır (Hernández-García ve ark., 2024).

Peksiganan

PEX (Şekil 2.9), *Xenopus laevis* adlı Afrika pençeli kurbağasından izole edilen doğal bir antimikrobiyal peptit olan magainin-2'nin sentetik türevidir (Zaslhoff, 2002). Geliştirme sürecinde, özellikle diyabetik ayak enfeksiyonlarının topikal tedavisine yönelik %0,8'lik krem formu oluşturulmuş ve Faz III çalışmalarda değerlendirilmiştir (Lipsky ve ark., 2008). Ancak bu çalışmalar, PEX'in standart yara bakımına anlamlı bir üstünlük sağlamadığını göstermiş ve FDA onayı alınamamıştır.



Şekil 2.9. Peksigananın kimyasal yapısı.

PEX, bakteriyel hücre zarının anyonik fosfolipidlerine bağlanarak membran destabilizasyonuna yol açar, gözenek oluşumunu indükler ve hızlı bakterisidal etki sağlar (Brogden ve Brogden, 2011). Hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir ve özellikle dirençli suşlara karşı potansiyel taşımaktadır (Ge ve ark., 1999; Gomes ve ark., 2020).

PEX'e karşı direnç gelişimi oldukça sınırlıdır. Bunun nedeni, klasik hedef proteinler yerine membran yapısını hedef almasıdır. Ancak bazı teorik mekanizmalar —örneğin membran kompozisyonunun değişmesi veya reseptörlerin azalması— bu yönde potansiyel risklerin varlığını düşündürmektedir (Hancock ve Sahl, 2006).

2.4. Bakteriyofaj Antibiyotik/Peptid Sinerjisi

ÇİD *P. aeruginosa* izolatlarının tedavisinde karşılaşılan zorluklar, bakteriyofaj-antibiyotik/peptid kombinasyonunu giderek daha cazip bir strateji haline getirmiştir. Bakteriyofajlar ve antibakteriyel ajanlar farklı hedeflere yönelerek birbirlerinin eksiklerini

tamamlayabilir; bu da sinerjistik bir etki oluşturarak tedavi başarısını artırabilir (Abedon, 2019).

Örneğin, sub-MİK verilen beta-laktam antibiyotiklerin *P. aeruginosa* hücrelerinin uzamasına neden olduğu ve bu sayede fajların enfekte hücre başına daha fazla faj üretebildiği gösterilmiştir (Comeau ve ark., 2007). Ayrıca bazı bakteriyofajlar, bakteriyel dışı atım pompalarını hedef alarak bu sistemlerin baskılanmasına yol açmakta; böylece bakterilerin antibiyotiklere yeniden duyarlı hale gelmesini sağlamaktadır.

AMP'lerle yapılan kombinasyonlar da benzer şekilde dikkat çekicidir. Hücre zarını hedef alan AMP'ler, bakteriyofajlarla birlikte kullanıldığında özellikle biyofilm oluşturan bakterilere karşı etkinliği artırabilir. Örneğin, LL-37 peptidi ve faj kaynaklı endolizinlerin kombinasyonu, vankomisin dirençli enterokoklara karşı etkili olmuştur. COL gibi membran bozucu peptitlerle yapılan kombinasyonlar ise *P. aeruginosa* biyofilmlerinde anlamlı eradikasyon sağlamıştır (Diallo ve Dublanchet, 2022).

Bakteriyofaj-antibiyotik etkileşimlerini değerlendirmek için çeşitli *in vitro* yöntemler geliştirilmiştir. Modifiye çift tabakalı agar yöntemi (MÇTAY), sinerjiyi görsel olarak değerlendirmede kullanılabilir. Bu yöntemde antibiyotik içeren disklerin oluşturduğu gradyan ortamda faj plak boyutunda büyüme veya inhibisyon zonunda genişleme sinerjiyi gösterebilir (Comeau ve ark., 2007). Alt agara antibiyotik/peptid eklenmesiyle elde edilen doz gradyanı, ajanların sürekli ve fizyolojik maruziyetini simüle ederek etkileşimlerin daha doğru değerlendirilmesini sağlar (Stachurska ve ark., 2021). Bunun yanı sıra, sıvı kültürlerde uygulanan dama tahtası yöntemi (checkerboard), sinerjinin kantitatif olarak analiz edilmesini sağlar. Bu yöntemde farklı konsantrasyonlardaki faj ve antibakteriyel ajanların kombinasyonu kullanılarak fraksiyonel inhibitör konsantrasyon indeksi (FİKİ) hesaplanır (Nikolić ve ark., 2022).

Zamanlama, sinerji düzeyi üzerinde belirleyici bir faktördür. Literatürde, bakteriyofajların antibiyotiklerden önce verilmesinin veya eş zamanlı uygulanmasının genellikle daha etkili sonuçlar verdiği bildirilmektedir. Bunun aksine, antibiyotiklerin önce verilmesi —özellikle bakteriyostatik ajanlar kullanıldığında— konak hücre

metabolizmasını baskılayarak faj replikasyonunu engelleyebilir (Liu ve ark., 2022; Chaudhry ve ark., 2017).

Sonuç olarak, faj-antibiyotik ve faj-AMP kombinasyonları, ÇİD *P. aeruginosa* gibi zorlu patojenlere karşı umut vadeden alternatifler arasında yer almaktadır. Bu strateji yalnızca bakteriyel yükü azaltmakla kalmayıp, direnç gelişimini baskılama potansiyeli de taşımaktadır. Farklı *in vitro* değerlendirme yöntemlerinin birlikte kullanılması, sinerjiyi daha güvenilir şekilde ölçmeyi mümkün kılmakta ve klinik geçiş sürecine sağlam bir bilimsel zemin sunmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Cihaz, Kimyasal ve Diğer Malzemeler

Bu çalışmada cihaz olarak, etüv (Memmert, Almanya), benmari (Memmert, Almanya), otoklav (Hıclave, Japonya), vorteks (Velp, İtalya), mikrosantrifüj (Hettich, Almanya), santrifüj (Eppendorf, Almanya), mikroskop (Zeiss, Almanya), hassas terazi (Sartorius, Almanya) mikropilaka okuyucu (Thermo Scientific, ABD), McFarland okuyucu (Biomerieux, Fransa), distile su cihazı (Gesellschaft Für Labortechnik, Almanya), jel elektroforez tankı (Thermo Scientific, ABD), pH metre (Thermo Scientific, ABD) kullanıldı.

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar, Mueller Hinton agar (Oxoid, İngiltere), Eozin Metilen Blue agar (Fluka, İsviçre), beyin kalp infüzyon broth (Becton, Dickinson and Company, ABD), RPMI-1640 (Gibco, ABD), gliserol (Mediko Kimya, Türkiye) maya özütü (Oxoid, İngiltere), tripton (Gibco, ABD), sodyum klorür (Fluka, İsviçre), agar-agar (Condalab, İspanya), kalsiyum klorür dihidrat (Kimyalab, Türkiye), magnezyum sülfat heptahidrat (Isolab, Almanya), tris-HCl (Goldbio, ABD), tris base (Goldbio, ABD), borik asit (Kimyalab, Türkiye), etilendiamintetraasetik asit (Sigma-Aldrich, ABD), izoamilalkol (Sigma-Aldrich, ABD), DNAase I (Thermo Fisher Scientific, ABD), RNAase A (Promega, ABD), Proteinaz K (AppliChem, Almanya), fenol (AppliChem, Almanya), kloroform (Merck, Almanya), sodyum asetat (Sigma-Aldrich, Almanya) ticari olarak temin edildi.

Bu çalışmada kullanılan diğer malzemeler: ependorf tüp (Fıratmed, Türkiye) çok kanallı pipet (Capp, Danimarka), steril petri kabı (Isolab, Almanya), steril 96 kuyucuklu U tabanlı mikropilaka (LP Italiana Spa, İtalya), 0.22 µm por çapına sahip membran filtre (Isolab, Almanya). Ek olarak; bu tezde yer alan bazı şekiller BioRender.com kullanılarak oluşturuldu.

3.2. Besiyeri ve Çözeltiler

Mueller Hinton Agar (MHA)

Ticari besiyeri 38 g distile su içinde çözülüp 1 L'ye tamamlanarak 1 atm basınçta 121°C'de 15 dk süreyle otoklavda steril edildi ve 40-50°C ye kadar soğutulduktan sonra 90 mm steril petri kaplara 20'şer mL dökülerek katılaşmaya bırakıldı.

Mueller Hinton Broth (MHB)

Ticari besiyeri 21 g distile su içinde çözülerek 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan besiyeri otoklavda steril edildi.

Eozin Metilen Blue Agar (EMB)

Ticari besiyeri 37.5 g distile su içinde çözülüp 1 L'ye tamamlanarak otoklavda steril edildi ve 40-50°C ye kadar soğutulduktan sonra 90 mm steril petri kaplara 20'şer mL dökülerek katılaşmaya bırakıldı.

Beyin Kalp İnfüzyon Broth (BHI)

Ticari besiyeri 37 g distile su içinde çözülerek 1 L'ye tamamlanarak ve içerisine %5 gliserol eklenerek otoklavda steril edildi ve 40-50°C ye kadar soğutulduktan sonra, steril 2 mL kriyo tüplerine 1'er mL dağıtıldı.

Luria Bertani Broth (LB)

İçeriğinde maya özütü (5.0 g/L), tripton (10 g/L) ve NaCl (10 g/L) bulunan besiyeri 1 L distile suda çözülüp otoklavda steril edilerek kullanıma hazır hale getirildi.

Luria Bertani Alt Agar (1.5% w/v agar)

İçeriğinde maya özütü (5.0 g/L), tripton (10 g/L), NaCl (10 g/L) ve agar (15 g/L) bulunan besiyeri, 1 L distile suda çözülüp son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde

CaCl₂ eklenerek otoklavda steril edildi ve 40-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra her bir 90 mm steril petri kaplara 20'şer mL dökülerek kullanıma hazır hale getirildi.

Luria Bertani Yumuşak Agar (0.5% w/v agar)

İçeriğinde maya özütü (5.0 g/L), tripton (10 g/L), NaCl (10 g/L) ve agar (5 g/L) bulunan besiyeri, 1 L distile suda çözülüp son konsantrasyonu 10 mM olacak şekilde CaCl₂ eklenerek otoklavda steril edildi ve 40-50°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril cam tüplere 5'er mL dağıtıldı.

Saline Magnezyum (SM) Tamponu

5.8 g/L NaCl ve 2 g/L MgSO₄·7H₂O distile su içinde çözülüp 1 M Tris-HCl (pH 7.5) çözeltisinden 50 mL eklenerek 1 L'ye tamamlandı ve otoklavda steril edilip kullanıma hazır hale getirildi.

Kalsiyum Klorür Dihidrat (1M) Çözeltisi

147.01 gram CaCl₂·2H₂O yaklaşık 800 mL distile suda tamamen çözülerek 1 L'ye tamamlandı. Çözelti +4°C'de saklandı.

10X Tris Borat EDTA (TBE) Tampon

108 g Tris base, 55 g borik asit ve 8.3 g EDTA distile su içinde çözülüp 1 L'ye tamamlanarak pH'sı 8 olarak ayarlandı ve otoklavda steril edilerek kullanıma hazır hale getirildi.

6X Jel Yükleme Tamponu

Bromfenol mavisi (25 mg) ve sükröz (4 g), 10 mL distile su içerisinde çözülerek 6X konsantrasyonda jel yükleme tamponu hazırlandı.

Proteinaz K Stok Solüsyonu

20 mg liyofilize proteinaz K 1 mL steril distile su içinde çözülerek hazırlanan stok solüsyon -20°C'de saklandı.

%1'lik Agaroz Jel

0.8 g agaroz tozu 80 mL 0.5X TBE tampon çözeltisi içerisine eklenip mikrodalga fırında 1-2 dk boyunca aralıklarla ısıtılarak homojen bir çözelti elde edildi. Çözelti yaklaşık 50°C'ye soğutulduktan sonra 5 µL SafeView jel görüntüleme boyası eklenerek homojen oluncaya kadar karıştırılıp elektroforez tankına döküldü ve kuyucuk oluşumu için uygun tarak yerleştirilerek oda sıcaklığında katılaşması için bekletildi.

3.3. Antimikrobiyal Maddeler

Bu çalışmada kullanılan antibiyotikler CIP, COL, MEM, TOB ve MUR'in etken maddeleri MedChemExpress (ABD) firmasından ticari olarak sağlandı. PEX ise Magainin Pharmaceuticals Inc. (ABD) firmasından temin edildi. Disk difüzyon testleri için kullanılan ticari antibiyotik diskleri, CIP (5 µg), COL (10 µg), MEM (10 µg) ve TOB (10 µg) Oxoid (İngiltere) firmasından satın alındı.

3.4. Bakteri İzolatları

Bu çalışmada, Balıkesir Üniversitesi (BAÜN) Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına 2022-2024 yılları arasında kabul edilen farklı hastalara ait klinik örneklerden soyutlanarak kültür koleksiyonumuzda saklanan 50 *P. aeruginosa* ile 5'er *Stenotrophomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii* ve *S. aureus* suşu seçildi. ADT'de kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı.

Klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* ve *S. aureus* suşları Phoenix-M50 (Becton, Dickinson and Company, ABD) otomatik bakteriyel tanımlama sistemi kullanılarak tanımlandı. Bu

suşlar, çalışmalarda kullanılmak üzere saf kültür olarak %5 gliserollü BHI broth içinde - 80°C’de saklandı.

3.5. Bakteriyofaj İzolasyonu

3.5.1. Atık Su Örneklerinin Toplanması

P. aeruginosa'ya özgü litik bakteriyofajların izolasyonu amacıyla, üç farklı lokasyondan atık su örnekleri toplandı (Tablo 3.1). Bu lokasyonlar, BAÜN Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi kanalizasyon sistemi, BAÜN Çağış Yerleşkesi içerisinde yer alan gölet ve Balıkesir ili Altıeylül ilçesine bağlı Paşaköy mahallesindeki Paşaköy deresi olup her birinden 1 L olmak üzere toplam 3 L atık su örneği toplandı. Farklı lokasyonlardan atık su örneğinin alınmasıyla, bakteriyofaj izolasyon şansını artırmayı ve potansiyel bakteriyofaj kaynaklarının çeşitliliğinin sağlanması amaçlandı. Örnek toplama işlemleri sırasında, steril 1 L'lik şişeler kullanıldı ve etiketleme yapıldı. Alınan örnekler, soğuk zincir koşullarında kısa sürede laboratuvara transfer edildi.

Tablo 3.1. Bakteriyofaj izolasyonu amacıyla su örneklerinin alındığı lokasyonlara ait coğrafi koordinatlar.

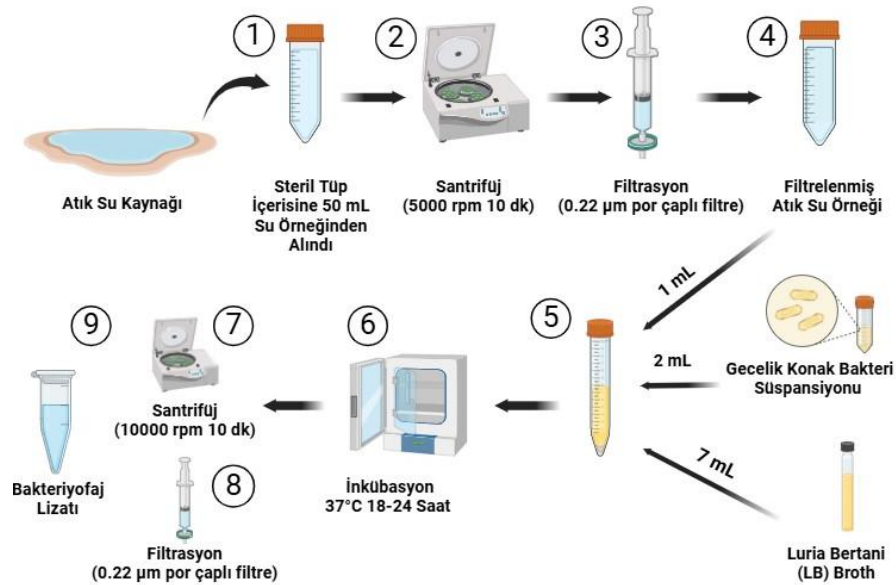
Yer	Konum
BAÜN Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi	39°32'56"N 27°59'59"E
BAÜN Çağış Yerleşkesi'ndeki kampüs göleti	39°32'40"N 28°00'20"E
Balıkesir Paşaköy, Paşaköy Deresi	39°33'27"N 27°58'54"E

3.5.2. Konak Bakteri Kültürünün Hazırlanması

Bakteriyofaj izolasyonu için ilk adım, konak bakteri süspansiyonunun hazırlanmasıdır. Bu amaçla, konak olarak kullanılacak bakteri suşu, MHA'a ekildi ve 37°C'de 18-24 s inkübe edildi. Daha sonra, tek bir koloni steril öze ile seçilerek 10 mL LB broth besiyerine inoküle edildikten sonra 37°C'de 18-24 s süreyle inkübe edildi.

3.5.3. Su Örneklerinden Bakteriyofajların Zenginleştirilmesi

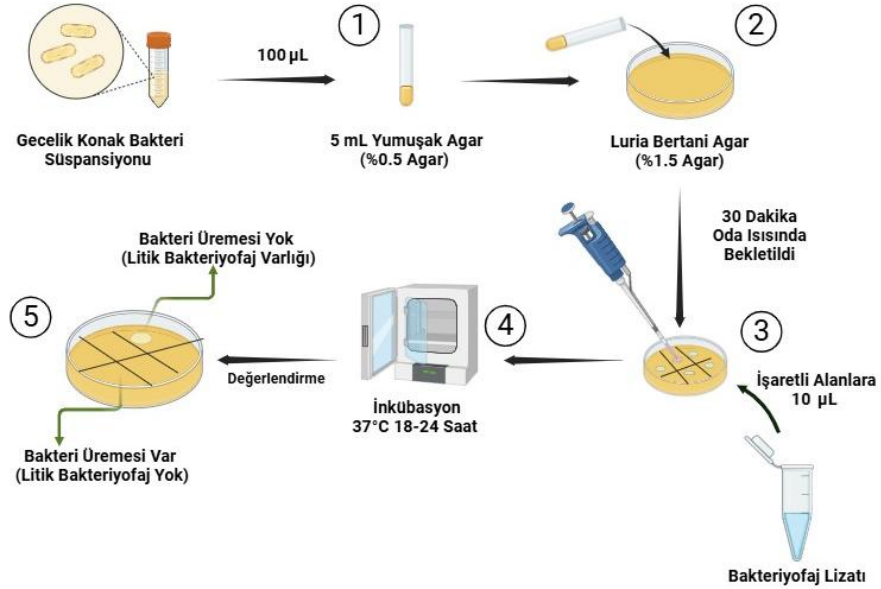
Bakteriyofaj zenginleştirme işlemi, atık su örneklerindeki bakteriyofaj yoğunluğunu artırmak amacıyla yapıldı (Van Twest ve Kropinski, 2009). Şekil 3.1'te görüldüğü gibi ilk olarak, atık su örneği 5000 rpm'de 10 dk santrifüjlenerek büyük partiküllerden arındırıldı. Santrifüj sonrası, süpernatant 0.22 µm'lik membran filtreden geçirildi. Sırasıyla 7 mL LB broth içine filtrelenmiş atık su örneğinden 1 mL, konak olarak seçilen gecelik *P. aeruginosa* bakteri süspansiyonundan 2 mL eklenerek 37°C'de 18-24 s inkübe edilip 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası, 0.22 µm'lik membran filtreden geçirilen süpernatant (bakteriyofaj lizati), sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.



Şekil 3.1. Atık su örneklerinden bakteriyofaj zenginleştirilmesi.

3.5.4. Bakteriyofaj Varlığının Agar Spot Test ile Araştırılması

Bakteriyofaj varlığının belirlenmesi için kullanılan agar spot test yöntemi (Şekil 3.2), bakteriyofajların konak bakteri üzerindeki litik etkinliğini değerlendirmek amacıyla yaygın olarak tercih edilmektedir (Daubie ve ark., 2022). İlk olarak, 5 mL LB yumuşak agar hazırlanıp 40-50°C'ye soğutulurak 100 µL konak bakteri süspansiyonu ekleyip karıştırıldıktan sonra LB agar içeren petri kabının yüzeyine yayıldı. Daha sonra oda sıcaklığında 15 dk bekletilerek katılaşması sağlandı ve 10 µL bakteriyofaj lizatu işaretli alanlara damlatıldı. Ayrıca işaretli boş bir alana 10 µL SM tamponu kontrol olarak pipetlendi. Petri kapları 30 dk oda sıcaklığında bekletilmesini takiben 37°C'de 18-24 s inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, bakteriyofaj lizatının damlatıldığı alanlarda bakteri üremesinin olmadığı bölgeler, bakteriyofajların litik etkisi olarak değerlendirildi (Xie ve ark., 2018).

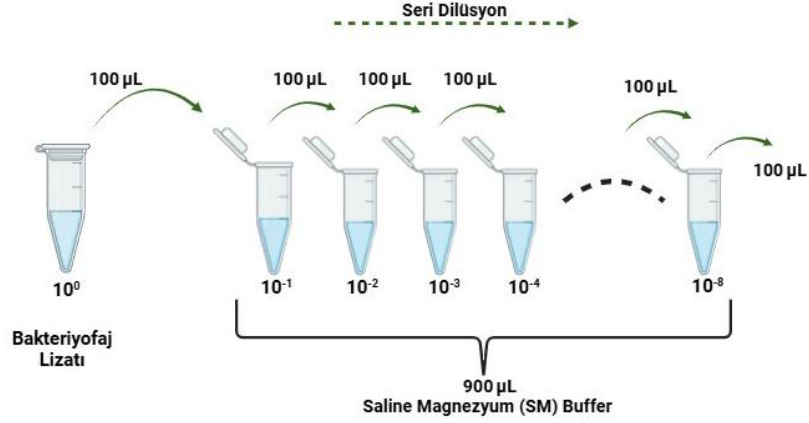


Şekil 3.2. Bakteriyofaj varlığının agar spot test ile araştırılması.

3.5.5. Çift Tabakalı Agar Yöntemi

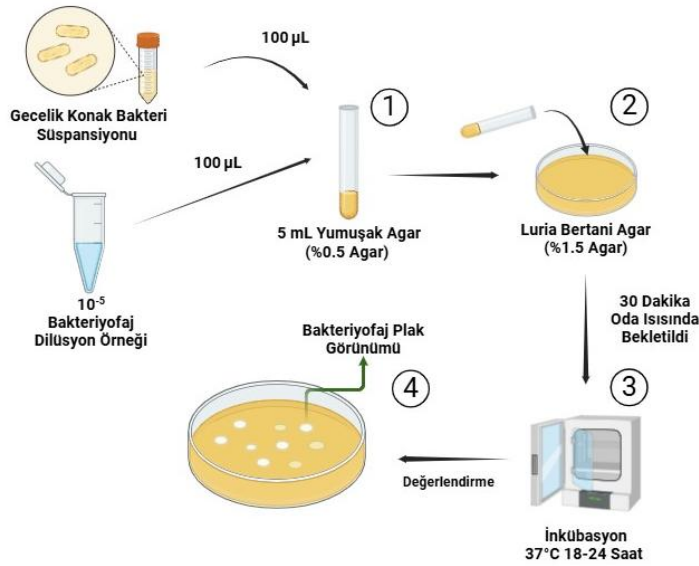
Agar spot testi yapılarak litik bakteriyofaj varlığı saptandıktan sonra, bakteriyofaj lizatının seri dilüsyonları hazırlanarak her bir dilüsyon örneği için çift tabakalı agar

yöntemi uygulandı (Gratia, 2000; Santos ve ark., 2009). Bu yönteme göre, bakteriyofaj lizatu seri dilüsyonları SM tamponu ile $1:10$ - $1:10^{-8}$ aralığında hazırlandı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Bakteriyofaj dilüsyon örneklerinin hazırlanması.

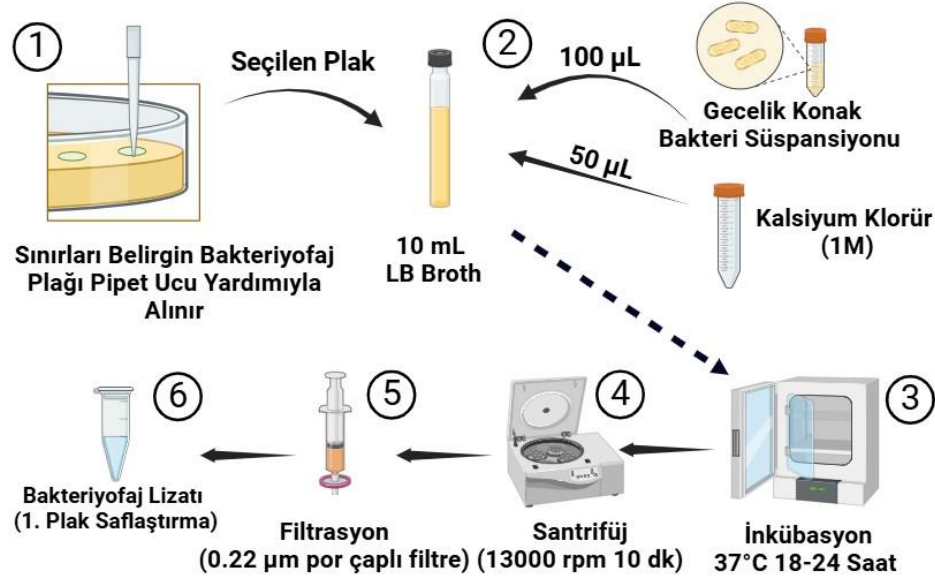
Her bir dilüsyon örneğinden ve konak bakteri süspansiyonundan 100 µL, 5 mL yumuşak agar ile karıştırılarak, petri kabındaki LB agar yüzeyine ~2mm kalınlıkta yayıldı. Petri kapları, 30 dk boyunca oda sıcaklığında yumuşak agarın katılaşması için bekletilmesini takiben 37°C'de 18-24 s boyunca inkübe edildi (Şekil 3.4). İnkübasyon sonrasında, agar yüzeyinde bakteriyofaj plak morfolojisi değerlendirildi (Jo ve ark., 2024).



Şekil 3.4. Çift tabakalı agar yöntemi.

3.5.6. Bakteriyofajın Tek Plak Yöntemi ile Saflaştırılması

Bakteriyofajın tek plak izolasyonu ile saflaştırılması işlemi, çift tabakalı agar yönteminde sınırları belirgin ve birbirinden farklı morfolojik özelliklere sahip plaklar seçilerek gerçekleştirildi (Adams, 1959; Huang ve ark., 2018). Bu yöntemde göre, sınırları belirgin bir plak, steril pipet ucu ile alınıp 1 mL steril SM tamponu içinde karıştırılarak bakteriyofaj partiküllerinin agardan serbest kalması sağlandı. Daha sonra 10 mL LB broth içine aktarılarak 100 µL konak bakteri süspansiyonu ve 50 µL CaCl₂ (1M) ile eklendi. Bu karışım, 37°C'de 18-24 s inkübe edildikten sonra 13.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant 0.22 µm'lik membran filtreden geçirildi. Bu bakteriyofaj lizatı (1. plak saflaştırma) kullanılarak aynı işlem toplam 5 kez tekrarlandı (Şekil 3.5). Her bir tekrarda, sınırları belirgin ve morfolojik olarak benzer plaklar seçilerek bakteriyofajların saflığı artırıldı (Luong ve ark., 2020).



Şekil 3.5. Tek plak izolasyonu ile bakteriyofajların saflaştırılması.

3.5.7. Bakteriyofaj Titrelelerinin Hesaplanması

Tek plak izolasyonu ile saflaştırılan bakteriyofajların titresini belirlemek için, daha önce belirtildiği gibi seri dilüsyonlar hazırlandı (Şekil 3.3). Her bir dilüsyon örneği için

çift tabakalı agar yöntemi uygulanarak agar yüzeyinde oluşan plaklar sayıldı ve bakteriyofaj titresi (plak oluşturan birim, POB/mL) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı (Bonilla ve ark., 2016).

$$\text{POB/mL} = \text{Plak Sayısı} / \text{Dilüsyon faktörü} \times \text{Süpernatant hacmi } (\mu\text{L}) \times 1000 \mu\text{L/mL}$$

3.6. Bakteriyofajların Karakterizasyonu

3.6.1. Bakteriyofaj DNA İzolasyonu

Bakteriyofaj DNA'sının izolasyonu amacıyla 2 mL bakteriyofaj lizati (~10⁸ POB/mL) 15.000 rpm'de 2 s boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırılarak 100 µL SM tampon ile süspanse edildi. Daha sonra, 1 µL DNAase (1 IU/µL) ve 1 µL RNAase (10 mg/mL) eklenip 37°C'de 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, ısıtıcı blokta 70°C'de 10 dk bekletilerek enzimler inaktive edilip karışıma 3 µL Proteinaz K (20 mg/mL) eklendi ve 55°C'de 1 s bekletildi. Bu karışıma v/v oranında fenol:kloroform:izoamilalkol (25:24:1) eklenip karıştırıldı ve 10.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üst faz steril bir ependorf tüpe alınıp 1/10 hacimde 3 M sodyum asetat (pH:5) ile v/v %100 izopropanol eklendi. Karışım, -20°C'de 20 dk bekletildi ve 15.000 rpm'de 20 dk santrifüj edilerek DNA peleti oluşturuldu. Pelet üzerine %70 etanol eklenerek 15.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve 37°C'de 30 dk kurutuldu. Kurutulan pelet, distile su ile çözülerek saf bakteriyofaj DNA'sı elde edildi (Summer, 2009; Salih Doğan ve ark., 2024).

3.6.2. Bakteriyofajların Restriksiyon Profilinin Belirlenmesi

Bakteriyofaj DNA'sının restriksiyon profili, HinDIII restriksiyon enzimi kullanılarak belirlendi. Bu amaç için steril bir ependorf tüpe 10 µL bakteriyofaj total DNA'sı, 2 µL enzim tamponu, 1 µL restriksiyon enzimi (HinDIII) ve 7 µL distile su eklenerek 37°C'de 1 s bekletilmesini takiben agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi. Jel elektroforezi işlemi, 100 volt uygulanarak 30 dk süreyle gerçekleştirildi (Salih ve ark., 2022; Ali ve ark., 2023).

Bu tez kapsamında gerçekleştirilen bakteriyofajların DNA izolasyonu ve restriksiyon profilinin belirlenmesi ile zamana bağlı etkinliğin belirlenmesi-redüksiyon deneyi ile ilgili çalışmalar, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rekombinant DNA ve Rekombinant Protein Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ADÜ-REDPROM) yürütüldü.

3.6.3. Optimum Enfeksiyon Çokluğu Değerinin Belirlenmesi

Optimum enfeksiyon çokluğu (Multiplicity of Infection, MOI) değerinin belirlenmesi, bakteriyofajların konak bakteri üzerindeki enfeksiyon etkinliğini anlamak ve çoğalma kapasitelerini optimize etmek için kritik bir adımdır. MOI, bakteriyofaj partikül sayısının (POB/mL) bakteri hücre sayısına (KOB/mL) oranı olarak tanımlanır (Yang ve ark., 2010). Bu çalışmada, optimum MOI değerini belirlemek için öncelikle bakteriyofaj titresi ve konak bakteri sayısı ayarlandı. Uygun bakteri süspansiyonu ve bakteriyofaj dilüsyon örneğinden üç farklı tüpe 500'er µL dağıtılarak sırasıyla 0.1, 1 ve 10 MOI değerlerine sahip süspansiyonlar elde edildi.

Bu süspansiyonlar, bakteriyofajların bakterilere adsorbe olmasını sağlamak amacıyla 10 dk boyunca oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra, tüpler 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilip adsorbe olmamış bakteriyofajları uzaklaştırmak amacıyla süpernatant dikkatli bir şekilde atıldı. Kalan kısım, 1 mL taze LB broth ile süspansiyon edilip 13.000 rpm'de 3 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Bu işlemin ardından, kalan kısım 1 mL LB broth ile süspansiyon edilip 37°C'de 3 s bekletilmesini takiben santrifüj etme işlemi tekrarlanarak 500 µL süpernatant steril tüplere alındı. Her bir süpernatanta 10 µL kloroform eklenerek tüpler tekrar santrifüj edildi.

Her bir MOI değerine ait süpernatantlardan seri dilüsyonlar hazırlandı. Daha sonra, 100 µL konak bakteri süspansiyonu, 5 mL yumuşak agar ile karıştırılarak LB agar yüzeyine yayılıp, oda sıcaklığında 15 dk bekletilerek katılaşmasını takiben her bir seri dilüsyondan 10 µL damlatıldı. Daha sonra 37°C'de 18-24 s inkübe edildi. Bu süre sonunda en yüksek litik etkinin elde edildiği MOI değeri, optimum MOI değeri olarak belirlendi (Karaynir ve ark., 2022).

3.6.4. Bakteriyofajların Konak Aralığının Belirlenmesi

İzole edilen ve saflaştırılan bakteriyofajların çeşitli klinik örneklerden soyutlanan *P. aeruginosa* (n:50), *S. maltophilia* (n:5), *E. coli* (n:5), *K. pneumoniae* (n:5), *A. baumannii* (n:5) ve *S. aureus* (n:5) bakterilerine karşı etkinliği agar spot test yöntemi ile belirlendi (Fikadu ve ark., 2024). İlk olarak, her bakteri suşu için hazırlanan konak bakteri süspansiyonundan 100 µL (yaklaşık 10⁸ KOB/mL) 5 mL yumuşak agar ile karıştırıldı ve LB agar yüzeyine yayıldı. Yumuşak agarın katılaşması için 30 dk oda sıcaklığında bekletilen her bir petri kabının işaretli yüzeyine 10 µL bakteriyofaj lizatı damlatılıp oda sıcaklığında kurumasını takiben 37°C'de 18-24 s inkübe edildi. Bakteriyofaj lizatının damlatıldığı alanlar saydamlıklarına göre tam lizis (++), kısmi lizis (+) veya lizis yok (-) olarak değerlendirildi (Ali ve ark., 2023).

3.6.5. Bakteriyofajların Zamana Bağlı Etkinliklerinin Belirlenmesi

Farklı MOI değerlerine sahip bakteriyofajların, konak bakteri üzerindeki zamana bağlı etkisini değerlendirmek amacıyla redüksiyon deneyi gerçekleştirildi (Ali ve ark., 2023). MOI 10, 1 ve 0.1 değeri olacak hazırlandı. Hazırlanan farklı MOI karışımlarından, mikropkaya kuyucuğuna 100 µL, logaritmik fazdaki konak bakteri süspansiyonundan (OD_{595nm} ~0.20) 100 µL pipetlendi. Pozitif kontrol (100 µL LB broth + 100 µL konak bakteri süspansiyonu), negatif kontrol (200 µL LB broth), bakteriyofaj kontrolü (100 µL LB broth + 100 µL bakteriyofaj lizatı) kontrol kuyucuklarına pipetlendi. Mikropkalar, 37°C'de 24 s boyunca inkübe edilerek her s başı mikropkaya okuyucu (Multiskan FC, Thermo Fisher Scientific, USA) ile OD_{595 nm}'de yoğunluk ölçümleri yapıldı. Bu ölçümler, bakteriyofajların konak bakteri üzerindeki litik etkisini ve bakteri yoğunluğundaki azalmayı değerlendirmek için kullanıldı (Yildirim ve ark., 2019).

3.6.6. Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi Deneyi

Bakteriyofajların konak bakterilerde oluşturdukları enfeksiyon kinetikleri, replikasyon dinamikleri ve latent dönem sürelerinin belirlenebilmesi amacıyla tek adımlı çoğalma deneyi yapıldı. Bu deney, bakteriyofajların üreme karakteristiklerini (latent periyot, yükselme periyodu ve patlama boyutu) belirlemek için kullanıldı (Merabishvili

ve ark., 2014; Yazdi ve ark., 2018). İlk olarak, konak bakteri 10 mL LB broth'a pasajlanarak 37°C'de 18-24 s inkübe edildi. Bu kültürden 0.5 mL alarak 50 mL taze LB broth'a eklendi ve bakteri kültürü logaritmik faza ulaşınca kadar (OD₆₀₀ nm ~0.20) 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Logaritmik faza ulaşan bakteri kültüründen 5 mL alındı ve 5.000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

Santrifüj sonrası pelet, 0.5 mL LB broth ile yeniden süspanse edilerek 0.5 mL 10⁷ POB/mL bakteriyofaj lizatıyla (MOI 0.1) karıştırılıp 5 dk boyunca oda sıcaklığında bekletilerek adsorpsiyon sağlandı. Ardından, karışım 5.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilip süpernatant atıldı. Pelet, 1 mL LB broth ile süspanse edilip 15.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek elde edilen pelet, 30 mL taze LB broth içinde yeniden süspanse edildi ve 0. dk da (başlangıç) 500 µL'lik ilk örnek alındı. Karışım, 37°C'de inkübasyona bırakıldı ve 90 dk boyunca 10 dk arayla 500 µL örnek alındı. Alınan her örneğe bakteriyofajların serbest kalması için 50 µL kloroform eklendi. Örnekler, 15.000 rpm'de 1 dk santrifüj edilerek süpernatantlar yeni steril tüplere alındı. Her bir örnekten seri dilüsyonlar hazırlandı ve çift tabakalı agar yöntemi kullanılarak her dilüsyon örneği için bakteriyofaj titresi (POB/mL) hesaplandı. Başlangıçta (0. dk), ek bir 100 µL örnek alındı ve bu örneğin yarısı (50 µL) santrifüj edildi, diğer yarısı santrifüj edilmeden bırakıldı. Her iki örnekteki bakteriyofaj titresi çift tabakalı agar yöntemi kullanılarak hesaplandı ve enfekte hücre sayısı belirlendi. Enfekte hücre sayısı, santrifüj edilmemiş kısımdaki bakteriyofaj sayısından, santrifüjlenen kısımdaki bakteriyofaj sayısının çıkarılmasıyla hesaplandı.

Bu yöntemde kullanılan üç farklı formül bulunmaktadır. Bu formüller sırasıyla patlama boyutu, adsorpsiyon oranı ve adsorpsiyon hızıdır.

Patlama Boyutu: Toplam salınan faj partikül sayısı/ Enfekte Olmuş Bakteri Sayısı

Bu formül ile bir enfekte hücreden çıkan ortalama bakteriyofaj sayısı hesaplandı (Abedon, 2011).

Adsorpsiyon Oranı (%): $(P_0 - P_t) / P_0 \times 100$

Adsorpsiyon oranı ile belirli bir süre sonunda bakteriyofajların bakteri hücrelerine ne kadarının adsorbe olduğunu yüzde olarak hesaplamada kullanıldı. P₀, başlangıçtaki

serbest bakteriyofaj titresini (POB/mL), P_t ise belirli bir süre sonra kalan serbest bakteriyofaj titresini (POB/mL) ifade eder (Abedon, 2011).

$$\text{Adsorpsiyon Hızı (k): } \ln(P_0 / P_t) / (C \times t)$$

Adsorpsiyon hızı, bakteriyofajların bakteri hücrelerine adsorbe olma hızını hesaplamada kullanıldı. P_0 , başlangıçtaki serbest bakteriyofaj titresini (POB/mL), P_t belirli bir süre sonra kalan serbest bakteriyofaj titresini (POB/mL), C bakteri hücre sayısını (KOB/mL) ve t zamanı (dk) ifade eder (Abedon, 2011).

3.6.7. Farklı Ortam Koşullarında Bakteriyofajların Titre Değişimi

Farklı ortam koşullarında bakteriyofajların stabilitesi test edildi. Bakteriyofajların sıcaklığa dayanıklılığını belirlemek amacıyla, 2 mL bakteriyofaj lizatı ($\sim 10^8$ POB/mL) yedi farklı tüpe alındı. Her bir tüp, belirlenen sıcaklıklarda (37°C , 50°C , 60°C , 70°C , 80°C ve 90°C) inkübasyona bırakıldı. Kontrol olarak bir tüp $+4^\circ\text{C}$ 'de inkübe edildi. Belirli zaman aralıklarında (30, 60, 90, 120, 150 ve 180 dk) 100 μL örnek alındı. Alınan örneklerden seri dilüsyon yapıldı ve her bir dilüsyon örneği için çift tabakalı agar yöntemi uygulandı ve 37°C 'de 18-24 s inkübasyona bırakıldı. Daha sonra oluşan bakteriyofaj plak sayımları yapılarak bakteriyofaj titresini hesaplandı (Karaynir ve ark., 2022; Ali ve ark., 2023).

Bu çalışmada, bakteriyofajların farklı pH koşullarına karşı *in vitro* stabilitelelerini değerlendirmek amacıyla geniş bir pH aralığını kapsayan (pH 2, 4, 6, 8, 10 ve 12) stabilite testleri uygulandı. SM tamponun asidik pH çözeltileri, HCl kullanılarak, 0,1 - 0,001 M arasında, bazik çözeltileri ise NaOH kullanılarak 0,001 - 0,2 M arasında pH metre (Thermo, Orion420A⁺) ile ölçülerek ayarlandı. Her pH ortamı için, 100 μL bakteriyofaj lizatı ($\sim 10^8$ Pob/mL) 900 μL SM tampon çözeltisine eklendi ve hazırlanan karışımlar 37°C 'de 3 s süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda, bakteriyofajların titre değişimini belirlemek üzere seri dilüsyonlar hazırlanarak çift tabakalı agar yöntemi yapıldı. Kontrol olarak kullanılan SM tamponu pH $\sim 7 - 7.2$ idi. Tüm deneyler üç kez tekrar edildi.

3.6.8. Bakteriyofajların Morfolojik Karakterizasyonu

Bakteriyofajların morfolojik yapısını değerlendirmek için transmisyon elektron mikroskobu (Hitachi, HT 7800) kullanılarak görüntüleme yapıldı. Bunun için bakteriyofaj lizatı ($<10^8$ POB/mL) 15.000 rpm'de 2 s boyunca santrifüj edilerek üstteki sıvı uzaklaştırılıp, SM tampon ile süspansiyon edildi. Bu örnekten 10 µL alınıp % 2'lik uranil asetat ile negatif boyanarak formvar kaplı karbon grid üzerinde 100-120 kV'da incelendi (Damar Celik ve ark., 2024). Çalışmanın bu bölümü, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi.

3.7. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Bu çalışmada atık su örneklerinden izole edilen *P. aeruginosa*'ya özgü litik bakteriyofajların yanı sıra, klinik kullanımda olan antibiyotikler CIP, COL, MEM, TOB ve antimikrobiyal peptidler MUR, PEX'in etkinliği, klinik örneklerden izole edilen 50 *P. aeruginosa* suşuna karşı disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile değerlendirildi. Bakteriyofaj-antibiyotik/peptid kombinasyonlarının bakteriyofaja duyarlı ve plak varyasyonunun az olduğu beş suşa karşı sinerjik etkileşimleri, MÇTAY (disk difüzyon, alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi ve yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi) ve dama tahtası yöntemi (eşzamanlı ve ardışık kullanım) kullanılarak değerlendirildi.

3.7.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi, bakterilerin antimikrobiyal maddelere karşı duyarlılıklarının belirlenmesi amacıyla en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Bu çalışmada kullanılan MHA 4.0 ± 0.5 mm kalınlıkta ve 90 mm çaplı petri kapları kullanılarak üretici önerileri doğrultusunda hazırlandı. MHB içerisinde 0.5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer bir bakteri süspansiyonu hazırlanarak MHA içeren petri kaplarına, steril bir eküvyon yardımıyla tüm besiyeri yüzeyine yayıldı. Ticari antibiyotik diskleri CIP (5 µg), MEM (10 µg), TOB (10 µg) besiyeri yüzeyine yerleştirildi. Peptidlerden MUR (stok solüsyon 1024 µg/mL, disk içeriği 15,36 µg) ve PEX (stok solüsyon 2000 µg/mL, disk içeriği 30 µg) standart 6 mm çapa sahip steril Whatman kağıt

disklerine 15'er µL emdirildi ve diskler oda sıcaklığında kurutulduktan sonra besiyerine yerleştirildi.

Petri kapları 37°C'de 18-24 s boyunca inkübe edilerek inhibisyon zonları ölçüldü. Antibiyotik zon çapları, güncel sınır değer tablolarına göre değerlendirilerek duyarlılık kategorileri belirlendi (EUCAST, 2025). Bu çalışmada kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı.

3.7.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Antibiyotik ve peptidlerin MİK değerleri, sıvı mikrodilüsyon testi kullanılarak belirlendi (Yılmaz ve ark., 2024). Tüm çalışmalar Katyon Ayarlı Mueller Hinton Broth (KAMHB) besiyeri kullanılarak yapıldı. Her kuyucuğa 50 µL KAMHB dağıtıldıktan sonra, test edilecek antibiyotik/peptid çözeltilerinden ilk kuyucuklara 50 µL olarak ilave edildi. Seri dilüsyon yapılarak kuyucuklarda antibiyotikler için 0.0312–64 µg/mL, MUR için 0.0155–32 µg/mL ve PEX için 0.125–256 µg/mL konsantrasyon elde edildi. Gecelik bakteri kültürlerinden 0.5 McFarland yoğunluğunda (10^8 KOB/mL) hazırlanan bakteri süspansiyonları, KAMHB besiyerinde 1:100 v/v oranında (10^6 KOB/mL) seyreltildi. Mikroplakalardaki her bir kuyucuğa, son konsantrasyon 5×10^5 KOB/mL olacak şekilde 50 µL bakteri süspansiyonu eklendi. Mikroplaka üzerinde üreme kontrolü (KAMHA+bakteri), çözücü kontrolü (KAMHA+DS) ve sterilite kontrolü (KAMHA+Antibiyotik/Peptid) ve besiyeri kontrolü (KAMHA) için birer kuyucuk ayrıldı. Mikroplakalar, 37°C'de 18-24 s inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, üremenin tamamen inhibe olduğu en düşük antibiyotik/peptid konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlendi. Deney üç kez tekrarlandı. Bu çalışmada kontrol suşu olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 kullanıldı (EUCAST, 2025).

3.8. Bakteriyofaj Antibiyotik/Peptid Sinerjik Etkileşiminin Belirlenmesi

3.8.1. Modifiye Çift Tabakalı Agar Yöntemi

Bakteriyofajlar ile antibiyotik/peptid arasındaki potansiyel sinerjistik etkileşimlerin belirlenmesi amacıyla MÇTAY disk difüzyon uygulaması, alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi ve yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi olmak üzere üç farklı yaklaşımla uygulandı.

Disk Difüzyon Yöntemi

Daha önce Şekil 3.3.'de gösterildiği gibi hazırlanan ve sınırları belirgin bakteriyofaj plak morfolojisinin görülebildiği dilüsyon örneğinden ve konak bakteri süspansiyonundan 100'er µL alınarak 5 mL yumuşak agar ile karıştırıldı. Daha sonra alt agar içeren petri kabının yüzeyine yayıldı ve yumuşak agarın katılaşması için oda sıcaklığında 15 dk bekletildi. Ticari antibiyotikler ile peptidlere ait hazırlanan diskler yumuşak agar yüzeyine yerleştirildi ve 37°C'de 18-24 s inkübasyona bırakıldı. Kontrol grupları olarak sadece konak bakteri, bakteri + bakteriyofaj + disk, bakteri + disk ve bakteriyofaj + bakteri kullanıldı. İnkübasyon sonrasında, antibiyotik/peptid inhibisyon zonları ölçüldü. Ayrıca bu inhibisyon zonlarına en yakın 10 bakteriyofaj plağının seçilerek bunların çapıda ölçülerek değişimler değerlendirildi (Comeau ve ark., 2007; Kaur ve ark., 2012; Loganathan ve ark., 2024).

Alt Agara Sub Minimal İnhibitör Konsantrasyonda

Antibiyotik/ Peptid Eklenmesi

Antibiyotik/peptidlerin sub-MİK konsantrasyonları hesaplanarak, hazırlanan alt agara otoklav sonrası besiyeri sıcaklığı 40-50°C'ye düştüğünde 0.22 µm'lik membran filtreden geçirilerek eklendi. Daha sonra steril petri kaplarında döküldü. Hazırlanan alt agar yüzeyine, 100'er µL bakteriyofaj ve konak bakteri içeren 5 mL yumuşak agar yayıldı ve oda sıcaklığında katılaşana kadar bekletildi. Kontrol olarak, aynı konsantrasyonda antibiyotik/peptid içeren alt agar +bakteri ve antibiyotik/peptid içermeyen alt agar + bakteriyofaj + bakteri hazırlandı. Ve 37°C'de 18-24 s inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon

sonrasında, bakteriyofaj plaklarının homojen dağıldığı petri kapları değerlendirmeye alındı. Bu petri kaplarının merkezinde bulunan 10 bakteriyofaj plağı randomize seçilerek, çapları ölçüldü. Aynı zamanda bakteriyofaj titre değişimi değerlendirildi (Santos ve ark., 2009; Stachurska ve ark., 2021).

Yumuşak Agara Sub Minimal İnhibitör Konsantrasyonda Antibiyotik/ Peptid Eklenmesi

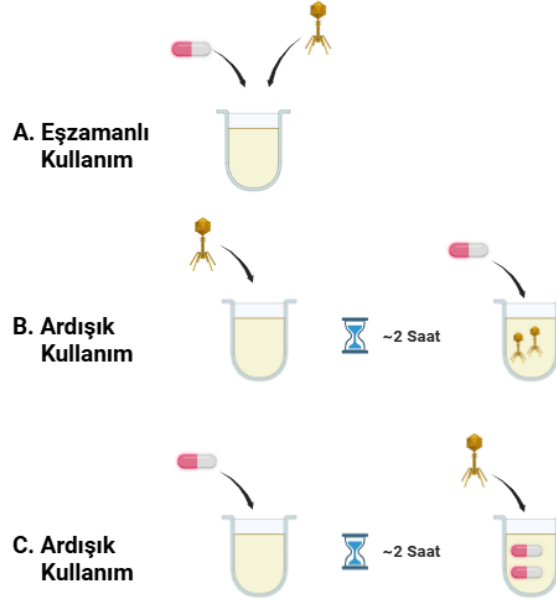
Antimikrobiyal maddelerin sub-MİK konsantrasyonları, hazırlanan yumuşak agar içerisine besiyeri sıcaklığı 40-50°C'ye düştüğünde 0.22 µm'lik membran filtreden geçirilerek eklendi. Daha sonra, bu yumuşak agar içerisine 100'er µL bakteriyofaj ve konak bakteri ilave edilerek hazırlanmış olan alt agar yüzeyine yayıldı. Kontrol olarak aynı konsantrasyonda antibiyotik/peptid içeren yumuşak agar + bakteri ve antibiyotik/peptid içermeyen yumuşak agar + bakteriyofaj + bakteri kullanıldı. Yumuşak agar katılaşana kadar 15 dk oda sıcaklığında bekletilen petri kapları 37°C'de 18-24 s inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında, bakteriyofaj plaklarının homojen dağıldığı petri kapları değerlendirmeye alındı. Bu petri kaplarının merkezinde bulunan 10 bakteriyofaj plağı randomize seçilerek, çapları ölçüldü. Aynı zamanda bakteriyofaj titre değişimi değerlendirildi (Moryl ve ark., 2024; Khong ve ark., 2024).

3.8.2. Dama Tahtası Yöntemi

Bakteriyofaj-antibiyotik/peptid arasındaki sinerjik etkileşimlerin incelenmesi amacıyla dama tahtası yöntemi eşzamanlı ve ardışık olarak kullanıldı. Bu çalışmada kullanılan dama tahtası yöntemi, Al-Anany ve ark., tarafından tanımlanan standart protokoller temel alınarak modifiye edildi (Al-Anany ve ark., 2021; Al-Anany ve ark., 2024). İlgili protokollere ilişkin ayrıntılara yazışma yoluyla ulaşıldı (kişisel iletişim, Dr. Alexander Hynes).

Konak bakteri kültürünün 3.5.2'de açıklandığı gibi hazırlanmasını takiben, 100 µL alınarak 10 mL LB broth'a pipetlendi ve OD₆₀₀ ~0.2 olacak şekilde inkübe edildi. Şekil 3.3'te gösterildiği gibi bakteriyofaj dilüsyon örnekleri ve bakteri süspansiyonları ile farklı MOI değerlerinde (1000 - 0.0001) faj-bakteri karışımları hazırlandı. Sıvı mikrodilüsyon

yöntemi ile her suş için saptanan antibiyotik/peptid MİK değerinin 4 katı olan stok solüsyonlar hazırlandı. Bu çalışmada bakteriyofaj-antibiyotik/peptid sinerjik etkileşimleri üç farklı protokol ile incelendi (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Bakteriyofaj ve antibiyotik/peptidlerin kullanım sırası.

Çalışmada iki farklı steril U tabanlı 96 kuyucuklu mikrolaka kullanıldı. Birinci mikrolakada, önceden hazırlanan farklı MOI değerlerine (1000-0.0001) sahip bakteriyofaj karışımı dikey (aşağı) yönde 100 µL pipetlenirken ikinci mikrolakada antibiyotik/peptid dilüsyonları yatay (sola) yönde 50 µL olacak şekilde pipetlendi. Daha sonra ikinci mikrolakadaki antibiyotik/peptid dilüsyonlarından 50 µL birinci mikrolakaya aktarıldı. Böylece farklı MOI değerlerine sahip bakteriyofaj ile farklı konsantrasyonlara sahip antibiyotik/peptidler mikrolaka kuyucuklarında olması sağlandı. Konak bakteri kültürü, logaritmik fazda (optik yoğunluğu OD₆₀₀ ~0.2) olacak şekilde ayarlandı ve kuyucuklara 100 µL pipetlenerek, kuyucuktaki son hacim 250 µL oldu. Kontrol olarak, antibiyotik/peptid sterilite kontrolü (150 µL LB broth + 100 µL antibiyotik/peptid), bakteriyofaj kontrolü (150 µL LB broth + 100 µL bakteriyofaj lizatı), besiyeri kontrolü (250 µL LB broth), pozitif kontrol (150 µL LB broth + 100 µL bakteri), tampon kontrolü (150 µL LB broth + 100 µL SM tamponu) kullanıldı. Mikrolaka 37°C'de

18-24 s inkübe edildikten sonra mikropkaka okuyucusunda OD₆₀₀ nm'de ölçümler alındı (Şekil 3.7).

Çalışmada kullanılan farklı MOI değerleri aşağıdaki formüller ile hesaplandı.

MOI Hesaplaması:

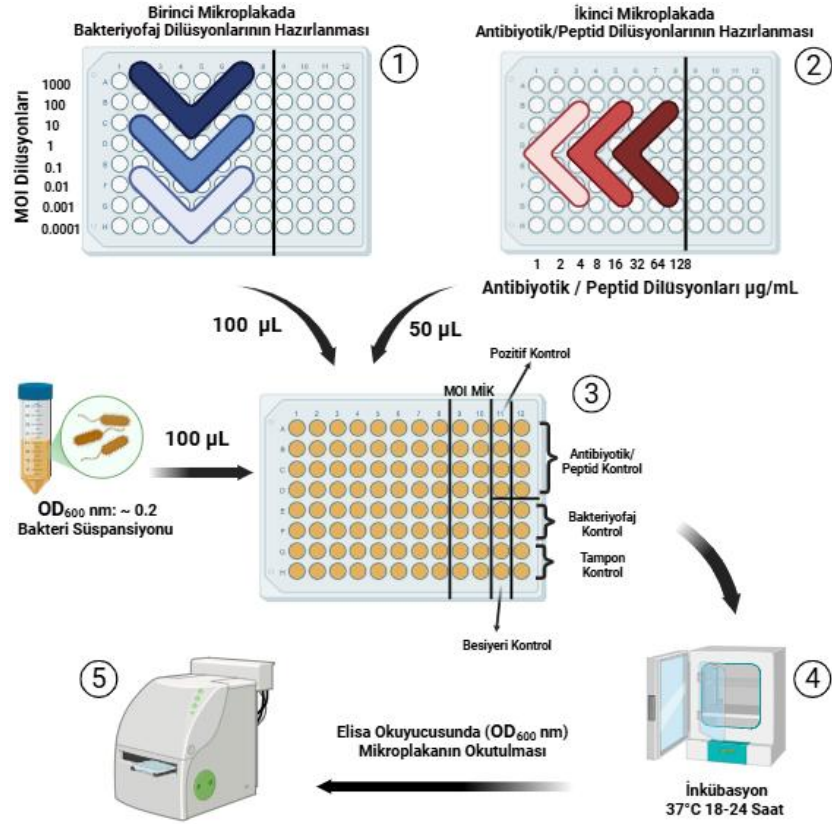
$$\text{MOI} = (\text{POB} \times \text{Lizat Hacmi}) : (\text{KOB (OD}_{600} \sim = 0.2) \times 100 \mu\text{L})$$

ELISA okuyucusunda OD₆₀₀ nm'den elde edilen değerler kullanılarak kombinasyonun konak bakteri üzerindeki çoğalma yüzdesi ve FİKİ hesaplandı. Bu hesaplamalar ile bakteriyofaj ve antibiyotik/peptid kombinasyonlarının konak bakteri üzerindeki etkisi yüzdesel olarak ifade edildi ve kuyucukların canlılık haritası oluşturularak görselleştirildi. FİKİ değerleri ile kombinasyonlar arasındaki sinerjik etkileşim değerlendirildi (Odds, 2003).

FİKİ İndeksi Hesaplama Formülü:

$$\text{FİKİ} = (\text{Bakteriyofajın Kombinasyondaki Titresi} / \text{Bakteriyofajın Tek Başına MİK Değeri}) + (\text{Antibiyotiğın Kombinasyondaki Konsantrasyonu} / \text{Antibiyotiğın Tek Başına MİK Değeri})$$

Kombinasyondan elde edilen FİKİ değerleri kullanılarak sinerjik etkileşimler; FİKİ ≤ 0.5: Sinerjistik etki, 0.5 < FİKİ ≤ 4: Additif etki FİKİ > 4: Antagonistik etki şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 3.7. Dama tahtası yöntemi ile bakteriyofaj ve antibiyotik/peptid sinerjisinin saptanması.

3.9. Antimikrobiyal Peptidlerin Sitotoksik Aktivitesinin Belirlenmesi

3.9.1. Hücre Hattının Hazırlanması

Antimikrobiyal peptitler olan PEX ve MUR'in sitotoksik aktivitesi, L929 fare fibroblast hücre hattı (American Type Culture Collection, USA) kullanılarak araştırıldı. Sıvı azotta saklanan hücreler, RPMI-1640 besiyeri ile yıkanarak %10 fetal bovine serum (FBS, steril ve inaktive), %1 penisilin-streptomisin ve %1 GEN solüsyonu eklenen RPMI-1640 besiyeri içeren hücre flaskına ekildi. Hücreler, 37°C'de %5 CO₂'li etüvde 48 s inkübasyona bırakıldı. Hücre sayısı ve canlılığı, tripan mavisi boyası kullanılarak Thoma lamı ile belirlendi.

3.9.2. Sitotoksik Aktivitenin Belirlenmesi

Sitotoksik aktivitenin saptanması amacıyla, steril, düz tabanlı ve 96 kuyucuklu mikropalakların her bir kuyucuğunda 100 µL besiyeri içinde yaklaşık 2×10^4 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı. PEX 512-0.25 µg/mL aralığında, MUR çözeltisi ise 64-0.01 µg/mL aralığında seri dilüsyonlar halinde ayrı bir mikropalakada hazırlanmış ve her birinden 100 µL alınarak hücrelerin çoğaltıldığı mikropalakaya pipetlendi. Mikropalakalar, 37°C'de %5 CO₂'li etüvde 48 s inkübasyona alındı. Hücre canlılığı, MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromit] yöntemi ile belirlendi (Mosmann, 1983). Absorbans ölçümleri, 570 nm dalga boyunda Biotek marka 800TS model (ABD) spektrofotometre ile yapıldı. Sitotoksik aktivite deneyleri, farklı günlerde üç kez tekrar edilmiştir. Çalışmanın bu bölümü, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.10. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, MÇTAY ile elde edilen plak boyutu (mm) ve plak sayısı verileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Alt agara ve yumuşak agara sub-MİK antibiyotik veya peptid ajanların eklenmesiyle oluşturulan kombinasyonların, yalnızca bakteriyofaj uygulanan kontrol grubu ile karşılaştırılması yoluyla sinerjik etki düzeyleri analiz edildi. Her bir ajan için kontrol ve kombinasyon grubu ölçümleri eşleştirilerek bağımlı örneklem *t*-testi (paired samples *t*-test) uygulanmış, varyansın sabit olmadığı veya örneklemin sabit değer içerdiği durumlarda test uygulanabilirliği ayrıca değerlendirildi. Analizler, BAUNPA1 ve BAUNPA3 fajları için ayrı ayrı gerçekleştirilmiş; istatistiksel olarak anlamlı fark gösteren ajanlar $p < 0.05$ düzeyi esas alınarak belirlendi.

FİKİ değerlerinin analizinde, bakteriyofajların altı farklı antibiyotik ve peptid ajanla eşzamanlı ve ardışık (önce faj, önce antibiyotik/peptid) kombinasyonları üç farklı uygulama modeli çerçevesinde karşılaştırıldı. FİKİ değerlerinin uygulama sırasına göre farklılık gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) uygulandı. Ayrıca eşzamanlı ve ardışık uygulama grupları arasındaki ikili farkları değerlendirmek üzere bağımsız örneklem *t*-testi (independent samples *t*-test)

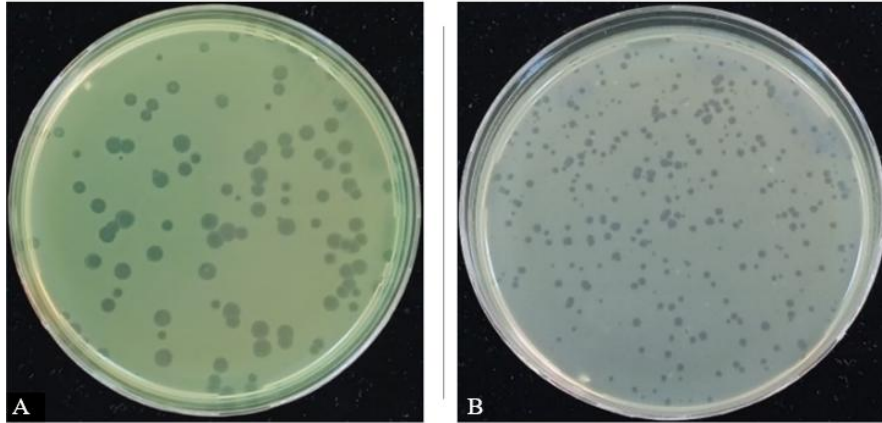
kullanıldı. Bu verilerin analizinde SPSS versiyon 25.0 (IBM-SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. İzolasyon ve Saflaştırılma

Balıkesir ilindeki üç farklı lokasyondan toplanan atık su örneklerinden, *P. aeruginosa*-özgü bakteriyofaj izolasyonu amacıyla uygun protokoller uygulandı. Bu çalışmalar sonucunda, konak *P. aeruginosa* suşları PA1 ve PA3'e karşı litik etki gösteren ve morfolojik olarak birbirinden farklılık gösteren iki bakteriyofaj izole edildi. Bu bakteriyofajlar, konak suşlarına atfen sırasıyla BAUNPA1 ve BAUNPA3 olarak adlandırıldı.

Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, her iki bakteriyofajın çift tabakalı agar ortamında oluşturduğu plakların morfolojik özellikleri incelendi. BAUNPA1'e ait plakların ~2–3 mm çapında, belirgin sınırlı, saydam ve çevresinde hale benzeri zonlar içerdiği gözlemlendi. BAUNPA3'e ait plakların ise daha küçük çaplı ($\sim \leq 1$ mm) ve daha az saydam olduğu belirlendi.

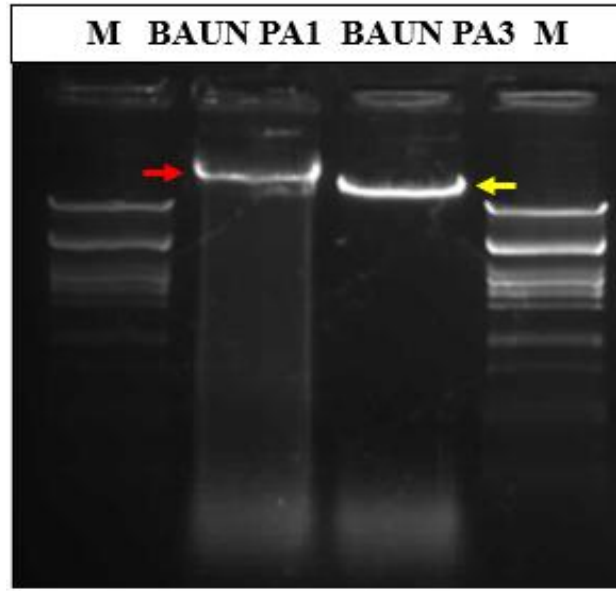


Şekil 4.1. İzole edilen bakteriyofajların plak morfolojisi.
A. BAUNPA1, B. BAUNPA3

4.2. Karakterizasyon

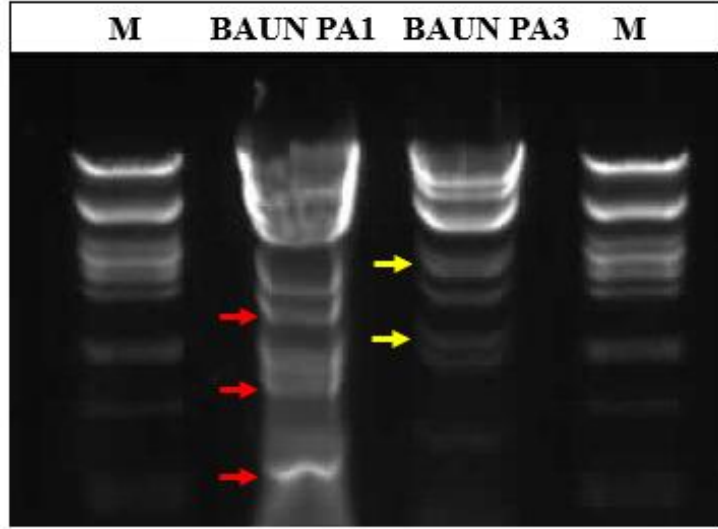
4.2.1. Total DNA ve Restriksiyon Profili

BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün genomik DNA bütünlüğünü değerlendirmek için agaroz jel elektroforezi yapıldı. Öncesinde, her iki bakteriyofaja ait total DNA izole edildi (Şekil 4.2). Jel üzerinde net ve yoğun bantlar halinde gözlenen bu DNA'lar, ekstraksiyonun etkin olduğunu ve nükleik asitlerin ileri moleküler analizler için yeterli kalitede olduğunu gösterdi.



Şekil 4.2. Bakteriyofajlara ait total DNA agaroz jel elektroforezi.

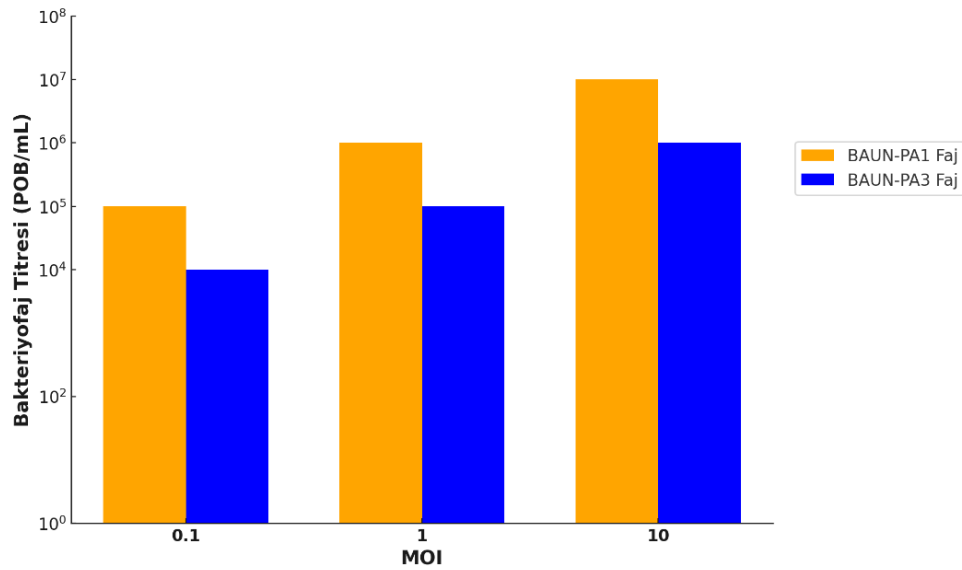
Şekil 4.3'de görülen, bakteriyofaj DNA'larının HinDIII restriksiyon endonükleazı ile kesimi sonucu elde edilen bant profilleri, her iki genomun farklı sayıda ve büyüklükte DNA fragmanlarına ayrıldığını gösterdi. Restriksiyon profillerindeki belirgin farklılıklar, BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün genomik yapı bakımından farklı olduğunu ortaya koydu.



Şekil 4.3. BAUNPA1 ve BAUNPA3 genomik DNA'larının HindIII kesim profili.

4.2.2. Optimum Enfeksiyon Çokluğu

Bakteriyofajların *in vitro* çoğalma verimliliğini değerlendirmek için 0.1, 1 ve 10 MOI değerlerinde denemeler yapıldı. Her bir koşul sonrası bakteriyofaj titreleri (POB/mL) belirlendi (Şekil 4.4).

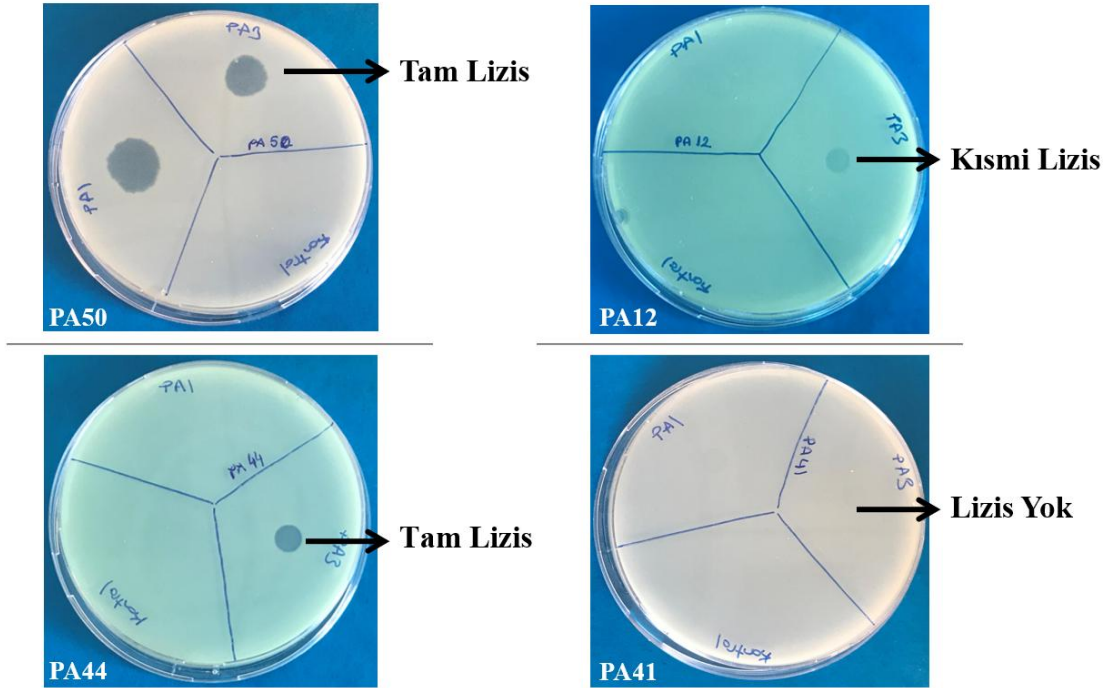


Şekil 4.4. Farklı MOI değerlerinde bakteriyofaj titreleri.

BAUNPA1'de MOI artışıyla titrede anlamlı yükselme gözlemlendi: MOI 0.1'de $\sim 10^5$ POB/mL, MOI 1'de 10^6 POB/mL, MOI 10'da 10^7 POB/mL. Bu durum, yüksek MOI'da konak hücrelere etkin adsorpsiyon ve verimli üretimle ilişkilendirildi. BAUNPA3'te de MOI artışıyla titre yükseldi: MOI 0.1'de $\sim 10^4$ POB/mL, MOI 1'de 10^5 POB/mL, MOI 10'da 10^6 POB/mL. Ancak BAUNPA3'ün üretim kapasitesinin BAUNPA1'e kıyasla daha düşük olduğu belirlendi. Her iki bakteriyofaj için optimum üretimin MOI 10'da gerçekleştiği saptandı.

4.2.3. Konak Aralığı

Konak aralığının belirlenmesi amacıyla, 50 *P. aeruginosa* suşu ile 5'er *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. maltophilia* ve *A. baumannii* suşuna karşı agar spot testi uygulandı. Plakların saydamlığına göre tam lizis (++), kısmi lizis (+) veya lizis yok (-) şeklinde sınıflandırıldı (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Bakteriyofaj konak aralığının belirlenmesi.

BAUNPA1, test edilen 50 *P. aeruginosa* suşunun 10'unda tam lizis (++), 7'sinde ise kısmi lizis (+) gösterdi; 33 suşta etkisizdi. Diğer bakteri türlerine karşı litik etki gözlemlenmedi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. BAUNPA1 bakteriyofajının litik etkinlik dağılımı (%).

	Bakteri	Agar Spot Test		
		Lizis Yok	Tam Lizis	Kısmi Lizis
BAUNPA1	<i>P. aeruginosa</i> (n:50)	66	20	14
	<i>K. pneumoniae</i> (n:5)	100	-	-
	<i>S. aureus</i> (n:5)	100	-	-
	<i>E. coli</i> (n:5)	100	-	-
	<i>S. maltophilia</i> (n:5)	100	-	-
	<i>A. baumannii</i> (n:5)	100	-	-

Buna karşılık, BAUNPA3, 50 *P. aeruginosa* suşunun 18'inde tam lizis, 12'sinde kısmi lizis göstermiş olup sadece 20 suşta etkisiz bulundu. Ayrıca BAUNPA3 farklı bakteri türlerinden yalnızca iki farklı *A. baumannii* izolatında kısmi lizis (+) gösterirken diğer tüm türlere karşı etkisiz bulundu (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. BAUNPA3 bakteriyofajının litik etkinlik dağılımı (%).

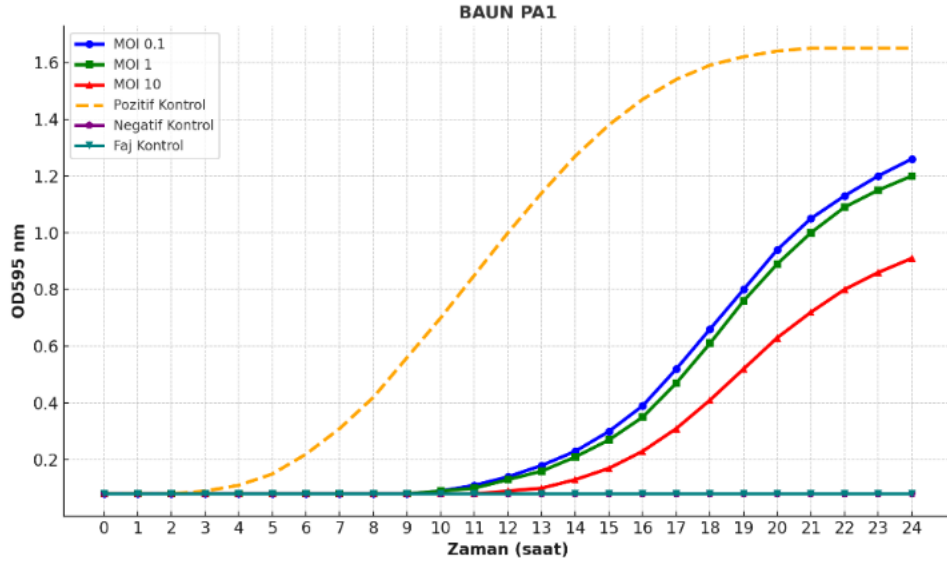
	Bakteri	Agar Spot Test		
		Lizis Yok	Tam Lizis	Kısmi Lizis
BAUNPA3	<i>P. aeruginosa</i> (n:50)	40	36	24
	<i>K. pneumoniae</i> (n:5)	100	-	-
	<i>S. aureus</i> (n:5)	100	-	-
	<i>E. coli</i> (n:5)	100	-	-
	<i>S. maltophilia</i> (n:5)	100	-	-
	<i>A. baumannii</i> (n:5)	60	-	40

Bu sonuçlar, her iki bakteriyofajın da litik etkinliğinin büyük ölçüde *P. aeruginosa* ile sınırlı olduğu, fakat BAUNPA3'ün daha geniş konak aralığı ve daha yüksek litik etki oranına sahip olduğu belirlendi.

4.2.4. Zamana Bağlı Etkinlik

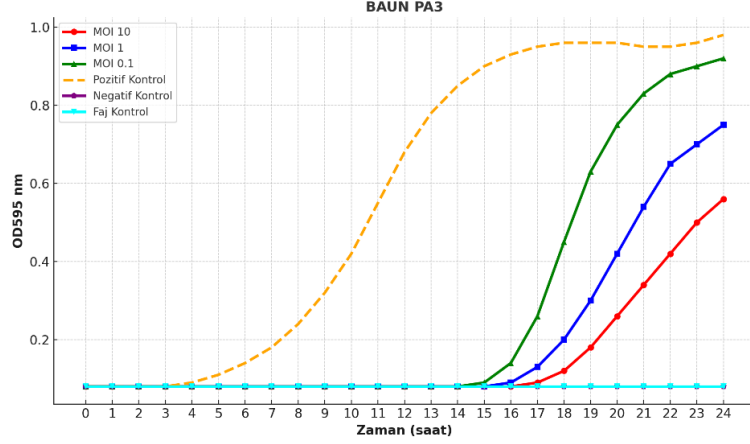
BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajlarının farklı MOI değerlerinde *P. aeruginosa* üzerine gösterdiği zamana bağlı üreme inhibisyonu, optik dansite ölçümleriyle değerlendirildi. Sadece konak bakterinin bulunduğu pozitif kontrolün OD değerinin yaklaşık 3. s den itibaren yükselmeye başladığı ve 7. s sonra hızlı bir çoğalma eğilimi göstererek 20. s te maksimum düzeye ulaştığı gözlemlendi. Sadece LB broth'un bulunduğu negatif kontrol ve bakteriyofaj lizatının bulunduğu kontrol gruplarında ise OD değerinin

sabit kaldığı gözlemlendi. BAUNPA1'in MOI 0.1 uygulamasında, yaklaşık 9. s den itibaren başlayan OD artışı pozitif kontrole kıyasla daha düşük seviyelerde seyretti. MOI 1 uygulamasında ise bakteriyel üremenin 10. s civarında başladığı ve pozitif kontrole göre baskılanmış olduğu gözlemlendi. MOI 10 uygulamasında ise bakteriyel üremenin yaklaşık 12. s kadar anlamlı düzeyde baskılandığı belirlendi. MOI düzeyinin artışı ile bakteriyofajın konak hücrelere etkili bir şekilde adsorbe olduğu ve bakteriyel üremenin daha uzun süre inhibe edildiği saptandı (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. BAUNPA1'in zamana bağlı üreme inhibisyonu.

BAUNPA3 için elde edilen verilere göre, bakteriyel üremenin MOI 0.1 uygulamasında yaklaşık 14. s, MOI 1 uygulamasında ise yaklaşık 15. s başladığı, en yüksek doz olan MOI 10'da ise bakteriyel üremenin 16. s kadar baskılandığı, bu sürenin ardından konak bakterinin yeniden üreme sürecine geçtiği saptandı (Şekil 4.7).



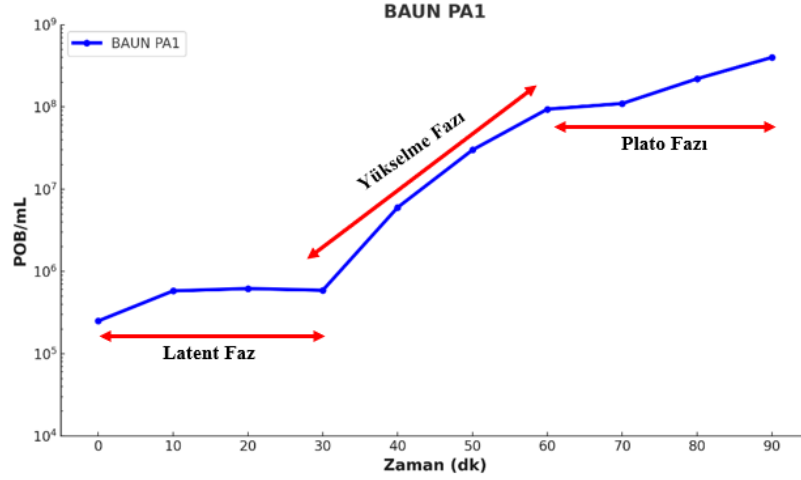
Şekil 4.7. BAUNPA3'ün zamana bağlı üreme inhibisyonu.

Elde edilen veriler, her iki bakteriyofajın da MOI değerine bağlı olarak konak bakteri üremesini farklı süre ve etkinlik düzeyinde baskıladığını, yüksek MOI düzeylerinde güçlü bir litik etki gösterdiğini ortaya koydu. Her iki bakteriyofaj için de en etkili MOI değerinin 10 olduğu ve bakteri üremesini yaklaşık >10 s in üzerinde baskıladıkları saptandı. BAUNPA3 ile yapılan uygulamalarda, bakteri üremesinin daha uzun süre baskılandığı görüldü.

4.2.5. Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi

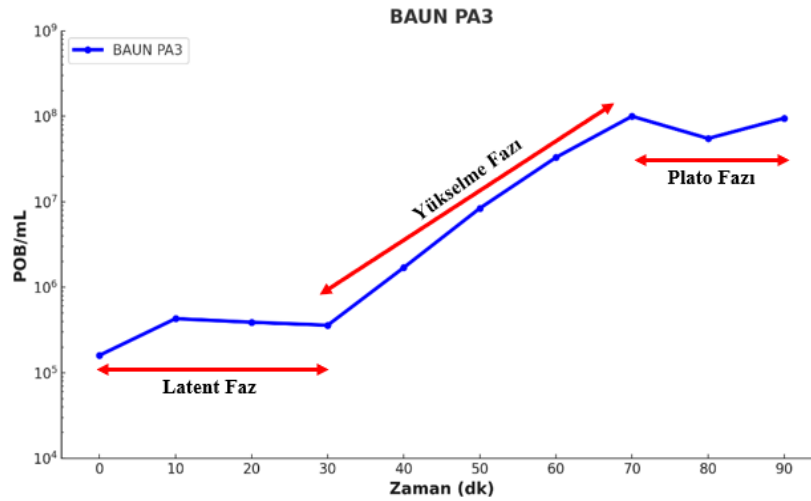
BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajlarının çoğalma eğrisini değerlendirmek amacıyla 0–90 dk aralığında her 10 dk da bir elde edilen titre verileri logaritmik ölçekte analiz edildi. Elde edilen veriler doğrultusunda bakteriyofajların çoğalma süreci; latent faz, yükselme fazı ve plato fazı olmak üzere üç temel evrede değerlendirildi.

BAUNPA1 çoğalma eğrisinde, ilk 30 dk sürenin latent faza karşılık geldiği, bu süre zarfında konak hücrelerde bakteriyofaj çoğalması başlamış olmakla birlikte, 30. dk dan itibaren titre de belirgin bir artış gözlenerek yükselme fazına geçildiği saptandı. Bu fazda, bakteriyofaj partiküllerinin konak hücrelerden salınarak 60. dk da $\sim 10^8$ POB/mL düzeyine ulaştığı görüldü. Yükselme fazını takiben titre düzeyinin yatay seyretmesi ile birlikte sistemin plato fazına girdiği belirlendi (Şekil 4.8). BAUNPA1 in patlama boyutu 189 faj, adsorpsiyon oranı %87,3 ve adsorpsiyon hızı $4,13 \times 10^{-9}$ mL/CFU/dakika olduğu saptandı.



Şekil 4.8. BAUNPA1'in tek adımlı çoğalma eğrisi.

BAUNPA3 çoğalma eğrisinde de, benzer şekilde latent faz olarak tanımlanan ilk 30 dk dan sonra bakteriyofaj çoğalmasının yükselme fazına geçtiği gözlemlendi. 70. dkya kadar olan süreçte, bakteriyofaj titresinin düzenli bir artış ile $\sim 10^8$ POB/mL düzeyine ulaştığı saptandı. Ancak 80. dk da titrede düşüş gözlemlenmiş, 90. dk da ise 70. dk düzeyine yükselmiştir (Şekil 4.9). BAUNPA3 ün patlama boyutu 43 faj, adsorpsiyon oranı %97,65 ve adsorpsiyon hızı $7,514 \times 10^{-9}$ mL/CFU/dakika olduğu saptandı.

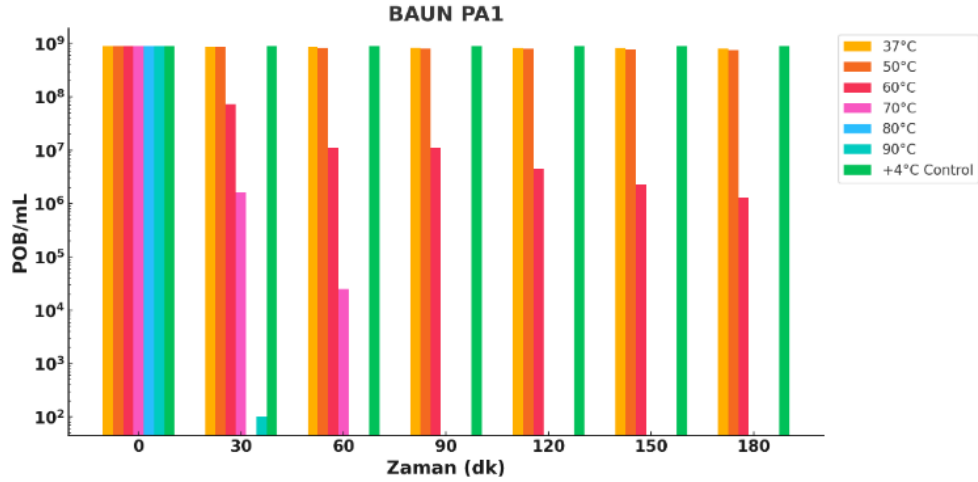


Şekil 4.9. BAUNPA3'ün tek adımlı çoğalma eğrisi.

4.2.6. Farklı Çevresel Koşulların Stabiliteye Etkisi

BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajlarının farklı sıcaklıklarda (37°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C ve kontrol amacıyla 4°C’de) 180 dk süreyle gösterdikleri termal stabilite, farklı pH değerlerinde (pH 2, 4, 6, 8, 10, 12 ve kontrol amacıyla pH 7’de) 180 dk süreyle gösterdikleri pH stabilitesi, ÇTAY kullanılarak değerlendirildi. Bakteriyofaj titrelerinde meydana gelen değişimler logaritmik ölçekte analiz edilerek, sıcaklık ve pH değişiminin litik bakteriyofajlar üzerindeki etkileri karşılaştırmalı olarak saptandı.

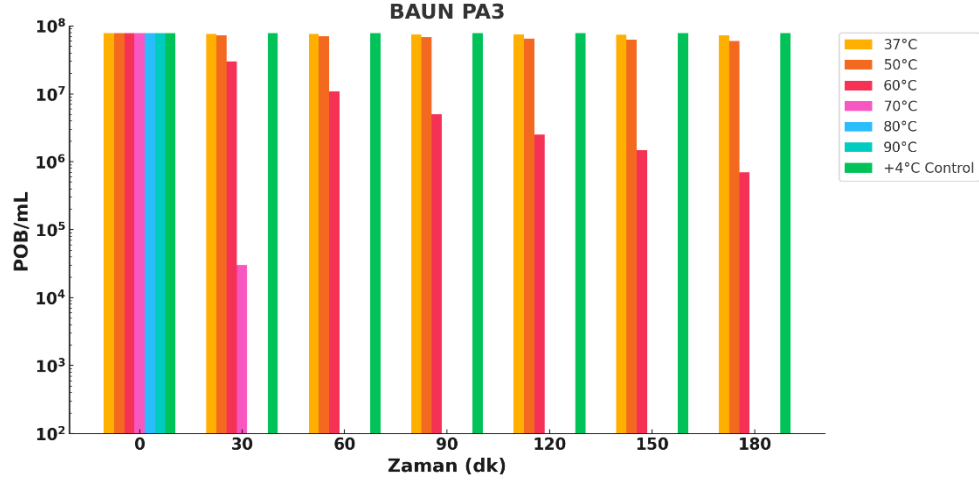
Elde edilen verilere göre BAUNPA1’in titresinin, 37°C ve 50°C’de 180 dk süreyle, minimal titre kaybı ile stabil kaldığı, 60°C’de ise kademeli bir azalma (~10⁶ POB/mL) gösterdiği saptandı. 70°C’de titre değeri 30. dk da yaklaşık 10⁶ POB/mL’ye, 60. dk da 10⁴ POB/mL’ye düşerken, 90. dk dan itibaren ise enfeksiyöz partikül saptanmadı. 80°C ve 90°C’de 30. dk da inaktivasyon başlarken 60. dk dan itibaren bakteriyofajın tamamen inaktive olduğu saptandı. Kontrol amacıyla +4°C’de inkübe edilen grupta ise tüm süre boyunca anlamlı bir titre kaybı görülmedi (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. BAUNPA1’in farklı sıcaklıklarda titre değişimi.

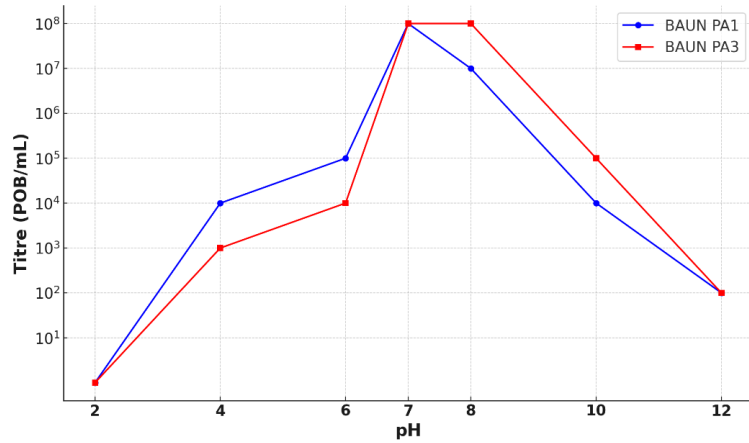
BAUNPA3’ün titresinin benzer şekilde, 37°C ve 50°C’de 180 dk süreyle, minimal titre kaybı ile stabil kaldığı, 60°C’de ise BAUNPA1’e benzer bir titre kaybı gözlenirken, 70°C’de titre değeri 30. dk da yaklaşık 10⁴ POB/mL’ye düştü. Kontrol grubunda anlamlı bir aktivite kaybı izlenmedi (Şekil 4.11). Bu bulgular, BAUNPA1 bakteriyofajının,

potansiyel terapötik veya biyoteknolojik uygulamalarda daha geniş bir ısıl tolerans aralığına sahip olduğunu gösterdi.



Şekil 4.11. BAUNPA3'ün farklı sıcaklıklarda titre değişimi.

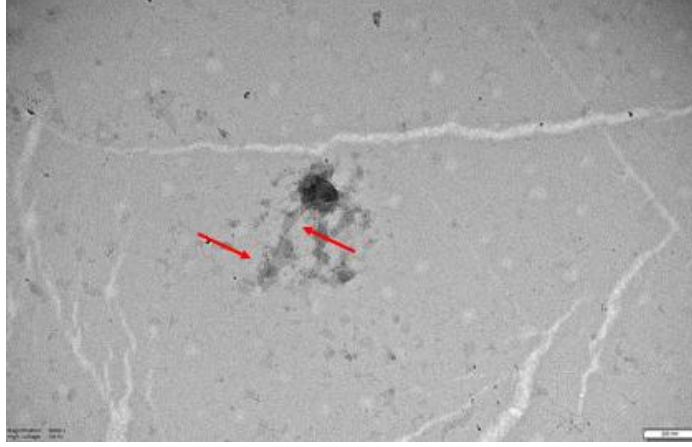
Bakteriyofajların farklı pH değerlerine karşı stabilitelerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen *in vitro* çalışmada, her iki bakteriyofaj nötr (pH 7) ve hafif bazik (pH 8) koşullarda stabil kalırken, ekstrem asidik (pH 2-4) ve bazik (pH 10-12) koşullarda belirgin inaktivasyon gözlemlendi. BAUNPA1, pH 4 ve pH 6'da kısmi enfeksiyözitesini korurken (sırasıyla 10⁴ ve 10⁵ POB/mL); BAUNPA3'ün aynı pH'larda daha düşük titresine vardı (10³ ve 10⁴ POB/mL). pH 12'de her ikisinde de titre ~10² POB/mL'ye düştü (Şekil 4.12). Bu veriler, terapötik uygulamalarda pH tamponlamanın önemini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.12. Farklı pH değerlerinde bakteriyofajların titre değişimi.

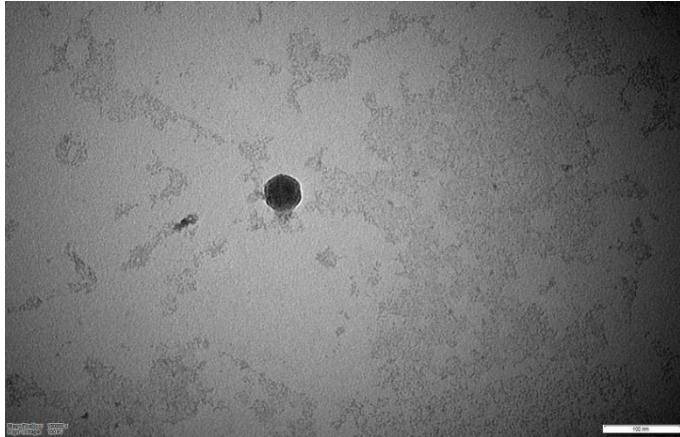
4.2.7. Morfolojik Karakterizasyon

BAUNPA1 bakteriyofajına ait, 5.000x büyütme ile elde edilen ve 200 nm ölçek çubuğu içeren TEM görüntüsü (Şekil 4.13), belirgin izometrik baş yapısına ek olarak uzun ve ince bir kuyruk yapısının varlığını ortaya koymuştur.



Şekil 4.13. BAUNPA1'in TEM görüntüsü.

BAUNPA3 bakteriyofajına ait, 150.000x büyütme ile elde edilen ve 100 nm ölçek çubuğu içeren TEM görüntüsü (Şekil 4.14) ise belirgin izometrik baş yapısı sergilerken belirgin bir kuyruk gözlenemedi. Kuyruğun gözlenmemesi, teknik sınırlamalarla ilişkili olabilir.



Şekil 4.14. BAUNPA3'ün TEM görüntüsü.

4.3. İzolatların Örnek Türlerine Göre Dağılımı

Toplam 50 *P. aeruginosa* izolatu değerlendirilerek örnek türü, cinsiyet ve klinik birime göre dağılımları belirlendi. Yapılan analizlerde, en sık izolasyonun balgam örneklerinden gerçekleştirildiği tespit edildi (%22; n=11). Balgamı sırasıyla yara yeri örnekleri (%18; n=9), kan ve konjunktiva örnekleri (%2; n=1'er) izledi. Cinsiyet dağılımı incelendiğinde, izolatların %82'sinin (n=41) erkek, %18'inin (n=9) kadın hastalardan elde edildiği belirlendi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. *P. aeruginosa* izolatlarının dağılımı.

Örnek Türü	Sayı	Yüzde (%)
Trakeal Aspirat	12	24
Balgam	11	22
İdrar	9	18
Yara	9	18
Kulak	5	10
Kan	1	2
Periton	1	2
Konjunktiva	1	2
Abse	1	2
Cinsiyet		
Erkek	41	82
Kadın	9	18
Klinik		
Poliklinik	27	54
Servis	16	32
Yoğun Bakım	7	14

4.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

P. aeruginosa izolatlarının antimikrobiyal direnç profilleri disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak belirlendi.

4.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi Sonuçları

MÇTA-DD yöntemi bakteriyofaj-antibiyotik/peptid kombinasyonlarının sinerjik etkilerini incelemeye önce, kullanılan antimikrobiyallerin agardaki difüzyon etkinliğini ve *P. aeruginosa* izolatları üzerinde inhibisyon zonu oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla uygulandı. Elde edilen inhibisyon zon çapları Tablo 4.4'te sunulmuştur. Bu testteki zon çaplarına ilişkin herhangi bir duyarlılık değerlendirmesi yapılmamış; veriler yalnızca MÇTA-DD yönteminin uygulanabilirliğini destekleyen ön inceleme olarak ele alınmıştır.

Tablo 4.4. Disk difüzyon yöntemine göre antibiyotik ve peptidlerin inhibisyon zon çapları (mm).

Antibiyotik/ Peptid	Zon Çapı (mm)		
	≤10	10-25	≥26
CIP	-	23	27
MEM	2	48	-
MUR	0	50	-
PEX	3	47	-
TOB	3	39	8

CIP: Siprofloksasin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

4.4.2. Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi Sonuçları

Altı farklı antimikrobiyal ajanın klinik örneklerden izole edilen 50 *P. aeruginosa* suşuna karşı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerleri belirlendi. Antibiyotiklerin MİK değerleri, EUCAST 2025 kriterleri doğrultusunda yorumlandı. MİK değer aralıkları Tablo 4.5, MİK₅₀, MİK₉₀ değerleri Tablo 4.6'te verildi.

CIP için MİK₅₀: 0.25 µg/mL, MİK₉₀: 16 µg/mL; izolatların %42'si dirençli, %58'i yüksek dozda duyarlı olduğu; COL için MİK₅₀: 0.5 µg/mL, MİK₉₀: 1 µg/mL; tüm izolatların duyarlı olduğu; MEM için MİK₅₀: 0.5 µg/mL, MİK₉₀: 16 µg/mL; izolatların %12'sinin dirençli olduğu; TOB için MİK₅₀: 0.5 µg/mL, MİK₉₀: 8 µg/mL; izolatların %16'sının dirençli olduğu; peptidler, MUR için MİK₅₀: 0.25 µg/mL, MİK₉₀: 0.5 µg/mL; PEX için ise MİK₅₀: 16 µg/mL, MİK₉₀: 32 µg/mL olarak saptandı.

Tablo 4.5. Antibiyotik ve peptidlerin MİK değerlerinin dağılımı (µg/mL).

	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06	
Antibiyotik	COL						11	23	7	6	3	
	MEM			5	1	2	4	11	14	9	3	1
	CIP		2	5	1	3	4	2	4	9	14	6
	TOB	1	1	1	4	1		4	26	9	3	
Peptid	MUR						2	8	23	14	3	
	PEX	5	14	19	12							

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

MUR ve PEX için klinik sınır değerler tanımlı olmadığından duyarlılık değerlendirmesi yapılamadı. En yüksek direnç CIP ile gözlenirken, COL dirençli izolata rastlanmadı. MUR'in, antimikrobiyaller arasında en dar MİK değer dağılımına sahip olduğu görüldü.

Tablo 4.6. Antibiyotik ve peptidlerin duyarlılık profillerinin dağılımı.

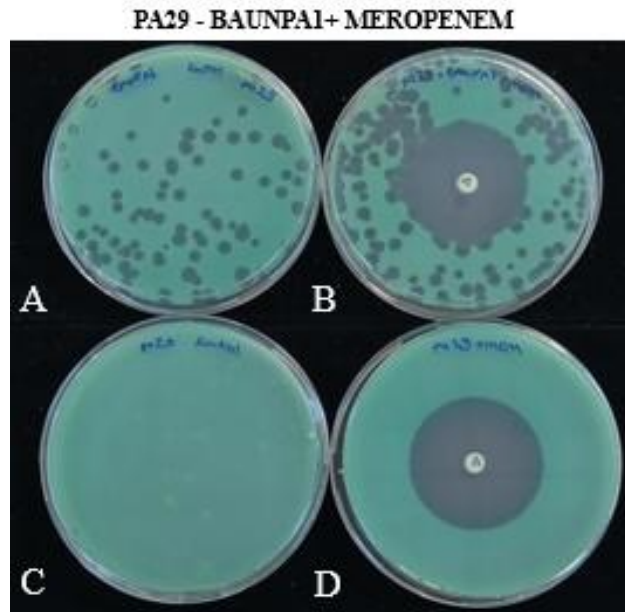
	MİK ₅₀	MİK ₉₀	%S	%YDD	%R	
Antibiyotik	COL	0.5	1	100	-	-
	MEM	0.5	16	88	-	12
	CIP	0.25	16	-	58	42
	TOB	0.5	8	84	-	16
Peptid	MUR	0.25	0.5	*	*	
	PEX	16	32	*	*	

*Sınır değer bulunmamaktadır. CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

4.5. Bakteriyofaj-Antibiyotik/Peptid Sinerjik Etkileşim Sonuçları

4.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi

MÇTAY–disk difüzyon yöntemi kullanılarak, BAUNPA1 ve BAUNPA3 ile antibiyotik/peptid kombinasyonlarının, litik aktiviteye duyarlı beş farklı *P. aeruginosa* izolatu üzerindeki etkileri değerlendirildi. Antibiyotik/peptid disklerinin inhibisyon zon çapları ve kombinasyonların plak boyutu üzerindeki değişimleri, kontroller ile karşılaştırıldı. Deneysel düzenek aşağıda örneklendi (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. PA29 suşuna karşı BAUNPA1-meropenem kombinasyonunun MÇTAY-DD ile değerlendirilmesi. (A) BAUNPA1–PA29, (B) BAUNPA1–PA29 + Ab disk (C) PA29, (D) PA29 + Ab disk.

BAUNPA1 fajı ile gerçekleştirilen uygulamalarda, zon artışları, izolat 29'da CIP/MUR (+2 mm); izolat 34'te TOB (+4 mm); izolat 49'da MEM/MUR (+2 mm); izolat 50'de PEX (+4 mm) şeklinde gözlemlendi (Tablo 4.7).

Plak boyutu artışları ise, izolat 29'da MEM (+1 mm); izolat 34'te CIP/COL/MEM (+1-2-1 mm); izolat 49'da CIP/MEM (+2-1 mm) şeklinde gözlenerek (Şekil 4.16) Tablo 4.8'de verildi.

Tablo 4.7. BAUNPA1-antibiyotik/peptid disk kombinasyonlarının inhibisyon zon çapları (mm).

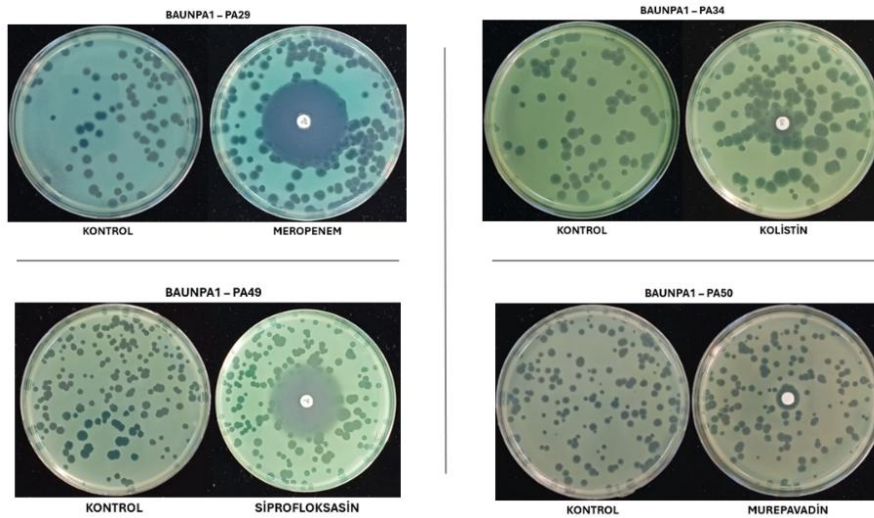
İzolat No	Antibiyotikler								Peptidler			
	F+		F+		F+		F+		F+		F+	
	CIP	CIP	COL	COL	MEM	MEM	TOB	TOB	MUR	MUR	PEX	PEX
1	36	36	11	11	36	36	12	13	13	13	7	7
29	37	39	7	8	40	40	13	14	12	14	7	10
34	35	36	8	10	34	35	9	13	13	12	10	13
49	34	35	12	13	36	38	10	11	13	15	7	9
50	22	23	10	10	7	12	9	10	12	13	7	11

F: BAUNPA1, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Tablo 4.8. BAUNPA1-antibiyotik/peptid disk kombinasyonlarının plak boyutuna etkisi (mm).

İzolat No	Kontrol	Antibiyotikler				Peptidler	
		F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
1	2	2	2	2	2	2	2
29	2	2	2	3	2	2-2.5	2
34	2	3	4	3	3	2	2
49	2	4	2	3	2	2	2
50	2	2	2	2	2	2	2

F: BAUNPA1, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin



Şekil 4.16. BAUNPA1-antimikrobiyal disk kombinasyonlarının plak morfolojisi ve inhibisyon zonu üzerine etkisi.

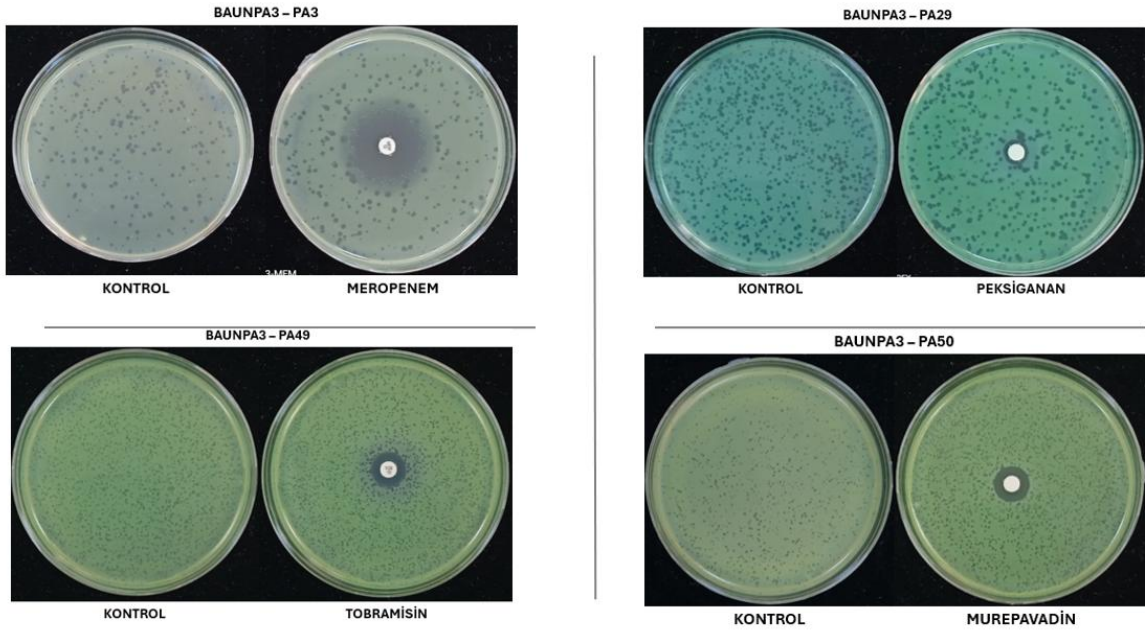
BAUNPA3 fajı ile gerçekleştirilen uygulamalarda, zon artışları, izolat 3’de MEM/TOB (+2-5 mm); izolat 29’da TOB/MUR (+2 mm); izolat 34’da COL (+2 mm) şeklinde gözlemlendi (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. BAUNPA3-antibiyotik/peptid disk kombinasyonlarının inhibisyon zon çapları (mm).

İzolat No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+		F+		F+		F+		F+			
	CIP	CH	COL	COL	MEM	MEM	TOB	TOB	MUR	MUR	PEX	PEX
3	33	33	16	16	22	24	17	22	14	16	10	10
29	37	38	9	10	39	40	15	17	13	15	8	8
34	34	34	9	11	33	33	11	11	12	12	9	9
49	32	33	12	12	36	36	12	13	13	13	7	7
50	22	23	9	9	7	7	11	12	13	13	7	7

F: BAUNPA3, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Plak boyutu artışları ise, izolat 3’te MEM (+0.5 mm) ve 49’da TOB (+0.5 mm) şeklinde gözlenerek (Şekil 4.17) Tablo 4.10’de verildi.



Şekil 4.17. BAUNPA3-antimikrobiyal disk kombinasyonlarının plak morfolojisi ve inhibisyon zonu üzerine etkisi.

Tablo 4.10. BAUNPA3 ile antibiyotik/peptid disk kombinasyonlarının plak boyutuna etkisi (mm).

İzolat No	Kontrol	Antibiyotikler				Peptidler	
		F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
3	≤1	≤1	≤1	1-1.5	≤1	≤1	≤1
29	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
34	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
49	≤1	≤1	≤1	≤1	1-1.5	≤1	≤1
50	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1

F: BAUNPA3, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

4.5.2. Alt Agara Sub-MİK Antibiyotik/ Peptid Eklenmesi

Bakteriyofajlar ile MÇTA-AA sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesiyle plak boyutu ve sayısında artışa neden olduğu görüldü. BAUNPA1'in plak çapında İzolat 1'de CIP (+1 mm), MEM (+1 mm); İzolat 29'da COL (+1 mm) ve MEM (+2 mm), İzolat 49'da CIP ve MEM (+2 mm), İzolat 34'te ise TOB (+2 mm) artış saptandı (Tablo 4.11, Şekil 4.20).

Tablo 4.11. BAUNPA1 ile alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak boyutuna etkisi (mm).

İzolat No	Kontrol	Antibiyotikler				Peptidler	
		F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
1	2	3	2	3	2	2	2
29	3	3	4	5	3	3	3
34	2	3	3	3	4	2	2
49	1	3	2	3	2	2	2
50	2	2	2	2	2	2	2

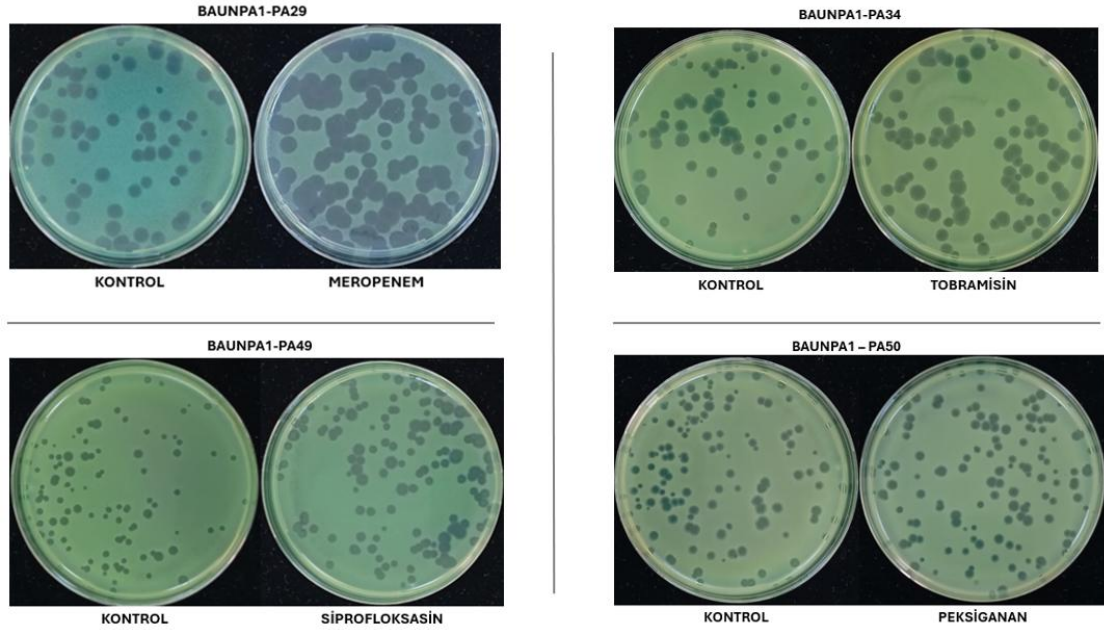
F: BAUNPA1, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Kontrolle kıyasla BAUNPA1 plak sayısı İzolat 1'de MEM (+19) ve TOB (+42); İzolat 29 ve 34'te MEM (+17), COL (15); İzolat 49'da MEM (+23) ve MUR (+53); İzolat 50'de ise PEX (+28), MUR (+22) eklenmesiyle artmıştır (Tablo 4.12 ve Şekil 4.18).

Tablo 4.12. BAUNPA1 ile alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak sayısına etkisi.

İzolat No	Antibiyotikler				Peptidler		
	Kontrol	F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
1	106	100	113	125	148	118	108
29	64	60	79	81	61	66	60
34	77	94	99	100	88	82	79
49	72	89	98	117	76	125	85
50	102	110	105	112	117	124	130

F: BAUNPA1, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin



Şekil 4.18. Alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin BAUNPA1'in plak boyutu ve plak sayısına etkisi

BAUNPA3 ile MÇTA-AA sub-MİK eklenen antibiyotik/peptidlerin eklenmesiyle plak çapında artışlar görüldü. İzolat 3'te TOB (+0.5 mm); İzolat 29 ve 34'te ise CIP (+0.5-1 mm) eklenmesiyle sınırlı artışlar görülürken, diğer kombinasyonlarda değişiklik görülmedi (Tablo 4.13 ve Şekil 4.21).

Tablo 4.13. BAUNPA3 ile alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak boyutuna etkisi (mm).

İzolat No	Antibiyotikler					Peptidler	
	Kontrol	F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
3	≤1	≤1	≤1	≤1	1-1.5	≤1	≤1
29	≤1	1.5-2	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
34	≤1	1-1.5	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
49	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1
50	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1

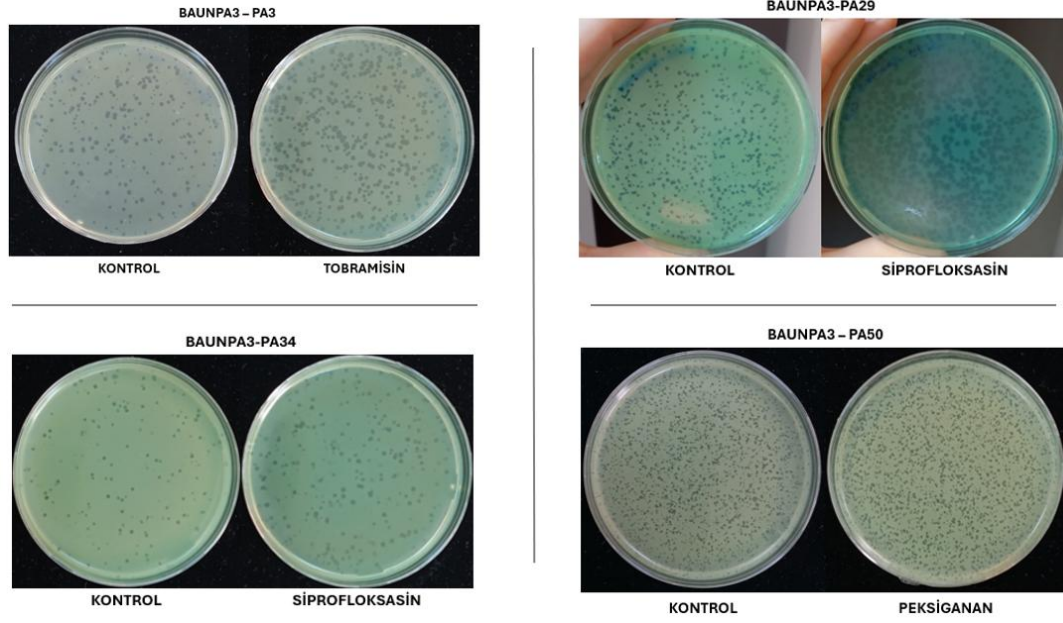
F: BAUNPA3, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

BAUNPA3 ile MÇTA-AA sub-MİK eklenen antibiyotik/peptidlerin eklenmesiyle plak sayısında artışlar görüldü. İzolat 3'te COL (+81) ve MEM (+73); izolat 29'da COL (+20) ve MUR (+4); izolat 34'te MEM (+52) ve CIP (+44); izolat 49'da TOB (+40) ve CIP (+8); izolat 50'de ise TOB ile (+8) arttığı belirlendi (Tablo 4.14 ve Şekil 4.19).

Tablo 4.14. BAUNPA3 ile alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak sayısına etkisi.

İzolat No	Antibiyotikler					Peptidler	
	Kontrol	F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
3	151	208	232	224	204	196	204
29	212	196	232	212	216	188	196
34	92	136	124	144	112	96	98
49	348	356	344	388	324	276	332
50	368	356	332	376	356	296	344

F: BAUNPA3, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin



Şekil 4.19. Alt agara sub-MİK antibiyotik/ peptid eklenmesinin BAUNPA3'ün plak boyutuna ve plak sayısına etkisi.

4.5.3. Yumuşak Agara Sub-MİK Antibiyotik/ Peptid Eklenmesi

Bakteriyofajlar ile MÇTA-YA sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesiyle plak boyutu ve sayısında artışa neden olduğu görüldü. BAUNPA1'in plak çapında, İzolat 29'da COL (+1 mm), MEM (+2 mm); İzolat 34'te CIP, MEM ve TOB (+1 mm); İzolat 49'da ise tüm antimikrobiyaller de (+1 mm) artış olduğu saptandı (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. BAUNPA1 ile yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak boyutuna etkisi (mm).

İzolat No	Kontrol	Antibiyotikler				Peptidler	
		F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
1	2	2	2	2	2	2	2
29	2	2	3	4	2	2	2
34	2	3	2	3	3	2	2
49	1	2	2	2	2	2	2
50	2	2	2	2	2	2	2

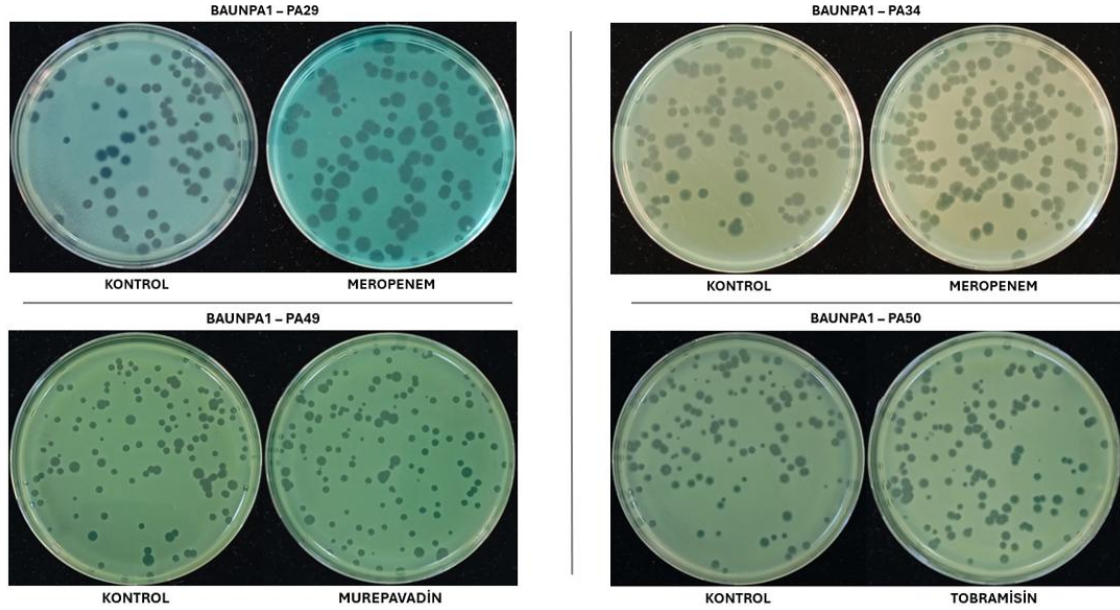
F: BAUNPA1, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

BAUNPA1 ile MÇTA-YA sub-MİK eklenen antibiyotik/peptidlerin eklenmesiyle plak sayısında artış görüldü. İzolat 1 ve 29'da sırasıyla CIP (+54, +44) ve MEM (+46, +60); İzolat 34'te PEX (+31) ve COL (+24); İzolat 49'da CIP (+82) ve COL (+71); İzolat 50'de ise MEM (+40) ve COL (+28) eklenmesiyle plak sayısında artış görüldü (Tablo 4.16 ve Şekil 4.20).

Tablo 4.16. BAUNPA1 ile yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak sayısına etkisi.

İzolat No	Kontrol	Antibiyotikler				Peptidler	
		F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
1	106	160	132	152	148	136	144
29	84	128	106	144	83	90	88
34	97	111	121	112	82	90	128
49	72	154	143	128	121	102	98
50	102	129	130	142	117	114	120

F: BAUNPA1, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin



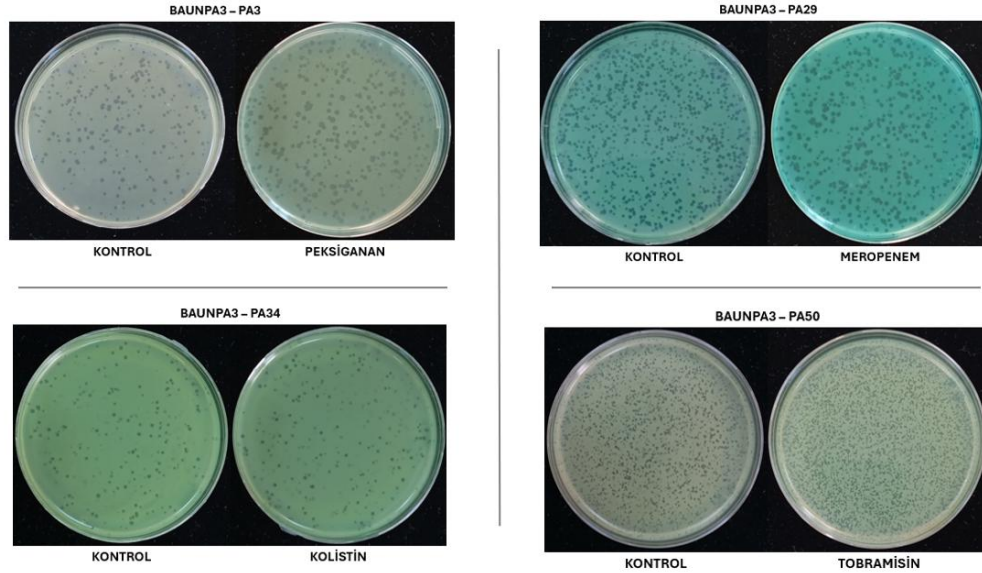
Şekil 4.20. Yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin BAUNPA1'ün plak boyutuna ve plak sayısına etkisi

Tablo 4.17. BAUNPA3 ile yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak boyutuna etkisi (mm).

İzolat No	Antibiyotikler						Peptidler	
	Kontrol	F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX	
3	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	
29	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	1-1.5	
34	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	
49	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	
50	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	≤1	

F: BAUNPA3, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

BAUNPA3 ile MÇTA-YA sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesiyle plak boyutunda bir değişiklik görülmedi (Tablo 4.17).



Şekil 4.21. Yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi BAUNPA3'ün plak boyutu ve plak sayısına etkisi

BAUNPA3 ile MÇTA-YA yönteminde sub-MİK konsantrasyonda antibiyotik/peptid eklenmesi sonucunda plak sayısında artışlar gözlemlendi. İzolat 3, 29 ve 34'te MEM sırasıyla (+28, +20 ve +16), COL ise aynı izolatlarda (+12, +6 ve +12) artış sağlamıştır. İzolat 49'da COL (+16) ve CIP (+12); İzolat 50'de ise TOB (+32) ve COL (+12) eklenmesiyle plak sayısında artış olduğu belirlendi (Şekil 4.21).

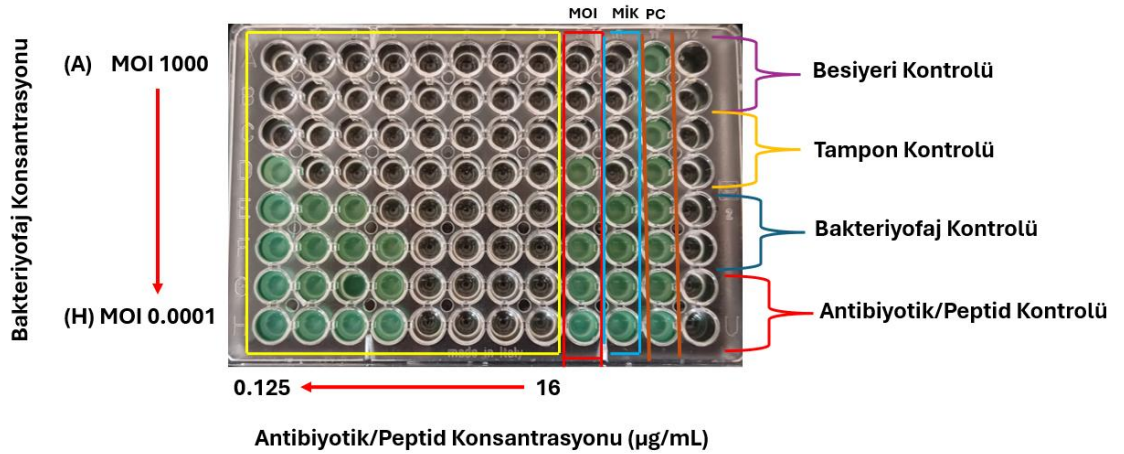
Tablo 4.18. BAUNPA3 ile yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesinin plak sayısına etkisi.

İzolat No	Antibiyotikler				Peptidler		
	Kontrol	F+CIP	F+COL	F+MEM	F+TOB	F+MUR	F+PEX
3	216	208	228	244	208	200	220
29	218	200	224	238	204	188	200
34	188	192	200	204	156	176	128
49	336	348	352	324	332	296	288
50	324	344	336	356	332	324	320

F: BAUNPA3, CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem
MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

4.5.4. Dama Tahtası Yöntemi

Bakteriyofaj-antibiyotik/peptid sinerjisinin değerlendirilmesi için dama tahtası yöntemi kullanılarak iki farklı yaklaşım uygulandı. İlk yaklaşımda, bakteriyofaj ve antibiyotik/peptid eşzamanlı olarak, ikinci yaklaşımda ise ardışık olarak kullanıldı. Deneysel düzenek aşağıda örneklendi (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. BAUNPA3-meropenem kombinasyonunun dama tahtası ile PA29 suşuna karşı değerlendirilmesi.

Eşzamanlı Kullanım

BAUNPA1-antibiyotik/peptid eşzamanlı kullanımı, MEM ile 4, CIP, ve COL ile 3 izolatta sinerjik etki ($FİKİ \leq 0.5$) gösterdi (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. BAUNPA1-antibiyotik/peptid eşzamanlı kullanımının FİKİ değerleri ve etkileşim sonuçları.

İzolot No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y
	CIP		COL		MEM		TOB		MUR		PEX	
1	0.340	S	0.160	S	0.350	S	1.100	A	1.240	A	1.100	A
29	0.580	A	0.160	S	0.350	S	1.500	A	2.010	A	1.125	A
34	0.220	S	0.600	A	0.131	S	1.100	A	1.060	A	0.510	A
49	0.220	S	0.350	S	0.225	S	1.100	A	1.060	A	1.500	A
50	1.120	A	0.510	A	0.510	A	1.125	A	1.010	A	1.031	A

Y: Yorum, S: Sinerji, A: Additif CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, TOB: Tobramisin, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan

BAUNPA3-antibiyotik/peptid eşzamanlı kullanımı, CIP ve MEM ile 5, COL ile 3, TOB ve PEX ile 2 izolatta sinerjik etki gösterdi (Tablo 4.20).

Tablo 4.20. BAUNPA3-antibiyotik/peptid eşzamanlı kullanımının FİKİ değerleri ve etkileşim sonuçları.

İzolot No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y
	CIP		COL		MEM		TOB		MUR		PEX	
3	0.340	S	1.250	A	0.350	S	1.010	A	1.120	A	1.062	A
29	0.340	S	0.160	S	0.225	S	0.600	A	1.100	A	1.010	A
34	0.131	S	0.130	S	0.162	S	0.162	S	1.060	A	0.350	S
49	0.220	S	0.510	A	0.225	S	0.220	S	0.600	A	0.510	A
50	0.350	S	0.260	S	0.162	S	0.510	A	0.600	A	0.260	S

Y: Yorum, S: Sinerji, A: Additif CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, TOB: Tobramisin, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan

Ardışık Kullanım

BAUNPA1-antibiyotik/peptid ardışık (önce faj) kullanımı, COL ve MEM ile 5, CIP ve TOB ile 4, MUR ve PEX ile 3 izolatta sinerjik etki gösterdi (Tablo 4.21). BAUNPA3-antibiyotik/peptid ardışık (önce faj) kullanımı, CIP ve MEM ile 5, COL ve TOB ile 4, MUR ve PEX ile 3 izolatta sinerjik etki gösterdi (Tablo 4.22).

Tablo 4.21. BAUNPA1-antibiyotik/peptid ardışık (önce faj) kullanım FİKİ değerleri ve etkileşim sonuçları.

İzolot No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+ CIP	Y	F+ COL	Y	F+ MEM	Y	F+ TOB	Y	F+ MUR	Y	F+ PEX	Y
1	0.340	S	0.350	S	0.350	S	0.340	S	0.340	S	0.350	S
29	0.250	S	0.160	S	0.350	S	0.225	S	0.580	A	0.600	A
34	0.162	S	0.130	S	0.162	S	0.350	S	0.220	S	0.225	S
49	0.350	S	0.225	S	0.160	S	0.350	S	0.350	S	0.350	S
50	0.600	A	0.160	S	0.225	S	0.600	A	0.600	A	0.600	A

Y: Yorum, S: Sinerji, A: Additif CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, TOB: Tobramisin, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan

Tablo 4.22. BAUNPA3-antibiyotik/peptid ardışık (önce faj) kullanım FİKİ değerleri ve etkileşim sonuçları.

İzolot No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+ CIP	Y	F+ COL	Y	F+ MEM	Y	F+ TOB	Y	F+ MUR	Y	F+ PEX	Y
3	0.350	S	0.510	A	0.350	S	0.340	S	0.580	A	0.600	A
29	0.340	S	0.160	S	0.162	S	0.350	S	0.600	A	0.600	A
34	0.250	S	0.260	S	0.225	S	0.225	S	0.340	S	0.350	S
49	0.131	S	0.225	S	0.162	S	0.350	S	0.220	S	0.225	S
50	0.350	S	0.260	S	0.162	S	0.600	A	0.350	S	0.350	S

Y: Yorum, S: Sinerji, A: Additif CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, TOB: Tobramisin, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan

BAUNPA1-antibiyotik/peptid ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanımı, MEM ile 5, COL ile 4, CIP ile 3 ve TOB ile 1 izolatta sinerjik etki gösterdi (Tablo 4.23).

Tablo 4.23. BAUNPA1-antibiyotik/peptid ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanım FİKİ değerleri ve etkileşim sonuçları.

İzolot No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y
	CIP		COL		MEM		TOB		MUR		PEX	
1	0.600	A	0.225	S	0.350	S	1.010	A	1.120	A	0.600	A
29	0.350	S	0.160	S	0.225	S	0.510	A	0.580	A	1.010	A
34	0.250	S	0.130	S	0.162	S	0.350	S	0.600	A	0.510	A
49	0.340	S	0.260	S	0.225	S	0.600	A	0.600	A	0.510	A
50	0.600	A	0.510	A	0.162	S	1.010	A	1.060	A	1.062	A

Y: Yorum, S: Sinerji, A: Additif CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, TOB: Tobramisin, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan

BAUNPA3-antibiyotik/peptid ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanımı, MEM ile 5, COL ile 4 ve CIP ile 2 izolatta sinerjik etki gösterdi (Tablo 4.24).

Tablo 4.24. BAUNPA3-antibiyotik/peptid ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanım FİKİ değerleri ve etkileşim sonuçları.

İzolot No	Antibiyotikler						Peptidler					
	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y	F+	Y
	CIP		COL		MEM		TOB		MUR		PEX	
3	0.600	A	0.260	S	0.225	S	0.600	A	1.100	A	0.600	A
29	0.600	A	0.160	S	0.350	S	0.600	A	0.600	A	1.010	A
34	0.340	S	0.130	S	0.162	S	0.510	A	1.060	A	0.600	A
49	0.350	S	0.225	S	0.162	S	0.510	A	0.600	A	0.510	A
50	0.600	A	0.600	A	0.350	S	1.010	A	1.120	A	1.062	A

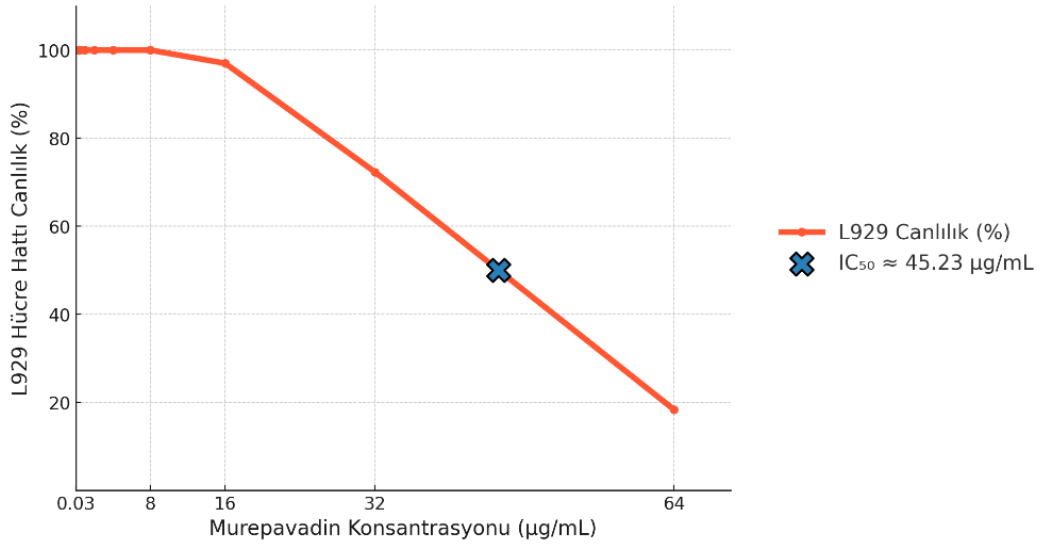
Y: Yorum, S: Sinerji, A: Additif CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem, TOB: Tobramisin, MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan

4.6. Sitotoksik Aktivite

L929 hücre hattında MUR ve PEX'in sitotoksik etkisini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmada, hücreler farklı konsantrasyonlarda muamele edildikten sonra 48 s inkübe edilmiştir. Hücre canlılığı, mitokondriyal aktiviteye dayalı MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi ile değerlendirildi ve ölçümler 570 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi.

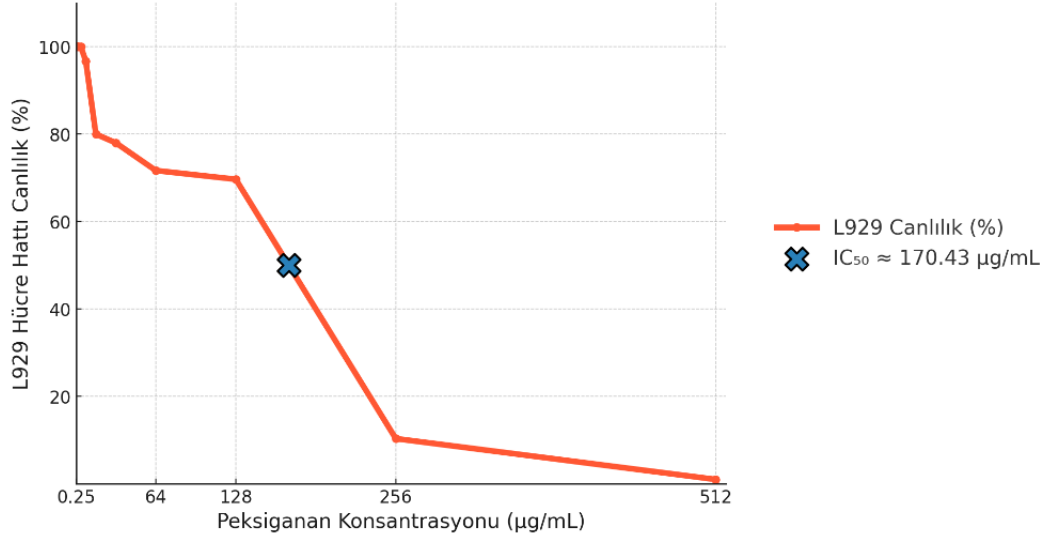
Elde edilen ortalama canlılık yüzdelerine göre, MUR'in düşük konsantrasyonlarda ($\leq 8 \mu\text{g/mL}$) L929 hücreleri üzerinde belirgin bir sitotoksik etki göstermediği ve hücre canlılığının $\sim\%100$ seviyesinde korunduğu gözlemlendi.

Buna karşılık, yüksek konsantrasyonda ($64 \mu\text{g/mL}$) uygulandığında hücre canlılığında belirgin bir düşüş ($\%18$) meydana geldi. Canlılık oranlarına dayanarak hesaplanan yarı maksimal inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) değeri yaklaşık $45.23 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlendi (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Murepavadinin IC_{50} değeri.

PEX'in yüksek konsantrasyonlarda ($\geq 256 \mu\text{g/mL}$) hücre canlılığında belirgin azalma ($\%10$ 'un altında) gözlenirken, düşük konsantrasyonlarda ($\leq 8 \mu\text{g/mL}$) canlılık oranlarının $\%95$ 'in üzerinde olduğu belirlendi. IC_{50} değeri yaklaşık $170.43 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Peksigananın IC₅₀ değeri.

4.7. İstatistiksel Analiz Sonuçları

MÇTA-AA sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesi, BAUNPA1-MEM kombinasyonu sonucunda plak boyutunda ($p = 0.0327$) ve plak sayısında ($p = 0.0184$) anlamlı artış gözlemlendi. MÇTA-YA modelinde sub-MİK MEM ($p = 0.0054$), CIP ($p = 0.0194$) ve COL ($p = 0.0209$) eklenmesiyle BAUNPA1'e ait plak sayısında anlamlı yükselişler kaydedildi. BAUNPA3 fajı ile MÇTA-YA yönteminde yapılan değerlendirmelerde ise sub-MİK COL ($p = 0.0019$) ve MUR ($p = 0.0488$) kombinasyonları plak sayısını anlamlı düzeyde artırdı. (Tablo 4.25).

BAUNPA1-antibiyotik/peptidlerin eşzamanlı kombinasyonlarında, MEM (%80 sinerji, ortalama FİKİ=0.313) ve CIP/COL (%60) ile orta sinerji, TOB/MUR/PEX ile ise additif etki gösterdi. BAUNPA3, MEM ve CIP ile güçlü sinerji (%100) sağlarken, peptidlerde (MUR/PEX) sınırlı etki gösterdi (Tablo 4.26, Tablo 4.27).

Tablo 4.25. Modifiye çift tabakalı agar yönteminde anlamlı fark gösteren kombinasyonlar.

Faj	Yöntem	Ölçüt	A/P	p-değeri
BAUNPA1	Alt Agar	Plak Boyutu	MEM	0.0327
BAUNPA1	Alt Agar	Plak Sayısı	MEM	0.0184
BAUNPA1	Yumuşak Agar	Plak Sayısı	MEM	0.0054
BAUNPA1	Yumuşak Agar	Plak Sayısı	CIP	0.0194
BAUNPA1	Yumuşak Agar	Plak Sayısı	COL	0.0209
BAUNPA3	Yumuşak Agar	Plak Sayısı	COL	0.0019
BAUNPA3	Yumuşak Agar	Plak Sayısı	MUR	0.0488

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Tablo 4.26. BAUNPA1-antibiyotik/peptid eşzamanlı kullanımın istatistiksel analizi.

Antimikrobiyal	n	Ortalama	Std.	Std.	%95 GA	%95 GA	Sinerji	Additif
		FİKİ	Sapma	Hata	Alt	Üst	(n)	(n)
CIP	5	0.498	0.380	0.170	0.165	0.831	3	2
COL	5	0.356	0.200	0.089	0.181	0.531	3	2
MEM	5	0.313	0.144	0.064	0.187	0.439	4	1
TOB	5	1.185	0.176	0.079	1.030	1.340	0	5
MUR	5	1.276	0.420	0.188	0.908	1.644	0	5
PEX	5	1.037	0.397	0.178	0.688	1.386	0	5

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Tablo 4.27. BAUNPA3-antibiyotik/peptidlerin eşzamanlı kullanımın istatistiksel analizi.

Antimikrobiyal	n	Ortalama	Std.	Std.	%95 GA	%95 GA	Sinerji	Additif
CIP	5	0.276	0.097	0.043	0.191	0.361	5	0
COL	5	0.462	0.465	0.208	0.054	0.870	3	2
MEM	5	0.225	0.077	0.034	0.158	0.292	5	0
TOB	5	0.500	0.340	0.152	0.202	0.799	2	3
MUR	5	0.896	0.271	0.121	0.658	1.134	0	5
PEX	5	0.638	0.376	0.168	0.308	0.968	2	3

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

BAUNPA1-antibiyotik/peptid ardışık (önce faj) kullanımı, COL (FİKİ=0.205) ve MEM ile tüm izolatlarda sinerji (%100) gösterdi. BAUNPA3 de MEM, CIP (FİKİ<0.284, %100), COL/TOB (%80) ve MUR/PEX (%60) ile sinerji gösterdi (Tablolar 4.28, 4.29).

Tablo 4.28. BAUNPA1-antibiyotik/peptidlerin ardışık (önce faj) kullanımının istatistiksel analizi.

Antimikrobiyal	n	Ortalama FİKİ	Std. Sapma	Std. Hata	%95 GA Alt	%95 GA Üst	Sinerji (n)	Additif (n)
CIP	5	0.340	0.164	0.073	0.197	0.484	4	1
COL	5	0.205	0.088	0.039	0.128	0.282	5	0
MEM	5	0.249	0.095	0.043	0.166	0.333	5	0
TOB	5	0.373	0.137	0.061	0.253	0.493	4	1
MUR	5	0.418	0.165	0.074	0.273	0.563	3	2
PEX	5	0.450	0.167	0.075	0.303	0.597	3	2

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Tablo 4.29. BAUNPA3-antibiyotik/peptidlerin ardışık (önce faj) kullanımının istatistiksel analizi.

Antimikrobiyal	n	Ortalama FİKİ	Std. Sapma	Std. Hata	%95 GA Alt	%95 GA Üst	Sinerji (n)	Additif (n)
CIP	5	0.284	0.095	0.043	0.201	0.368	5	0
COL	5	0.283	0.133	0.060	0.166	0.400	4	1
MEM	5	0.212	0.082	0.037	0.141	0.284	5	0
TOB	5	0.373	0.137	0.061	0.253	0.493	4	1
MUR	5	0.418	0.165	0.074	0.273	0.563	3	2
PEX	5	0.435	0.167	0.075	0.288	0.582	3	2

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Tablo 4.30. BAUNPA1-antibiyotik/peptidlerin ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanımının istatistiksel analizi.

Antimikrobiyal	n	Ortalama FİKİ	Std. Sapma	Std. Hata	%95 GA Alt	%95 GA Üst	Sinerji (n)	Additif (n)
CIP	5	0.428	0.162	0.072	0.286	0.570	3	2
COL	5	0.257	0.150	0.067	0.125	0.389	4	1
MEM	5	0.225	0.077	0.034	0.158	0.292	5	0
TOB	5	0.696	0.300	0.134	0.433	0.959	1	4
MUR	5	0.792	0.273	0.122	0.553	1.031	0	5
PEX	5	0.738	0.274	0.122	0.499	0.977	0	5

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

BAUNPA1-antibiyotik/peptid ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanımı, MEM ve COL ile yüksek, CIP ile orta sinerji sağladı; MUR/PEX additif kaldı. BAUNPA3, MEM ve COL ile sinerji korurken, CIP'de etki azaldı (%40, FİKİ=0.498), TOB/MUR/PEX additif kaldı (Tablolar 4.30, 4.31).

Tablo 4.31. BAUNPA3-antibiyotik/peptidlerin ardışık (önce antibiyotik/peptid) kullanımının istatistiksel analizi.

Antimikrobiyal	n	Ortalama	Std.	Std. Hata	%95 GA	%95 GA	Sinerji	Additif (n)
CIP	5	0.498	0.140	0.062	0.376	0.620	2	3
COL	5	0.275	0.189	0.084	0.109	0.441	4	1
MEM	5	0.250	0.095	0.042	0.167	0.333	5	0
TOB	5	0.646	0.208	0.093	0.463	0.829	0	5
MUR	5	0.896	0.271	0.121	0.658	1.134	0	5
PEX	5	0.756	0.263	0.118	0.525	0.987	0	5

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Tek yönlü ANOVA analizine göre, BAUNPA1 ile kombinasyonlarda uygulama sırasının FİKİ değerleri üzerindeki etkisi TOB, MUR ve PEX için istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). CIP, COL ve MEM yapılan uygulamalarda anlamlı fark görülmedi. BAUNPA3 için ise CIP, MEM, TOB, MUR ve PEX ile uygulama sırası anlamlı fark bulunurken; yalnızca COL ile yapılan kombinasyonda anlamlı fark saptanmadı. Bu

sonuçlar, özellikle BAUNPA3 ile uygulama sırasının kritik olacağını gösterdi (Tablo 4.32).

Tablo 4.32. Bakteriyofaj-antibiyotik/peptid kullanım sırasının FİKİ değerine etkisi

	Antimikrobiyal	F Değeri	p-Değeri	Anlamlılık (p<0.05)
BAUNPA1	CIP	0.4743	0.6335	✗ Hayır
BAUNPA1	COL	1.2529	0.3205	✗ Hayır
BAUNPA1	MEM	0.8768	0.4411	✗ Hayır
BAUNPA1	TOB	17.8815	0.0003	✓ Evet
BAUNPA1	MUR	9.9893	0.0028	✓ Evet
BAUNPA1	PEX	4.2322	0.0366	✓ Evet
BAUNPA3	CIP	6.6745	0.0086	✓ Evet
BAUNPA3	COL	0.0215	0.9787	✗ Hayır
BAUNPA3	MEM	5.1475	0.0164	✓ Evet
BAUNPA3	TOB	7.6420	0.0051	✓ Evet
BAUNPA3	MUR	9.4336	0.0032	✓ Evet
BAUNPA3	PEX	5.5623	0.0133	✓ Evet

CIP: Siprofloksasin, COL: Kolistin, MEM: Meropenem MUR: Murepavadin, PEX: Peksiganan, TOB: Tobramisin

Sonuçlar, BAUNPA1'in genel olarak daha güçlü sinerji potansiyeline sahip olduğunu gösterdi. En yüksek sinerji oranları ve en düşük FİKİ değerleri, fajın önce uygulandığı ardışık kullanımda elde edildi. Kullanım sırası, özellikle BAUNPA3 ile MUR, PEX kombinasyonlarında sinerji düzeyini anlamlı şekilde etkilemiştir. Ayrıca, sinerjinin fenotipik belirteçleri açısından, plak boyutu artışı MÇTA-AA sub-MİK antibiyotik/peptid eklenmesiyle anlamlı bulunurken ($p < 0.05$), plak sayısı artışı ise MÇTA-YA yönteminde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Balıkesir ili atık su kaynaklarından izole edilen iki litik *P. aeruginosa* bakteriyofajı (BAUNPA1 ve BAUNPA3) için ayrıntılı morfolojik, biyolojik ve moleküler karakterizasyon analizleri gerçekleştirildi. Ayrıca, bu fajların klinik kullanımdaki antibiyotikler (MEM, COL, CIP, TOB) ve antimikrobiyal peptidler (MUR, PEX) ile potansiyel sinerjik etkileşimleri *in vitro* olarak değerlendirildi. Katı (MÇTAY) ve sıvı (dama tahtası) yöntemler kullanılarak fajların litik etkinliği, konak aralığı, optimum MOI, çoğalma kinetiği (latent faz süresi ve patlama boyutu), sıcaklık ve pH stabilitesi gibi temel biyolojik parametreleri analiz edildi.

BAUNPA1 ve BAUNPA3 fajlarının plak morfolojileri, biyolojik özellikleri ve genomik yapılarındaki farklılıklar, çevresel kaynaklardan izole edilen faj çeşitliliğini ortaya koymaktadır. Faj-antibiyotik/peptid kombinasyonları, katı ortamda plak boyutu ve sayısında artışa neden olurken, sıvı ortam testlerinde sinerjik etkinin uygulama sırasına bağlı olarak değişebileceği saptandı. Elde edilen bulgular, izole edilen bakteriyofajların terapötik potansiyellerine, faj-antimikrobiyal kombinasyonlarının dirençle mücadeledeki rolüne ve bu yaklaşımların klinik uygulamalardaki olası kullanımlarına ilişkin önemli bilgiler sunmaktadır.

5.1. Bakteriyofajların Genomik Farklılığının RFLP ile Analizi

Litik bakteriyofajlar, ÇİD bakterilere karşı alternatif terapötik ajanlar olarak önemli potansiyele sahiptir ve çeşitli çevresel kaynaklardan başarıyla izole edilebilmektedir. Patojen bakterilere karşı etkili *P. aeruginosa*-özümlü litik bakteriyofajların atık su kaynaklarından izole edilebildiğini gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Santamaría-Corral ve ark., 2023; Shi ve ark., 2024).

Atık su örneklerinden izole edilen litik BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajları arasındaki genetik ilişkiyi değerlendirmek için RFLP analizi yapıldı. Kullanılan PstI ve

HindIII restriksiyon enzimlerinden yalnızca HindIII ile özgün bant profilleri elde edildi ve bu iki bakteriyofajın klonal olarak farklı genetik yapıya sahip olduğu saptandı. Bu sonuçlar, BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün plak morfolojisi ve litik aktivite gibi diğer biyolojik parametrelerdeki belirgin farklılıklarla da desteklendi. RFLP analizi, çevresel kaynaklardan izole edilen bakteriyofajlar arasındaki genetik farklılıkları ortaya koymak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Ali ve ark., 2023; Salih Doğan ve ark., 2024; Damar Çelik ve ark., 2024).

Damar Çelik ve ark. (2024), PA-56 bakteriyofajının genomik DNA'sını HindIII ve EcoRI enzimleri ile keserek her iki enzimle de farklı büyüklüklerde DNA fragmentleri elde etmiş ve bakteriyofaj DNA'sının her iki enzime karşı duyarlılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Benzer bir çalışmada, Nour El-Din ve ark. (2025), Kanada'da atık su örneklerinden izole ettikleri dört *P. aeruginosa* bakteriyofajı (AA17, AA20, AC20, U17) için 16 farklı restriksiyon enzimi (EcoRI, BamHI, BglII, Eco321, HindIII, KpnI, SmaI, PstI, Sall, NdeI, NotI, XhoI, XbaI, MspI, HpaI, PaeI) kullanarak kapsamlı bir RFLP analizi yapmıştır. Bu çalışmada bakteriyofajlar arasında belirgin enzim duyarlılık farklılıkları tespit edilmiş; örneğin AA20 bakteriyofajının 16 enzimden 10'una dirençli olduğu, U17 bakteriyofajının ise 11 farklı enzim tarafından kesilebildiği raporlanmıştır.

Knežević ve ark. (2011) ise izole ettikleri dört farklı *P. aeruginosa* bakteriyofajı (δ , σ -1, J-1, 001-A) için EcoRI, EcoRV ve BamHI enzimleri ile RFLP analizi yapmıştır. Bulgulara göre, δ ve J-1 bakteriyofajlarının DNA'ları her üç enzimle de kesilirken; σ -1 ve 001-A bakteriyofajlarının DNA'larının BamHI enzimiyle kesilmediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, RFLP analizi, bakteriyofajlar arasındaki klonal ayrımı ve genomik çeşitliliği ortaya koymada hızlı, pratik ve maliyet etkin bir yöntem olarak öne çıkmakta ve bakteriyofajların moleküler düzeyde karakterizasyonu için temel bir ön tarama işlevi görmektedir.

5.2. Bakteriyofajların Litik Aktivitesi

Litik bakteriyofajların potansiyel terapötik ajan olarak değerlendirilmesinde çeşitli parametreler belirleyici rol oynamaktadır. Bu parametreler arasında, izole edilen

bakteriyofajların yalnızca konak bakteriye değil, aynı tür içindeki farklı klinik suşlara ve hatta farklı bakteri cinslerine karşı litik etkinlikleri, terapötik potansiyelin en kritik göstergelerinden biri olarak kabul edilmektedir (Harada ve ark., 2018; Baqer ve ark., 2023). Çalışmamızda elde edilen bulgulara göre, BAUNPA1 bakteriyofajı klinik *P. aeruginosa* suşlarının yaklaşık %34'ünde, BAUNPA3 ise %60'ında litik etki gösterdi. Bu oranlar, çevresel örneklerden izole edilen bakteriyofajların klinik izolatlar üzerindeki etkisini değerlendiren diğer çalışmalarla büyük ölçüde uyumludur.

Tsai ve ark. (2023), atık sudan izole ettikleri phiPA1-3 fajının klinik *P. aeruginosa* suşlarının %20'sine karşı litik aktivite gösterdiğini; Lerdsittikul ve ark. (2022), VL1 bakteriyofajının %56'sında; Rezk ve ark. (2022) ZCPA1 fajının %58'inde; Santamaría-Corral ve ark. (2024) ise F1Pa fajının %60,5 oranında litik etki gösterdiğini raporlamıştır. Kurt ve ark. (2025) ise PSA-KC1 fajının, KF'li hastalardan izole edilen ÇİD *P. aeruginosa* suşlarının %68'inde etkinlik gösterdiğini saptamıştır.

Literatürde, *P. aeruginosa*'ya karşı daha yüksek litik aktivite gösteren bakteriyofajlarla ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Yin ve ark. (2022), Lx18 fajının klinik izolatların %70'ine karşı etkili olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Fei ve ark. (2023), HZ2201 fajının %78 litik aktivite sergilediğini rapor ederken; Shi ve ark. (2024) kanalizasyon örneklerinden izole ettikleri Pae01 fajının %83,6 litik etki oluşturduğunu bildirmiştir. Damar Çelik ve ark. (2024) tarafından göl ve kanalizasyon suyundan izole edilen PA-56 ve PA-18 fajlarının sırasıyla %92 ve %86 oranında klinik *P. aeruginosa* izolatlarına karşı litik aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir.

Bu veriler, çevresel kaynaklardan izole edilen bakteriyofajların klinik *P. aeruginosa* suşları üzerinde yüksek litik potansiyel sergilediğini ve bu özellikleriyle ÇİD enfeksiyonların tedavisinde alternatif biyoterapötik ajan geliştirilmesine katkı sağlayabileceğini ortaya koymuştur. Özellikle BAUNPA3, daha geniş konak aralığı ve yüksek litik oranlarıyla klinik kullanıma yönelik avantajlı bir aday olarak öne çıkmaktadır. Öte yandan, BAUNPA1'in sınırlı konak spektrumu, terapötik uygulamalar öncesi izolat bazlı duyarlılık testlerini gerekli kılsa da, mikrobiyotayı koruyarak yalnızca hedef patojeni elimine etme açısından önemli bir avantaj sunmaktadır. Bu bulgular, faj tedavisinde

bireyselleştirilmiş yaklaşımların gerekliliğini vurgulamakta ve bu doğrultuda kapsamlı, çeşitlendirilmiş faj bankalarının oluşturulmasının önemine işaret etmektedir (Pelfrene ve ark., 2016; Pirnay ve ark., 2024).

5.3. Bakteriyofaj Verimliliği

Bakteriyofajların çoğalma verimliliğini değerlendirmek amacıyla MOI değerleri saptandı. Çalışmamızda, BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajlarının optimum MOI değerlerini belirlemek için 0.1, 1 ve 10 olmak üzere üç farklı MOI değeri test edildi ve her iki fajın da en yüksek litik etkinlik ve çoğalma verimine MOI 10 değerinde ulaştığı saptandı.

Farklı çalışmalarda, *P. aeruginosa* bakteriyofajlarının optimum çoğalma düzeyine ulaşabildiği MOI değerinin oldukça geniş bir aralığa sahip olduğu bildirilmektedir. Rezk ve ark. (2022), ZCPA1 fajı ile MOI 0.1–100 aralığını test ettikleri çalışmada optimum MOI değerini 10 olarak belirlemiş; benzer şekilde Scarascia ve ark. (2018) da MOI 0.1–10 aralığında yaptıkları incelemede en yüksek bakteriyofaj üretiminin, çalışmamızla da uyumlu bir şekilde, MOI 10'da gerçekleştiğini bildirmiştir.

Daha düşük MOI düzeylerinde optimum çoğalma elde edilen çalışmalarda, Yang ve ark. (2022), PAO1r suşunu enfekte eden L5 bakteriyofajı ile, 0.0001-1 aralığında en yüksek faj üretimini MOI 0.01 de saptamıştır. Damar Çelik ve ark. (2024), PA-56 bakteriyofajı için optimum çoğalmanın MOI 0.1'de gerçekleştiğini göstermiştir. Wannasrichan ve ark. (2022) ise JJ01 fajı ile yaptıkları çalışmada, 0.01–100 aralığında en yüksek üretimin MOI 100'de gözlemlendiğini bildirmiştir.

Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, *P. aeruginosa*-özgü bakteriyofajların optimum MOI değerlerinin; fajın genetik özellikleri, konak bakteriye ve çevresel koşullara bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik gösterebileceği anlaşılmaktadır. Öte yandan, Gu Liu ve ark. (2020), MOI değerlerinin yalnızca bakteriyofaj çoğalması açısından değil, aynı zamanda antibiyotiklerle kombinasyon tedavilerinde sinerjik etkinlik üzerinde de belirleyici rol oynadığını vurgulamış; düşük MOI seviyelerinde bu etkinin sınırlı kalabileceğini bildirmiştir. Dolayısıyla, optimum terapötik etkinin sağlanabilmesi

için bakteriyofaj dozunun hassas şekilde belirlenmesi, yalnızca monoterapide değil, kombinasyon tedavilerinde de tedavi başarısını doğrudan etkileyen kritik bir parametre olarak öne çıkmaktadır.

5.4. Tek Adımlı Çoğalma Eğrisi

Bakteriyofajların çoğalma dinamiklerini incelemek amacıyla gerçekleştirilen tek adımlı çoğalma eğrisi deneyinde, BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajlarının replikasyon döngüsü analiz edildi. Her iki bakteriyofaj için yaklaşık 30 dk lık bir latent faz gözlenirken; patlama boyutu BAUNPA1 için 189 faj/bakteri ve BAUNPA3 için 43 faj/bakteri olarak belirlendi.

P. aeruginosa-özgü bakteriyofajlarla yapılan diğer çalışmalarda da benzer latent faz süreleri bildirmiştir. Wannasrichan ve ark. (2022), JJ01 bakteriyofajı için yaklaşık 30 dk lık latent faz süresi ve 109 faj/bakteri düzeyinde patlama boyutu bildirirken; Lerdstittikul ve ark. (2022) ise benzer şekilde 30 dk lık latent faza sahip VL1 bakteriyofajının patlama boyutunu 404 ± 10 faj/bakteri olarak belirlemiştir; bu farklılık, fajların replikasyon verimliliği ve faj-konak etkileşim dinamiklerinin türler arasında önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir.

Her ne kadar bazı bakteriyofajlarda latent faz süresi benzer olsa da, patlama boyutlarındaki farklılıklar replikasyon verimliliği açısından önemli ipuçları sunmaktadır. Örneğin, Santamaría-Corral ve ark. (2024), yaklaşık 40 dk lık latent faz süresi ile vB_PaeP-F1Pa bakteriyofajının 394 ± 166 faj/bakteri düzeyinde yüksek bir patlama boyutuna sahip olduğunu bildirmiştir. Damar Çelik ve ark. (2024) ise PA-56 fajında benzer şekilde 40 dk lık bir latent faz gözlemlerken, patlama boyutunun yalnızca 100 faj/bakteri düzeyinde olduğunu raporlamıştır. Maharjan ve ark. (2022) tarafından bildirilen øCDBT-PA31 fajı da yaklaşık 30 dk lık latent faz süresine sahip olup, 423–525 faj/bakteri aralığında yüksek bir patlama boyutu sergileyerek bu değişkenliğe dikkat çekmektedir.

Öte yandan, latent faz süresi bakımından daha kısa değerlere sahip fajlar da literatürde yer almaktadır. Nour El-Din ve ark. (2025), U17 ve AC20 fajlarının 15 dk lık,

AA17'nin 20 dk lık ve AA20'nin ise 30 dk lık latent fazlara sahip olduğunu belirtmiş; buna karşılık patlama boyutlarının sırasıyla 185 ± 24 , 96 ± 30 , 27 ± 2.7 ve 311 ± 21 faj/bakteri olarak değiştiğini göstermiştir. Yang ve ark. (2022) ise L5 bakteriyofajı için yaklaşık 20 dk lık bir latent faz süresi bildirmiş, ancak patlama boyutuna ilişkin veri sunmamıştır.

Patlama boyutu açısından değerlendirildiğinde, BAUNPA1 bakteriyofajının 189 faj/bakteri hücresi düzeyindeki patlama boyutu, JJ01 (109 faj/bakteri) ve PA-56 (100 faj/bakteri) bakteriyofajlarına kıyasla daha yüksek, ancak VL1 (404 ± 10 faj/bakteri) ve vB_PaeP-F1Pa (394 ± 166 faj/bakteri) gibi bakteriyofajlara göre daha düşük bulunmuştur. BAUNPA3 bakteriyofajı ise 43 faj/bakteri gibi daha sınırlı bir patlama boyutu sergileyerek replikasyon kapasitesinin daha düşük olduğunu göstermiştir.

Bu veriler bir arada değerlendirildiğinde, benzer latent faz sürelerine rağmen patlama boyutları arasında gözlenen farklılıkların; fajların genetik yapısı, replikasyon stratejileri, konak hücre fizyolojisi ve çevresel koşullara bağlı olarak değişebileceği anlaşılmaktadır. Bu durum, bakteriyofajların çoğalma verimliliği ve terapötik potansiyelleri değerlendirilirken yalnızca latent faz süresi değil, patlama boyutu gibi diğer replikasyon parametrelerinin de birlikte ele alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.

5.5. Farklı Çevresel Koşulların Stabiliteye Etkisi

Bakteriyofajların farklı çevresel koşullardaki stabilite özellikleri, biyolojik aktivitelerinin sürdürülebilmesi ve çeşitli klinik ve endüstriyel uygulamalarda etkin şekilde kullanılabilmesi açısından kritik öneme sahiptir (Łobocka ve ark., 2018; Jurač ve ark., 2019). Bakteriyofajların termal ve pH stabiliteyi, biyolojik aktivitelerinin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda, BAUNPA1 ve BAUNPA3 37°C–90°C arasındaki farklı sıcaklık koşullarındaki ve pH 2–12 aralığındaki stabiliteyi değerlendirildi ve elde edilen bulgular, literatürdeki diğer *P. aeruginosa* bakteriyofajlarının sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

Bakteriyofajların termal stabiliteyi, uygulama, depolama ve formülasyon süreçlerinde terapötik etkinliklerinin sürdürülebilmesi açısından kritik bir parametredir (Ahmadi ve ark., 2017; Bagińska ve ark., 2024). Benzer çalışmalarla uyumlu olarak

BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün 37°C ve 50°C'de stabil kalmış ancak 60°C'de titre düzeylerinde kademeli bir azalma gözlenmiştir. Rezk ve ark. (2022), ZCPA1 bakteriyofajının 37°C'de stabilitesini koruduğunu, 50°C ve 60°C'de hafif titre kaybı yaşadığını, 70°C'de belirgin bir azalma gösterdiğini ve 80°C'de tamamen inaktive olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, Santamaría-Corral ve ark. (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, vB_PaeP-F1Pa bakteriyofajı -80°C'den 60°C'ye kadar farklı sıcaklıklarda 1, 24 ve 168 s süreyle inkübe edilerek incelenmiş ve 4°C'de stabilite korunurken, 21°C–37°C aralığında minimal titre kayıpları gözlenmiştir.

Lerdsittikul ve ark. (2022), VL1 bakteriyofajının 25°C ve 37°C'de biyolojik aktivitesini sürdürüp 40°C–70°C arasında kademeli titre kaybı yaşadığını ve 80°C'de tamamen inaktive olduğunu raporlamıştır. Bu bulgular, BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün sıcaklık artışına karşı gösterdikleri dayanıklılığın, bu fajların genetik özellikleri ve kapsid yapısal stabiliteleriyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. BAUNPA1'in 70°C'de kısmen canlılığını koruması, onu ısıya karşı orta derecede dayanıklı fajlar arasında sınıflandırmaktadır; bu özellik, Lerdsittikul ve ark. (2022) tarafından tanımlanan VL1 ve Damar Çelik ve ark. (2024) tarafından incelenen PA-56 bakteriyofajlarıyla paralellik göstermektedir. Öte yandan, BAUNPA3'ün 70°C ve üzerindeki sıcaklıklarda hızla inaktive olması, bu fajın daha düşük bir termal stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir.

Bakteriyofajların pH stabiliteyi, viral kapsidin bütünlüğünün korunması ve enfektivite kapasitelerinin devamlılığı açısından önemlidir (Xuan ve ark., 2024; Rafiei ve Bouzari, 2024). Çalışmamızda, BAUNPA1 ve BAUNPA3 bakteriyofajlarının pH 2–12 arasındaki stabiliteyi incelendi. Her iki fajda da pH 2–4 aralığında belirgin inaktivasyon gözlenmiş, özellikle pH 2 enfektivite kaybına yol açmıştır. vB_PaS-HSN4, VL1 ve F1Pa bakteriyofajlarının da pH 2'de tamamen inaktive olduğu bildirilmiştir (Rafiei ve Bouzari, 2024; Lerdsittikul ve ark., 2022; Santamaría-Corral ve ark., 2024).

Bununla birlikte, BAUNPA1, pH 4-6 arasında BAUNPA3'e kıyasla biyolojik aktivitesini daha iyi koruması, zayıf asidik ortama karşı daha dayanıklı bir yapıya sahip olduğunu, bu nedenle de oral ve topikal uygulamalar için daha uygun bir biyoterapötik ajan olabileceğini göstermektedir. Bulgularımızla benzer şekilde, PA-56 ve AZ1 gibi

fajların da pH 4-8 aralığında yüksek düzeyde stabilite gösterdiği bildirilmiştir (Damar Çelik ve ark., 2024; Jamal ve ark., 2017).

pH 7-8 arasında, BAUNPA1 ve BAUNPA3 stabil kalmış ancak pH 10 ve 12'de belirgin titre kaybı yaşanmıştır. Bu durum, pH 10 ve üzerindeki bazik koşulların bakteriyofajların stabilitesine olumsuz etkisini bildiren çalışmalarla uyum göstermektedir (Tsai ve ark., 2023; Wang ve ark., 2023). Benzer şekilde Wang ve ark. (2023), PA_LZ01, PA_LZ02 ve PA_LZ03 fajlarının pH 7-8 arasında stabil kaldığını belirtmiştir. Bu bulgular, BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün, nötr ve hafif bazik ortamlarda etkinliklerini sürdürebilirken güçlü asidik veya bazik koşullarda biyolojik aktivitelerinin kaybolduğunu göstermektedir.

Genel olarak, BAUNPA1 ve BAUNPA3'ün farklı sıcaklık ve pH koşullarında gösterdikleri dayanıklılık profilleri diğer litik *P. aeruginosa*-özgü fajlarla kıyaslandığında, BAUNPA1'in daha geniş bir çevresel toleransa sahip olduğu görülmektedir. BAUNPA1, özellikle 60°C–70°C aralığında ve pH 4-6 koşullarında daha yüksek biyolojik aktivite gösterdiği için, oral ve topikal uygulamalar için uygun bir aday olabilir.

5.6. İzolatların Örnek Türlerine Göre Dağılımı

P. aeruginosa, özellikle yoğun bakım ve solunum/yara enfeksiyonlarında ciddi sorunlara yol açan ve ÇİD geliştirebilen fırsatçı bir patojendir (Schwartz ve ark., 2024). Çalışmamızda *P. aeruginosa* izolatları en sık solunum yolu örneklerinden (%46) izole edilmiş; bunu idrar (%18), yara (%18), kulak (%10) ve diğer örnekler (%8) izlemiştir. Solunum yolu örnekleri, genelde %34-60 oranla en yaygın izolasyon kaynağıdır (Lyu ve ark., 2023; Thabit ve ark., 2024; Dunphy ve ark., 2021; Lebreton ve ark., 2021). İdrar (%9-66) veya yara/deri örnekleri (%9-27) genellikle ikinci sırada gelirken, kan kültüründen izolasyon oranı düşüktür (%2-6) (Lyu ve ark., 2023; Thabit ve ark., 2024; El-Far ve ark., 2021). Solunum yolu önceliği, bakterinin bu bölgeyi kolonize ve enfekte etme eğilimini yansıtır. Ancak, bazı çalışmalarda (El-Far ve ark., 2021) idrar örnekleri baskın (%66,7) olabilir; bu farklılıklar hasta popülasyonu, örnekleme stratejisine bağlı olabilir.

Türkiye'deki çalışmalar da benzer izolasyon kaynaklarını işaret etmektedir. Öner ve ark., (2022) izolasyon kaynaklarını idrar (%25,5), yara (%23,8) ve balgam (%21,9) olarak bildirmiştir. Solunum yolu ön planda olan çalışmalarda, Kal Çakmaklıoğulları ve ark., (2019) izolatların %42'sinin, Çeken ve ark., (2021) ise %51,7'sinin solunum kaynaklı olduğunu bildirmiştir. Bu veriler, Türkiye'de de solunum, idrar ve yara örneklerinin başlıca kaynaklar olduğunu ve küresel dağılımla örtüştüğünü göstermektedir.

P. aeruginosa, özellikle solunum yolu ve nozokomiyal enfeksiyonlarda sık karşılaşılan bir etkidir. Weiner ve ark., (2016) hastane kaynaklı enfeksiyonların ~%7'sinden, Vincent ve ark., (2020) yoğun bakım enfeksiyonlarının %16-23'ünden sorumlu olduğunu bildirmiştir. *P. aeruginosa*'nın özellikle solunum yolu ve yara enfeksiyonlarında başlıca etken olarak öne çıkması, bu patojene yönelik geliştirilecek terapötik yaklaşımların enfeksiyonun lokalizasyonuna uygun biçimde yapılandırılmasını zorunlu kılmaktadır (Kalil ve ark., 2016). Bu doğrultuda, bakteriyofajların inhaler formülasyonlar aracılığıyla alt solunum yollarına ulaştırılabilmesi ya da topikal preparatlar şeklinde enfekte deri ve yara yüzeylerine uygulanabilmesi, klinik açıdan önem taşımaktadır (Shein ve ark., 2023; Piranaghl ve ark., 2023).

5.7. Antibiyotik ve Peptidlerin Duyarlılık Profilleri

P. aeruginosa enfeksiyonlarının klinik yönetimini ciddi şekilde zorlaştıran temel faktörlerden biri, bu patojende gözlenen antimikrobiyal direnç artışıdır. Bu nedenle, mevcut antibiyotiklerin ve klinik *P. aeruginosa* izolatlarına karşı umut vadeden AMP'lerin *in vitro* duyarlılık profillerinin belirlenmesi, hem mevcut tedavi rejimlerinin etkinliğini belirlemede hem de yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir.

Çalışmamızda elde edilen antibiyotik duyarlılık sonuçlarına göre, CIP, MEM ve TOB için direnç oranları sırasıyla %42, %12 ve %16 olarak saptanmıştır. COL için dirençli suş tespit edilmemiştir. Bu sonuçlar, literatürde bildirilen direnç profilleri ile genel bir uyum içerisindedir (Silva ve ark., 2014; Ekkelenkamp ve ark., 2020; Sader ve ark., 2018a), ancak bazı antibiyotikler özelinde farklılıklar da dikkat çekmektedir (Ghassani ve ark., 2024).

Ratajczak ve ark., (2021) CIP için %30.1 ve MEM için %61.6 oranında direnç bildirmiştir. CIP için Abdelaziz ve ark., (2024) %92.86, Al-Orphaly ve ark., (2021) ise %63.2 gibi oldukça yüksek direnç rapor etmiştir. Del Barrio-Tofiño ve ark., (2017) ise YİD izolatlarına karşı direnç oranını CIP ve MEM için >%95, TOB için %77 ve COL için %2 olarak bildirmiştir. Sader ve ark., (2018c), yoğun bakım ünitesinde yatan hastalardan elde edilen *P. aeruginosa* izolatlarında COL için %6.4, TOB için %52.5 gibi yüksek bir direnç oranı bildirmişlerdir.

Türkiye'de yürütülen çalışmalar incelendiğinde, Orhan ve ark. (2025), *P. aeruginosa* suşlarında MEM ve CIP'e karşı direnç oranlarını sırasıyla %42 ve %40,6 olarak bildirmiştir. Hoşbul ve ark., (2022), karbapenem dirençli suşlarda TOB, CIP ve MEM'e karşı direnç oranlarını sırasıyla %44, %84 ve %89 olarak bildirirken, COL dirençli suş saptamamıştır. Aslan ve ark., (2023) direnç oranını TOB için %20,4, MEM için ise %8 olarak bildirmiştir. Uğur ve Genç (2019), COL, MEM ve CIP'e karşı direnç oranlarını sırasıyla %5, %38 ve %40 olarak bildirmiştir. Mansur ve ark., (2013) ve Uludağ Altun ve Ak (2012) ise TOB direncini, bulgularımıza yakın şekilde sırasıyla %10 ve %11 olarak raporlamıştır.

Geleneksel antibiyotiklere karşı artan direnç oranları, sadece mevcut tedavi seçeneklerinin etkinliğini azaltmakla kalmayıp, alternatif antimikrobiyal stratejilerin acilen geliştirilmesini de zorunlu kılmaktadır. AMP'ler son yıllarda önemli bir araştırma odağı haline gelmiştir (Erdem Büyükkiraz ve Kesmen, 2022). Çalışmamızda, iki farklı AMP olan MUR ve PEX test edilmiş ve klinik izolatlarına karşı *in vitro* etkinlik profilleri değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada, MUR için ölçülen MİK₅₀ değeri 0,25 µg/mL ve MİK₉₀ değeri 0,5 µg/mL olarak belirlenmiştir. Sader ve ark., (2018b), izole ettikleri 789 *P. aeruginosa* suşuna karşı MUR için MİK_{50/90} değerlerini sırasıyla 0,12 mg/L ve 0,25 mg/L olarak saptamıştır. Benzer şekilde, Wei ve ark., (2024a), 20 klinik suşun tamamında MUR MİK değerini ≤0,0625 µg/mL olarak tespit etmiştir. Ekkelenkamp ve ark., (2020) MİK_{50/90} değerlerini 0,12/2 mg/L, Ghassani ve ark., (2024) ise 0,12/4 mg/L olarak bildirmiştir. Bu çalışmalar, MUR'in güçlü *in vitro* etkinliğini doğrulamıştır (Melchers ve ark., 2019).

EUCAST veya CLSI gibi standart belirleyici otoriteler tarafından MUR için henüz resmi bir duyarlılık eşik değeri tanımlanmamış olması, mevcut verilerin yalnızca MİK dağılımları temelinde ve diğer çalışmalarla karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesini zorunlu kılmaktadır. Çalışmamızın Türkiye'den MUR'in antibakteriyel aktivitesine ilişkin sistematik verileri sunan ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

Çalışmada değerlendirilen diğer bir AMP olan PEX, doğal magainin peptidlerinden türetilmiş sentetik bir analog olup çeşitli bakteri türlerine karşı geniş spektrumlu aktivite göstermektedir (Zasloff, 1987; Lamb ve Wiseman, 1998). Özellikle *P. aeruginosa*'ya yönelik *in vitro* etkinliği üzerine birçok çalışma yürütülmüştür.

Çalışmamızda test edilen 50 klinik izolata karşı PEX için MİK değeri 8 µg/mL-64 µg/mL aralığında dağılım göstermiştir. MİK₅₀ değeri 16 µg/mL, MİK₉₀ değeri ise 32 µg/mL olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar, literatürdeki bazı bulgularla kısmen uyumlu, bazılarıyla ise farklılık göstermektedir. Fuchs ve ark., (1998) 25, Ge ve ark., (1999) ise 150 *P. aeruginosa* izolata karşı PEX için MİK_{50/90} değerlerini sırasıyla, 8 µg/mL, 16 µg/mL ve 16 µg/mL, 32 µg/mL olarak bildirmiştir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, Vardar-Ünlü ve ark., (2003), 48 *P. aeruginosa* suşuna karşı PEX'in MİK_{50/90} değerlerini sırasıyla 16 µg/mL ve 64 µg/mL olarak saptamıştır. Flamm ve ark., (2015) da sınırlı sayıda izolata benzer MİK aralıklarında sonuçlar raporlamıştır. Ghazvini ve ark., (2021) ise PEX'in etkinliğinin standart laboratuvar suşları ile klinik izolatlar ve hatta farklı klinik kökenli izolatlar arasında anlamlı farklılık gösterebildiğini vurgulamıştır. Bu durum, PEX'in etkinliğinin bakteri suşunun kaynağına ve muhtemelen genotipik özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğine işaret etmektedir.

5.8. Bakteriyofaj-Antibiyotik Sinerjisi

P. aeruginosa, hem doğal hem de kazanılmış direnç mekanizmaları nedeniyle tedavisi güç olan ve çeşitli klinik enfeksiyonlara yol açabilen bir patojendir (Essoh ve ark., 2015). Bu özellikleri, alternatif tedavi yaklaşımlarının araştırılmasında sıklıkla tercih edilen bir model mikroorganizma olmasına neden olmuştur. Günümüzde fajların,

antibiyotik veya AMP'ler ile kombinasyonu, klasik antibiyotik monoterapilerine karşı gelişen direnç sorununa yönelik umut vadeden bir strateji olarak değerlendirilmektedir.

Faj-antibiyotik kombinasyonları antibakteriyel etkinliği artırmakla kalmayıp, bazı dirençli *P. aeruginosa* suşlarında antibiyotik duyarlılığını da yeniden kazandırabildiğini göstermektedir. Engeman ve ark., (2021), başlangıçta dirençli sınıflandırılan izolatlarda, faj kokteyli ile birlikte CIP, GEN ve MEM kullanımının duyarlılığı %81'e kadar artırabildiğini bildirmiştir. Bu sinerji, terapötik doz gereksinimini de azaltabilir. Holger ve ark., (2021), COL ve MEM ile faj kombinasyonlarının monoterapiye kıyasla daha düşük antibiyotik konsantrasyonlarında etkili bakterisidal etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, bu kombinasyonların uzun vadeli bir avantajı da direnç gelişimini baskılayabilmeleridir. Fatima ve Hynes (2025), ılıman fajların farklı antibiyotiklerle kullanımında eşzamanlı direnç gelişiminin sınırlı kaldığını ve bazı durumlarda antibiyotik MİK değerlerinin 32 kata kadar azaldığını bildirmiştir. Sinerjinin moleküler temeli; bakteriyel hücre zarı geçirgenliğinin artması, faja karşı savunma yanıtlarının antibiyotik duyarlılığına katkı sağlaması ve hücresel yüzey yapılarında meydana gelen değişiklikleri içerir. Bu karmaşık biyolojik etkileşimlerin anlaşılması, kombinasyon tedavilerinin etkin ve hedefe yönelik tasarlanması için kritiktir.

PAS, özellikle sub-MİK konsantrasyonlardaki antibiyotiklerin, faj adsorpsiyonunu, replikasyonunu ve patlama büyüklüğünü artırması ve aynı zamanda antibiyotik direncini baskılayabilmesi temeline dayanır (Uchiyama ve ark., 2018; Torres-Barceló ve ark., 2018). Bu yönüyle PAS, direnç baskılanması ve tedavi başarısının artırılması açısından umut vericidir.

Bu tez kapsamında, *P. aeruginosa* klinik izolatlarında fajların antibiyotik ve AMP'lerle sinerjik etkilerini değerlendirmek için tekrarlanabilirliği çeşitli *in vitro* yöntemler (hem katı hem de sıvı ortam temelli) kullanılmıştır. Katı besiyerinde üç farklı MÇTAY uygulanmıştır: 1) Çift tabakalı agar üzerine antibiyotik diski yerleştirme, 2) Yumuşak agara sub-MİK düzeyde antibiyotik/peptid eklenmesi, 3) Alt agara sub-MİK düzeyde antibiyotik/peptid eklenmesi. Bu protokollerle inhibisyon zonu, plak çapı ve plak sayılarındaki değişiklikler izlenerek etkileşim dereceleri yarı-nicel olarak

değerlendirilmiştir. Sıvı ortamda ise dama tahtası yöntemiyle eşzamanlı ve ardışık uygulamalar kullanılarak sinerjik etkileşimler incelenmiştir.

5.8.1. Modifiye Çift Tabakalı Agar Yöntemi

MÇTAY, faj-antibiyotik sinerjisini hızlı, görsel ve düşük maliyetli değerlendirme imkânı sunar. Agar yüzeyindeki plak çapı, sayısı ve inhibisyon zonu genişliği gibi morfolojik parametreler üzerinden nitel veri sağlar. Ancak, yöntemin farklı difüzyon özelliklerine sahip antimikrobiyallere duyarlılığı, sub-MİK konsantrasyonların doğruluğu ve tam standardizasyon eksikliği yorumlamada kısıtlamalara yol açmaktadır.

Bu alandaki ilk çalışmalardan biri Comeau ve ark., (2007) tarafından yapılmış olup, *E. coli*-özgü fajlarla sefotaksim ve CIP gibi antibiyotiklerin etkileşimini değerlendirmişlerdir. MÇTA-DD yöntemi kullanılarak, sub-MİK dozdaki antibiyotiklerin faj plak çaplarında anlamlı artışa yol açtığı; bunun antibiyotiklerin bakteri hücre yapısını değiştirerek faj adsorpsiyonunu ve replikasyonunu artırmasına bağlandığı bildirilmiştir. Loganathan ve ark. (2024), klinik MRSA suşlarına karşı vB_Sau_S90 ve vB_Sau_S165 fajlarının fosfomisin (FOS), CIP, oksasilin ve vankomisin ile etkileşimlerini incelemiştir. FOS ile MÇTA-DD'de belirgin plak büyümesi gözlenirken, vankomisin kombinasyonlarında geniş inhibisyon zonuna rağmen plak boyutunda artış olmamıştır. Oysa aynı kombinasyon dama tahtası yönteminde sinerjik ($FİKİ \leq 0.5$) bulunmuştur. Bu durum, sinerjinin her zaman plak morfolojisinde görünür değişiklikle sonuçlanmadığını gösterir. Plak büyüklüğündeki değişim, antibakteriyel sinerjinin yanı sıra antibiyotiğin faja etkisi, bakteri yoğunluğu, agar koşulları ve faj replikasyon dinamikleri gibi çoklu faktörlerin sonucudur. Dolayısıyla, MÇTA-DD yönteminde plak boyutundaki artış sinerjiyi destekleyebilirken, artış olmaması sinerjinin yokluğu anlamına gelmez (Loganathan ve ark., 2024). FOS'nin hücre duvarı sentezinin ilk, oksasilinin ise son basamağında etkili olması, benzer etki sınıfındaki antibiyotiklerin bile farklı sinerji düzeyleri gösterebileceğine işaret eder.

Khong ve ark. (2024), *Enterococcus faecium*, *E. faecalis* ve *S. maltophilia* izolatlarında, antibiyotik ve faj emdirilmiş şeritlerin %0.3 yumuşak agar yüzeyine 90° açıyla yerleştirildiği özgün bir modifiye yöntem kullanmıştır. Enterokoklarda vankomisin kombinasyonları ile belirgin sinerji gözlenirken, diğer antibiyotiklerde (ampisilin, linezolid) etki sınırlı kalmıştır. *S. maltophilia*'da levofloksasin (LEV) ile sinerji saptanmazken, SEF ile iki suşta orta düzey sinerji gözlenmiştir. Bu bulgular, antibiyotik-faj sinerjisinin hem antibiyotiğin hedeflediği bakteriye hem de fajın replikasyon stratejisine, bağlanma dinamiklerine, yayılım kapasitesine ve biyolojik stabilitesine bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, şerit yerleşimli modifiye yöntem gibi yöntemsel farklılıkların sinerjinin gözlenebilirliğini doğrudan etkileyebileceği anlaşılmaktadır.

Stachurska ve ark. (2021), PAS tespiti için MÇTAY'ye farklı modifikasyonlar uygulayarak bunları *E. coli* ve T4 fajı ile 43 antibiyotik kullanarak karşılaştırmıştır. Sefotaksim, SEF ve ampisilin, PAS etkisini en güçlü gösteren ajanlar olarak belirlenmiştir. PAS, sub-MİK seviyedeki antibiyotiklerin daha büyük faj plakları oluşturması olarak tanımlanmıştır. Antibiyotiklerin agara eklenme biçimi plak sayısı ve boyutunu etkilemiştir. Plak boyutu ile ilgili en iyi sonuçlar, antibiyotiğin alt agara eklenmesiyle elde edilmiştir. Çalışma, PAS tespiti için yöntemin antibiyotiğe göre optimize edilmesi gerektiğini ve doğrudan agar uygulamalarının disk yöntemine kıyasla daha etkili olabileceğini göstermektedir.

Moryl ve ark. (2024), *Enterococcus faecalis*'e karşı iki faj (vB_Efa29212_2e ve vB_Efa29212_3e) ile dört antibiyotiği (imipenem, amoksisilin-klavulanik asit, ampisilin, norfloksasin) MÇTAY ile test etmiştir. İmipenem, amoksisilin-klavulanik asit ve ampisilin kombinasyonlarında inhibisyon zonlarında artış ve faj plak çaplarında büyüme gözlenirken, norfloksasin ile inhibisyon zonu çaplarında azalma ve plaklarda değişiklik olmaması antagonistik etki olarak değerlendirilmiştir.

Kaur ve ark. (2012), MRSA'ya özgü fajların çift tabakalı agarda oluşturduğu küçük plakların, sub-MİK dozdaki protein sentezi inhibitörü antibiyotikler (linezolid, tetrasiklin) ile boyutunun sırasıyla 3.5 ve 2.8 kat arttığını; adsorpsiyon ve latent periyodun kısaldığını; patlama boyutunun arttığını göstermiştir. Antibiyotiklerin konak bakteri üremesini yavaşlatarak plak boyutunu artırdığı ve bakteri yapısının değişmediği epifloresan mikroskop analizleriyle doğrulanmıştır.

Morris ve ark. (2025), ESKAPE patojenleri üzerinde faj-antibiyotik sinerjisini araştırmış ve *P. aeruginosa* suşlarında (ATCC 27853, S4 12, PAO1) PAW33 litik fajının aztreonam (ATM), CIP, LEV ve piperasilin-tazobaktam (TZP) ile potansiyel sinerjisini MÇTA-DD yöntemi ile test etmiştir. 24 saatlik faj inkübasyonu sonrasında, özellikle CIP, LEV ve ATM ile inhibisyon zon çaplarında anlamlı artış gözlenmiş; en belirgin artış çevresel S4 12 suşunda CIP ve LEV ile saptanmıştır. TZP ile de artış görülmüş ancak etki daha sınırlı kalmıştır. Bu sonuçlar, MÇTA-DD yönteminin faj-antibiyotik sinerjisi ön taramasında yararlı olabileceğini, ancak kantitatif doğrulama için dama tahtası yönteminin daha uygun ve güvenilir olduğunu ortaya koymaktadır.

5.8.2. Dama Tahtası Yöntemi

Dama tahtası yöntemi, faj ve antibiyotik/AMP kombinasyonlarının etkileşim düzeyini (sinerjik, aditif, antagonistik) kantitatif olarak belirlemeye ve uygulama sırası/zamanlamasının rolünü ortaya koymaya olanak tanıyan değerli bir araçtır (Li ve ark., 2021). FİKİ değeri, kombinasyonların MİK üzerindeki etkisini sayısal olarak değerlendirmeyi ve eşzamanlı/ardışık stratejiler arasındaki farkları ölçmeyi sağlar.

Loganathan ve ark. (2024), *S. aureus* suşlarında dama tahtası analizi ile vB_Sau_S90 fajının FOS, CIP, oksasilin ve vankomisin ile tüm kombinasyonlarında belirgin sinerji (FİKİ < 0.5) elde etmiştir. Bu, aynı çalışmada vankomisin ile MÇTAY'de plak büyümesi gözlenmemesiyle tezat oluşturarak, MÇTA-DD yönteminin bazı ajanlar için sinerjiyi fenotipik olarak yeterince yansıtamayabileceğini ve dama tahtası yönteminin kantitatif değerlendirmede daha güvenilir olduğunu göstermiştir.

Moryl ve ark. (2024), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşunda 2e ve 3e fajları ile AMP, AMC ve IMP kombinasyonlarını test etmiş; sinogram analizleri AMP için MİK₅₀'de 16 kat düşüş gibi güçlü sinerji göstermiştir. Ancak bazı suşlarda, özellikle IMP ile antagonistik etkiler (MİK₅₀ artışı) de gözlenmiştir.

Morris ve ark. (2025), PAW33 fajının *P. aeruginosa* suşlarına karşı CIP ve LEV ile tüm suşlarda sinerji (FİKİ: 0.14–0.35), ATM ve TZP ile ise çevresel suşta sinerji, diğerlerinde kısmi sinerji (> 0.5 FİKİ < 1) raporlamıştır. Bu veriler, PAS'ın antibiyotik ve suş bağımlı heterojen yapısını desteklemektedir.

Eşzamanlı uygulamada özellikle protein sentezini DNA veya ribozom düzeyinde inhibe eden antibiyotiklerin faj adsorpsiyonunu veya replikasyonunu baskılayarak sinerjiyi engelleyebileceği bildirilmiştir (Chaudhry ve ark., 2017; Aktürk ve ark., 2019). Nikolić ve ark. (2022). Çalışmamızda BAUNPA1 fajı ile eşzamanlı uygulamalarda MEM, COL ve CIP ile %60 oranında sinerji sağlanmıştır. TOB, MUR ve PEX kombinasyonlarında ise tüm izolatlarda aditif etki gözlenmiştir. Bu sonuçlar, özellikle (daha düşük FİKİ değerine sahip) β -laktamların eşzamanlı uygulamalarda daha yüksek sinerjik potansiyele sahip olabileceğini işaret etmektedir. BAUNPA3 ile eşzamanlı uygulamalarda MEM ve CIP ile %100, COL ile %60, TOB ve PEX ile de %40 sinerji elde edilmiştir.

Nikolić ve ark. (2022), *P. aeruginosa* PA14 suşunda JG024 fajı ile CIP ve seftriakson (CRO) kombinasyonlarında sinerji (FİKİ 0.18–0.50) elde ederken, GEN ile sinerji sağlanamamıştır; bu aminoglikozitlerin faj biyolojisi üzerindeki olumsuz etkisini desteklemektedir. Paranos ve ark., (2025), MBL üreten *P. aeruginosa* izolatlarına karşı MEM, CIP ve amikasin ile çeşitli *P. aeruginosa* fajlarının kombinasyonlarında sinerji (FİKİ 0.04–0.35), Engeman ve ark. (2021) ise 16 *P. aeruginosa* izolatına karşı CIP ve MEM ile PAM2H faj kokteylinin kombinasyonunda çok düşük FİKİ değerleriyle belirgin sinerji (FİKİ 0.004–0.5) bildirmiştir.

Çalışmamızda, önce BAUNPA1 fajının uygulandığı ardışık modelde (faj → 2 saat sonra antibiyotik) MEM, COL, CIP ve TOB ile %80, MUR ve PEX ile ise %60 oranında sinerji elde edilmiştir. Önce BAUNPA3 fajının uygulandığı ardışık modelde ise MEM ve

CIP ile %100, COL, TOB ile %80, MUR ve PEX ile %60 oranında sinerji elde edilmiştir. Bu bulgular, faja öncelik verilmesinin sinerjiyi artırabileceğini göstermektedir.

Önce-antibiyotik/peptid uygulanan ardışık modelde (antibiyotik → 2 saat sonra BAUNPA1 fajı) MEM ile %100, COL ile %80, CIP ile %60, TOB ile %40 oranında sinerji elde edilmiştir. BAUNPA3 fajının kullanıldığı aynı modelde, MEM ile %100, COL ile %80, CIP ile %40 oranında sinerji elde edilmiştir.

Tablo 5.1. Dama tahtası yöntemiyle yapılan faj-antibiyotik sinerji çalışmaları.

Yayın (Yıl)	Kullanılan Faj	Antibiyotikler	Yöntem	Sonuç
Nikolic ve ark. 2022	JG024	CIP, GEN	Dama tahtası, eşzamanlı ve 1–6 saat ardışık	CIP ile sinerji eşzamanlı (FİKİ = 0,29–0,50) iken ardışık 1 saat (FİKİ 0.18–0.50); GEN tüm kullanımda <u>etkisiz</u>
Chaudhry ve ark. 2017	NP1, NP3	TOB, GEN, CIP	Dama tahtası, eşzamanlı ve ardışık (4 saat)	CIP ile sinerji; TOB ve GEN ile sadece faj→AB sıralamasında sinerji
Engeman ve ark. 2021	PAM2H (EPa5, EPa11, EPa15, EPa22, MEM, CIP EPa43)		Dama tahtası, eşzamanlı	MEM ve CIP ile sinerji (FİKİ 0.0039'a kadar düşüş)
Fatima ve Hynes, 2025	Hali, Meadow, Nox	CIP	Dama tahtası, eşzamanlı ve ardışık (1 , 4 ve 6 saat)	CIP ile 16 kata kadar MİK azalması; güçlü sinerji eşzamanlı ve 1 saat gecikmeli kullanımda
Paranos ve ark. 2025	Pakpunavirus, Phikzvirus, Pbnavirus, Phikmvvirus	CIP, MEM, COL	Dama tahtası, eşzamanlı	%60 sušta sinerji; FİKİ 0.04; bazı suşlarda CIP ile antagonizm
Akturk ve ark. 2019	vB_PaM_EPA1	MEM, CIP	Dama tahtası, eşzamanlı ve ardışık (6 saat)	Faj→AB sıralamasında sinerji; AB→faj sıralamasında etkisiz
Damar Çelik ve ark. 2024	PA-56	MEM, CIP	Dama tahtası eşzamanlı	Her iki antibiyotik ile sinerji

CIP: Siprofloksasin, MEM: Meropenem, COL: Kolistin, TOB: Tobramisin, GEN: Gentamisin

Chaudhry ve ark., (2017), TOB ve GEN kombinasyonlarında önce faj uygulamasında sinerji oluştuğunu, önce antibiyotik uygulamasının ise replikasyonu baskıladığını bildirmiştir. Nikolić ve ark. (2022), CIP + JG024 kombinasyonunda 1 saat

önce-faj uygulamasının sinerjiyi oluşturduğunu, bu sürenin 6 saate çıkarılmasının ise bu etkinin oluşmadığını göstermiştir. Tkhilashvili ve ark., (2019), biyofilm modelinde TOB ile önce-faj ardışık uygulamasının eşzamanlıya göre 6 log daha fazla bakteriyel azalma sağladığını ve en yüksek sinerjinin 6 saatlik önce-faj uygulamasında gözlendiğini raporlamıştır. Aktürk ve ark. (2019) MEM/CIP + vB_PaM_EPA1 kombinasyonunda 6 saat önce-faj uygulamasının sinerjiyi oluşturduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada uygulanan katı tabanlı yöntemler, belirli faj-antibiyotik/peptid kombinasyonları arasında potansiyel sinerjileri ön taramada değerli veriler sunmuştur. Ancak bu bulgular, antimikrobiyal ajana ve deneysel protokol gibi değişkenlere bağlı olarak farklılık gösterebilir. Bu nedenle potansiyel sinerjiler, sıvı tabanlı kantitatif testlerle (örneğin dama tahtası veya zaman ölüm eğrisi deneyi) mutlaka doğrulanmalıdır (Tablo 5.1)

5.9. Bakteriyofaj-Peptid Sinerjisi

Bakteriyofajlar ve AMP'ler arasındaki kombinasyon uygulamaları, ÇİD bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede giderek daha fazla ilgi gören alternatif terapötik yaklaşımlardan biri hâline gelmektedir. Bu kombinasyonların sunduğu potansiyel sinerjistik etkiler, farklı hedef yapılar ve etki mekanizmaları üzerinden şekillenmektedir. Ancak literatürde yer alan çalışmalar hâlen sınırlı sayıda olup, çoğu bulgu *in vitro* düzeyde sınırlı kalmaktadır (Mirski ve ark., 2019). Bu durum, kombinasyon terapilerinin klinik uygulamalara entegrasyonu öncesinde daha derinlemesine mekanistik ve farmakodinamik analizlere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Bakteriyofajlar, konak bakteriye özgül bağlanma yetenekleri ve litik döngü yoluyla hedef hücreyi parçalama kapasiteleri sayesinde yüksek seçiciliğe sahip antimikrobiyal ajanlardır. Diğer yandan, AMP'ler genellikle bakteriyel hücre zarını destabilize ederek veya hücre içi metabolik süreçleri inhibe ederek etki gösterirler. Bu farklı etki yolları, bakteriyofaj ve AMP'lerin birlikte kullanıldığında sinerjik bir antibakteriyel etki potansiyeli doğurmasına olanak tanımaktadır. Nitekim AMP'lerin zar

geçirgenliğini artırıcı etkisi, bakteriyofaj genomunun bakteriyel sitoplazmaya daha etkin girişini kolaylaştırabilirken; bakteriyofajların enfekte ettiği bakterilerde oluşturduğu fizyolojik stres ve zayıflık, AMP'lerin etkinliğini artıracak bir mikroçevre oluşturmaktadır (Alisigwe ve ark.,2025; Mirski ve ark.,2019).

Ayrıca bazı AMP'lerin sahip olduğu immunomodülatör özellikler, konak savunma sisteminin düzenlenmesine katkı sağlayarak faj replikasyonunun kolaylaşmasına ve enfeksiyonun kontrol altına alınmasına destek olabilmektedir (Wittebole ve ark., 2014). Bu etkileşimler, yalnızca bakteriyel eradikasyon değil, aynı zamanda konak immün yanıtının optimize edilmesi açısından da önem arz etmektedir.

MÇTAY kullanılarak bakteriyofaj ve AMP kombinasyonlarının sinerjik etkisini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bakteriyofaj ve AMP'lerin sinerjisini araştıran sınırlı sayıda çalışma olup bunların büyük bölümü dama tahtası veya zamana bağlı öldürme gibi sıvı fazlı *in vitro* yöntemler kullanmıştır (Tablo 5.2). Bu çalışma, MUR ve PEX gibi özgül AMP'lerin iki farklı faj (BAUNPA1 ve BAUNPA3) ile birlikte hem modifiye DLA protokolleri hem de dama tahtası yöntemi kullanılarak sinerjik potansiyelinin sistematik olarak değerlendirildiği ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Literatürde raporlanan bakteriyofajlardan türetilmiş AMP'lerin, hem doğrudan antimikrobiyal etkileri hem de klasik antibiyotik veya bakteriyofajlarla birlikte sinerjik etki gösterebilme potansiyelleri, genel olarak bakteriyofaj peptid sinerjik yaklaşımını ele almak için son derece değerlidir.

Wilkinson ve ark., (2025) tarafından yürütülen çalışmada, gp28 adlı bakteriyofaj kökenli bir AMP'nin ÇİD *P. aeruginosa* suşlarına karşı TOB ile eşzamanlı uygulandığında güçlü bir sinerji oluşturduğu bildirilmiştir. LL-37'ye yapısal benzerlik gösteren gp28'in planktonik hücrelerde MİK değeri 109 µg/mL olarak belirlenmiş, ayrıca biyofilm yapısını bozabildiği gösterilmiştir. Zamana bağlı öldürme analizleri, bu kombinasyonun antibakteriyel etkinliğini anlamlı ölçüde artırdığını ortaya koymuştur.

Benzer biçimde, Wojciechowska, (2025) tarafından yapılan çalışmada endolizin LysABP-01 ve polimiksin B kombinasyonunun sinerjik etkisi vurgulanmıştır. Dama

tahtası yöntemi ve hayvan modellerinde yapılan deneylerde, bu kombinasyonların endolizin MİK değerini 32 kat, COL'nin MİK değerini ise 8 kat düşürdüğü saptanmıştır. Sinerjinin, dış zar geçirgenliğini artıran mekanizmalar üzerinden gerçekleştiği belirtilmiştir. Ayrıca LysPB32 ve polimiksin B kombinasyonu ile *Salmonella Typhimurium*'da 7 log KOB/mL düzeyinde bakteri yükü azalması sağlanmıştır (Kim ve ark., 2022).

Tablo 5.2. Faj-peptid sinerjisine ait çalışmalar (Alisigwe ve ark., 2025).

Yazar (Yıl)	Faj / Peptid	Antibiyotik / AMP	Hedef Bakteri	Sonuç
Oliveira ve ark. (2017)	EC3a	Bal (doğal AMP)	<i>E. coli</i>	5.9-log biyofilm azalması 27 kat azalma;
Peng ve ark. (2017)	LysAB2 P3	COL dirençli suşlar	<i>A. baumannii</i>	yüksek geçirgenlik, düşük toksisite 10–100 kat bakteriyel
Mirski ve ark. (2019)	EF34	Sentetik lipopeptitler	<i>E. faecalis</i>	azalma; 15–30 dakikada etkili
Duc ve ark. (2020)	SA46-CTH2	Nisin	<i>S. aureus</i>	Biyofilm yükü azaltıldı AMP zar etkisi endolizin
Gouveia ve ark. (2022)	Lys11	R8K	<i>S. aureus</i> (MRSA)	aktivitesini artırdı; MRSA'ya karşı sinerji
Zhang ve ark. (2023)	Ply2660	LL-37	<i>E. faecalis</i>	Biyofilm azalması; sağkalım oranı %83.3'e çıktı
Wojciechowska (2025)	LysABP-01,	COL	<i>A. baumannii</i>	Endolizin MİK 32 kat, COL MİK 8 kat azaldı; 7 log azalma
Wilkinson ve ark. (2025)	gp28	TOB	<i>P. aeruginosa</i>	Güçlü sinerji, MİK düşüşü, biyofilm bozulması

AMP: Antimikrobiyal peptid, COL: Kolistin, TOB: Tobramisin,

Mirski ve ark., (2019), EF34 fajı ile PAL-KKKK-NH₂, PAL-KR-NH₂ ve MIR-KR-NH₂ gibi sentetik lipopeptitlerin *E. faecalis* üzerinde kombinasyonlarını test etmiş ve bu

birleşimlerin 10–100 kat daha fazla bakteriyel azalma sağladığını bildirmiştir. Bu etkiler, sadece 15–30 dk içinde başlamış ve hızlı bakterisidal yanıtlar oluşturmuştur.

Gouveia ve ark., (2022), *S. aureus* suşlarında R8K adlı AMP ile Lys11 endolizini kombine etmiş ve AMP'nin hücre zarında oluşturduğu yapısal değişikliklerin endolizin etkinliğini anlamlı ölçüde pekiştirdiğini göstermiştir. MRSA suşlarında dahi sinerji gözlenmiştir. Duc ve ark., (2020) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, nisin ile SA46-CTH2 fajının süt gibi kompleks matrislerde dahi biyofilm yükünü azaltabildiği rapor edilmiştir.

Zhang ve ark., (2023), LL-37 ve Ply2660 endolizini *E. faecalis* biyofilm modeli üzerinde test etmiş, biyofilm yapısında anlamlı azalma ve fare modelinde sağkalım oranında %83.3'e varan artış saptamıştır. Oliveira ve ark., (2017) ise, EC3a fajı ve bal kombinasyonunun *E. coli* biyofilmi üzerinde 5.9-log'luk azalma sağladığını, bu etkinin balın doğal AMP içeriği ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir.

Peng ve ark., (2017), LysAB2 endolizininin türetilen çeşitli peptidleri *A. baumannii*'ye karşı test etmiş; özellikle LysAB2 P3 peptidinin COL dirençli suşlara karşı etkin olduğunu ve fare modelinde 27 kat bakteriyel azalma sağladığını ortaya koymuştur. Peptidin düşük sitotoksosite, yüksek membran geçirgenlik etkisi ve sağkalım avantajı sağladığı bildirilmiştir.

Lemon ve ark., (2019), T7 fajını AMP-1018 üretmesi için genetik olarak modifiye etmiş ve bu rekombinant fajın hem planktonik hem de biyofilm hücrelerinde yüksek lizis kapasitesi sergilediğini raporlamıştır. Bu tür biyoteknolojik yaklaşımların, konvansiyonel AMP'lerin terapötik potansiyelini aşabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca, bazı yayınlarda gp46 ve gp13 gibi faj yapısal proteinlerinden türetilen küçük peptidlerin antimikrobiyal etkileri dolaylı biçimde belirtilmiştir. Bu proteinlerin peptid formlarının, bakteriyel zar geçirgenliğini artırarak faj penetrasyonunu kolaylaştırabildiği ve böylece sinerjik etkinliği optimize edebildiği öne sürülmüştür. Bu bulgular, faj kökenli AMP'lerin gelecekteki terapötik stratejilerde merkezi rol oynayabileceğini desteklemektedir.

Bu literatür bilgileriyle uyumlu olarak, çalışmamızda MUR ve PEX ile yapılan kombinasyonlarda sinerjik etkinin yalnızca ardışık uygulama modelinde (faj → 2 s sonra peptid) ortaya çıktığı; eşzamanlı ve ters ardışık uygulamalarda ise tüm kombinasyonların additif düzeyde kaldığı gözlemlenmiştir. BAUNPA1 ve BAUNPA3 fajlarıyla yapılan dama tahtası yönteminde, ardışık (önce faj) uygulamalarda MUR için ortalama FİKİ değerleri sırasıyla 0.418 ve 0.418; PEX için ise 0.450 ve 0.435 olarak hesaplanmış ve her iki fajla da %60 oranında sinerji tespit edilmiştir. Eşzamanlı uygulamalarda ise FİKİ değerlerinin MUR için 1.276 (BAUNPA1) ve 0.896 (BAUNPA3), PEX için ise 1.037 (BAUNPA1) ve 0.638 (BAUNPA3) düzeylerinde olduğu ve sinerjik etkinin sağlanamadığı belirlenmiştir.

Bu durum, faj uygulamasının bakteri hücrelerinde zar bütünlüğünü bozarak ya da hücre yüzey yapılarında değişiklik oluşturarak AMP'lerin hücreye girişini kolaylaştırdığı ve peptid etkinliğini artırdığı yönündeki hipotezi desteklemektedir. Dolayısıyla bakteriyofajlar, AMP etkinliğini sinerjik olarak güçlendiren biyolojik ön modülatörler şeklinde değerlendirilebilir.

Sonuç olarak, bakteriyofaj ve AMP kombinasyonları, farklı hedeflere yönelen etki mekanizmaları sayesinde sinerjik antimikrobiyal yanıtlar oluşturarak dirençli patojenlerin eliminasyonunu kolaylaştırmaktadır. Özellikle faj uygulamasının peptid etkisini optimize eden bir ön koşul oluşturduğuna dair bulgular, bu stratejinin tedavi protokollerinde zamana duyarlı olarak planlanmasını gerektirmektedir. Literatürde bildirilen ve bu çalışmada elde edilen veriler, bakteriyofaj kökenli AMP'lerin gelecekteki terapötik peptid tasarımlarında öncelikli kaynak olarak değerlendirilmesi gerektiğini güçlü biçimde ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- BAUNPA1 ve BAUNPA3 klinik örneklerden izole edilen *P. aeruginosa* izolatlarına karşı litik etki gösterdi.
- BAUNPA3 daha geniş konak aralığına sahipken, BAUNPA1 in daha yüksek patlama boyutu ve ısı direncine sahip olduğu saptandı.
- Her iki faj için optimum enfeksiyon koşulları; MOI 10, pH 7–8 ve 37–50 °C sıcaklık aralığı olarak belirlendi.
- Kolistin ve murepavadin'in en düşük MİK aralığı (1 - 0.06 µg/mL) gösteren antimikrobiyal ajanlar olduğu belirlendi.
- Alt agara sub-MİK antibiyotik/peptid ilavesi plak boyutunu; yumuşak agara sub-MİK antibiyotik/peptid ilavesi plak sayısını artırdı.
- Ardışık uygulama (faj → antibiyotik/peptid) en yüksek sinerjiyi sağladı.
- Meropenem, tüm yöntemlerde en güçlü sinerjik etkiyi gösterdi.
- Sinerji potansiyelinin daha kapsamlı incelenebilmesi için farklı antibiyotik sınıflarından temsilcilerle (ör. β-laktam, aminoglikozid, kinolon, polimiksin dışı) ek kombinasyon çalışmaları yapılmalıdır.
- Zaman-ölüm eğrileri ile sinerjik etki doğrulanmalıdır.
- Faj-antibiyotik/peptid kombinasyonları hayvan ve biyofilm modellerinde test edilmelidir.
- Fajların endotoksin düzeyi belirlenmelidir.
- Fajların tam genom analizi yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abdelaziz, M. A., El-Aziz, A. M. A., El-Sokkary, M. M. A., & Barwa, R. (2024). Characterization and genetic analysis of extensively drug-resistant hospital acquired *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *BMC microbiology*, 24(1), 225. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03321-5>.
- Abdel-Mawgoud, A. M., Lépine, F., & Déziel, E. (2010). Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. *Applied microbiology and biotechnology*, 86(5), 1323–1336. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2498-2>.
- Abedon S. (2011). Phage therapy pharmacology: calculating phage dosing. *Advances in applied microbiology*, 77, 1–40. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387044-5.00001-7>.
- Abedon S. T. (2019). Phage-antibiotic combination treatments: antagonistic impacts of antibiotics on the pharmacodynamics of phage therapy? *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 8(4), 182. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040182>.
- Ackermann, H. W. (2011). Bacteriophage taxonomy. *Microbiology Australia*, 32(2), 90-94. <https://doi.org/10.1071/ma11090>.
- Adams, M. H. (1959). Enumeration of bacteriophage particles. In *Bacteriophages* (pp. 27–34). London: Interscience Publishers, Ltd.
- Aghazadeh, M., Hojabri, Z., Mahdian, R., Nahaei, M. R., Rahmati, M., Hojabri, T., Pirzadeh, T., & Pajand, O. (2014). Role of efflux pumps: MexAB-OprM and MexXY(-OprA), AmpC cephalosporinase and OprD porin in non-metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis and burn patients. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 24, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.018>
- Ahmadi, H., Radford, D., Kropinski, A. M., Lim, L. T., & Balamurugan, S. (2017). Thermal-stability and reconstitution ability of *Listeria* phages P100 and A511. *Frontiers in microbiology*, 8, 2375. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02375>.
- Akel, N. U., Tekintaş, Y., Yılmaz, F. F., Öztürk, İ., Ökeer, M., Aydemir, Ş., Çilli, F. F., & Hoşgör Limoncu, M. (2021). Klinik *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında siprofloksasin direnci ve direnç mekanizmalarının araştırılması. *ANKEM dergisi*, 35(1), 22–27. <https://doi.org/10.5222/ankem.2021.022>.
- Akinboboye, O. A., Akingbade, O. A., Motayo, B. O., Akinleye, E. F. O., Sesan, A. E., Samuel, I. A., Amuche, E. D., & Omotunde, N. (2025). Toxigenicity and virulence variations of *Pseudomonas aeruginosa* from out-patient hospitals in Southwest Nigeria [Preprint]. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2025.01.07.25320112>.
- Akturk, E., Oliveira, H., Santos, S. B., Costa, S., Kuyumcu, S., Melo, L. D. R., & Azeredo, J. (2019). Synergistic action of phage and antibiotics: Parameters to enhance the killing efficacy against mono and dual-species biofilms. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 8(3), 103. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030103>.
- Al-Anany, A. M., Fatima, R., & Hynes, A. P. (2021). Temperate phage-antibiotic synergy eradicates bacteria through depletion of lysogens. *Cell reports*, 35(8), 109172. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109172>
- Al-Anany, A. M., Fatima, R., Nair, G., Mayol, J. T., & Hynes, A. P. (2024). Temperate phage-antibiotic synergy across antibiotic classes reveals new mechanism for preventing lysogeny. *mBio*, 15(6), e0050424. <https://doi.org/10.1128/mbio.00504-24>
- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, 53(10), 1565–1574. <https://doi.org/10.1021/bi5000564>

- Ali, S., Karaynir, A., Salih, H., Öncü, S., & Bozdoğan, B. (2023). Characterization, genome analysis and antibiofilm efficacy of lytic *Proteus* phages RP6 and RP7 isolated from university hospital sewage. *Virus research*, 326, 199049. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199049>
- Alisigwe, C. V., Ikpa, C. S., & Otuonye, U. J. (2025). Examining alternative approaches to antibiotic utilisation: A critical evaluation of phage therapy and antimicrobial peptides combination as potential alternatives. *The Microbe*, 100254. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100254>
- Al-Mujaini, A., Al-Kharusi, N., Thakral, A., & Wali, U. K. (2009). Bacterial keratitis: perspective on epidemiology, clinico-pathogenesis, diagnosis and treatment. *Sultan Qaboos University medical journal*, 9(2), 184–195.
- Al-Orphaly, M., Hadi, H. A., Eltayeb, F. K., Al-Hail, H., Samuel, B. G., Sultan, A. A., & Skariah, S. (2021). Epidemiology of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the middle east and north africa region. *mSphere*, 6(3), e00202-21. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00202-21>.
- Anderson, T. J., Grégoire, J., Pearson, G. J., Barry, A. R., Couture, P., Dawes, M., Francis, G. A., Genest, J., Jr, Grover, S., Gupta, M., Hegele, R. A., Lau, D. C., Leiter, L. A., Lonn, E., Mancini, G. B., McPherson, R., Ngui, D., Poirier, P., Sievenpiper, J. L., Stone, J. A., ... Ward, R. (2016). 2016 Canadian cardiovascular society guidelines for the management of dyslipidemia for the prevention of cardiovascular disease in the adult. *The Canadian journal of cardiology*, 32(11), 1263–1282. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.07.510>.
- Appaneal, H. J., Caffrey, A. R., Jiang, L., Dosa, D., Mermel, L. A., & LaPlante, K. L. (2018). Antibiotic resistance rates for *Pseudomonas aeruginosa* clinical respiratory and bloodstream isolates among the Veterans Affairs Healthcare System from 2009 to 2013. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 90(4), 311–315. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.11.022>.
- Aslam, S., Lampley, E., Wooten, D., Karris, M., Benson, C., Strathdee, S., & Schooley, R. T. (2020). Lessons learned from the first 10 consecutive cases of intravenous bacteriophage therapy to treat multidrug-resistant bacterial infections at a single center in the united states. *Open forum infectious diseases*, 7(9), ofaa389. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa389>.
- Aslan, A. T., Ezure, Y., Horcajada, J. P., Harris, P. N. A., & Paterson, D. L. (2023). In vitro, in vivo and clinical studies comparing the efficacy of ceftazidime-avibactam monotherapy with ceftazidime-avibactam-containing combination regimens against carbapenem-resistant Enterobacterales and multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates or infections: a scoping review. *Frontiers in medicine*, 10, 1249030. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1249030>.
- Azam, A. H., Sato, K., Miyanaga, K., Nakamura, T., Ojima, S., Kondo, K., Tamura, A., Yamashita, W., Tanji, Y., & Kiga, K. (2024). Selective bacteriophages reduce the emergence of resistant bacteria in bacteriophage-antibiotic combination therapy. *Microbiology spectrum*, 12(6), e0042723. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00427-23>.
- Bagińska, N., Grygiel, I., Orwat, F., Harhala, M. A., Jędrusiak, A., Gębarowska, E., Letkiewicz, S., Górski, A., & Jończyk-Matysiak, E. (2024). Stability study in selected conditions and biofilm-reducing activity of phages active against drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Scientific reports*, 14(1), 4285. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54469-z>.
- Bahçeci, İ., Arslan, N., & Duran, Ö. F. (2025). PmrA gene polymorphism and mutation in colistine-resistant *Acinetobacter baumannii* strains. Preprints. <https://doi.org/10.20944/preprints202503.2407.v1>
- Ball, P. (2000). The quinolones: history and overview. In *The quinolones* (pp. 1-31). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012059517-4/50002-7>.
- Baqer, A. A., Nor, N. S. M., Alagely, H. S., Musa, M., & Adnan, N. A. (2023). Isolation and characterization of bacteriophage with lytic activity against carbapenem resistance strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Polski merkurusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 51(1), 35–41. <https://doi.org/10.36740/Merkur202301105>.

- Barrangou, R., & Doudna, J. A. (2016). Applications of CRISPR technologies in research and beyond. *Nature biotechnology*, 34(9), 933–941. <https://doi.org/10.1038/nbt.3659>.
- Bassetti, M., Vena, A., Croxatto, A., Righi, E., & Guery, B. (2018). How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in context*, 7, 212527. <https://doi.org/10.7573/dic.212527>.
- Baur, D., Gladstone, B. P., Burkert, F., Carrara, E., Foschi, F., Döbele, S., & Tacconelli, E. (2017). Effect of antibiotic stewardship on the incidence of infection and colonisation with antibiotic-resistant bacteria and *Clostridium difficile* infection: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Infectious diseases*, 17(9), 990–1001. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30325-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30325-0).
- Beder, D., Esenkaya Taşbent, F., & Doğan, M. (2024). Kan kültürlerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının yıllara göre antibiyotik direnç paterninin incelenmesi. *ANKEM dergisi*, 38, 71–78. <https://doi.org/10.54962/ankemderg.1512439>.
- Behçet, M., Avcıoğlu, F., Karabörk, Ş., & Kurtoğlu, M. G. (2019). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antimikrobiyal direnç oranları: Üç yıllık değerlendirme. *ANKEM dergisi*, 33(2), 43–48. <https://doi.org/10.5222/ankem.2019.1919>
- Bin Jang, H., Bolduc, B., Zablocki, O., Kuhn, J. H., Roux, S., Adriaenssens, E. M., Brister, J. R., Kropinski, A. M., Krupovic, M., Lavigne, R., Turner, D., & Sullivan, M. B. (2019). Taxonomic assignment of uncultivated prokaryotic virus genomes is enabled by gene-sharing networks. *Nature biotechnology*, 37(6), 632–639. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0100-8>.
- Blasco, L., Ambroa, A., Trastoy, R., Bleriot, I., Moscoso, M., Fernández-Garcia, L., Perez-Nadales, E., Fernández-Cuenca, F., Torre-Cisneros, J., Oteo-Iglesias, J., Oliver, A., Canton, R., Kidd, T., Navarro, F., Miró, E., Pascual, A., Bou, G., Martínez-Martínez, L., & Tomas, M. (2020). In vitro and in vivo efficacy of combinations of colistin and different endolysins against clinical strains of multi-drug resistant pathogens. *Scientific reports*, 10(1), 7163. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64145-7>.
- Bomberger, J. M., Maceachran, D. P., Coutermarsh, B. A., Ye, S., O'Toole, G. A., & Stanton, B. A. (2009). Long-distance delivery of bacterial virulence factors by *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane vesicles. *PLoS pathogens*, 5(4), e1000382. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000382>.
- Bonilla, N., Rojas, M. I., Netto Flores Cruz, G., Hung, S. H., Rohwer, F., & Barr, J. J. (2016). Phage on tap—a quick and efficient protocol for the preparation of bacteriophage laboratory stocks. *PeerJ*, 4, e2261. <https://doi.org/10.7717/peerj.2261>.
- Botelho, J., Grosso, F., & Peixe, L. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* - Mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 44, 100640. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.07.002>
- Brogden, N. K., & Brogden, K. A. (2011). Will new generations of modified antimicrobial peptides improve their potential as pharmaceuticals?. *International journal of antimicrobial agents*, 38(3), 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.05.004>.
- Capatina, D., Feier, B., Hosu, O., Tertis, M., & Cristea, C. (2022). Analytical methods for the characterization and diagnosis of infection with *Pseudomonas aeruginosa*: A critical review. *Analytica chimica acta*, 1204, 339696. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.339696>.
- Carlton, R. M., Noordman, W. H., Biswas, B., de Meester, E. D., & Loessner, M. J. (2005). Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods. *International journal of food microbiology*, 99(3), 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.026>
- Casjens, S. R., & Hendrix, R. W. (2015). Bacteriophage lambda: Early pioneer and still relevant. *Virology*, 479-480, 310–330. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.010>
- Cathcart, G. R., Quinn, D., Greer, B., Harriott, P., Lynas, J. F., Gilmore, B. F., & Walker, B. (2011). Novel inhibitors of the *Pseudomonas aeruginosa* virulence factor LasB: a potential therapeutic approach for the

attenuation of virulence mechanisms in pseudomonal infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(6), 2670–2678. <https://doi.org/10.1128/AAC.00776-10>.

Cenens, W., Makumi, A., Mebrhatu, M. T., Lavigne, R., & Aertsens, A. (2013). Phage-host interactions during pseudolysogeny: Lessons from the *Pid/dgo* interaction. *Bacteriophage*, 3(1), e25029. <https://doi.org/10.4161/bact.25029>

Chang, R. Y. K., Wallin, M., Lin, Y., Leung, S. S. Y., Wang, H., Morales, S., & Chan, H. K. (2018). Phage therapy for respiratory infections. *Advanced drug delivery reviews*, 133, 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.08.001>.

Chaudhry, W. N., Concepción-Acevedo, J., Park, T., Andleeb, S., Bull, J. J., & Levin, B. R. (2017). Synergy and order effects of antibiotics and phages in killing *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *PLoS one*, 12(1), e0168615. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168615>.

Chegini, Z., Khoshbayan, A., Taati Moghadam, M., Farahani, I., Jazireian, P., & Shariati, A. (2020). Bacteriophage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: A review. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 19(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00389-5>.

Chen, Z., Liu, Y., Jiang, L., Zhang, C., Qian, X., Gu, J., & Song, Z. (2024). Bacterial outer membrane vesicles increase polymyxin resistance in *Pseudomonas aeruginosa* while inhibiting its quorum sensing. *Journal of hazardous materials*, 478, 135588. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135588>.

Chevalier, S., Bouffartigues, E., Bodilis, J., Maillot, O., Lesouhaitier, O., Feuilloley, M. G. J., Orange, N., Dufour, A., & Cornelis, P. (2017). Structure, function and regulation of *Pseudomonas aeruginosa* porins. *FEMS microbiology reviews*, 41(5), 698–722. <https://doi.org/10.1093/femsre/ful020>.

Chotimakorn, P., Pattharachayakul, S., Lertsrisatit, Y., Santimaleeworagun, W., Tansakul, P., Yingkajorn, M., Chelae, S., Pomwised, R., Chukamnerd, A., Soontarach, R., & Chusri, S. (2025). Antimicrobial resistance and mortality in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections in southern Thailand. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 14(3), 322. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030322>.

Chung, P. Y., & Khanum, R. (2017). Antimicrobial peptides as potential anti-biofilm agents against multidrug-resistant bacteria. *Journal of microbiology, immunology, and infection* 50(4), 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.12.005>

Cianfanelli, F. R., Monlezun, L., & Coulthurst, S. J. (2016). Aim, Load, Fire: The Type VI Secretion System, a Bacterial Nanoweapon. *Trends in microbiology*, 24(1), 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.10.005>.

Clokier, M. R. J., Millard, A. D., Letarov, A. V., & Heaphy, S. (2011). Phages in nature. *Bacteriophage*, 1(1), 31–45. <https://doi.org/10.4161/bact.1.1.14942>.

Clokier, M. R. J. (2021). Special issue on phage informatics and artificial intelligence. *PHAGE (New Rochelle, N.Y.)*, 2(4), 153–154. <https://doi.org/10.1089/phage.2021.29022.edi>.

Comeau, A. M., Tétart, F., Trojet, S. N., Prère, M. F., & Krisch, H. M. (2007). Phage-Antibiotic Synergy (PAS): beta-lactam and quinolone antibiotics stimulate virulent phage growth. *PLoS one*, 2(8), e799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000799>.

Compton A. (1942). Bacteriophage Treatment of Bacillary Dysentery. *British medical journal*, 1(4249), 719–720. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.4249.719>

Cosentino, F., Viale, P., & Giannella, M. (2023). MDR/XDR/PDR or DTR? Which definition best fits the resistance profile of *Pseudomonas aeruginosa*?. *Current opinion in infectious diseases*, 36(6), 564–571. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000966>

Cox, C. D., & Adams, P. (1985). Siderophore activity of pyoverdinin for *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and immunity*, 48(1), 130–138. <https://doi.org/10.1128/iai.48.1.130-138.1985>.

Curran, B., Jonas, D., Grundmann, H., Pitt, T., & Dowson, C. G. (2004). Development of a multilocus sequence typing scheme for the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of clinical microbiology*, 42(12), 5644–5649. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.12.5644-5649.2004>.

Çeken, N., Duran, H., & Atik, B. (2021). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının 4 yıllık direnç profili. *Pamukkale medical journal*, 14(2), 306–311. <https://doi.org/10.31362/patd.789332>.

Dale, G. E., Halabi, A., Petersen-Sylla, M., Wach, A., & Zwingelstein, C. (2018). Pharmacokinetics, tolerability, and safety of murepavadin, a novel antipseudomonal antibiotic, in subjects with mild, moderate, or severe renal function impairment. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(9), e00490-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00490-18>.

Damar Celik, D., Karaynir, A., Salih Dogan, H., Bozdogan, B., & Ozbek Celik, B. (2024). Characterization and genomic analysis of PA-56 *Pseudomonas* phage from Istanbul, Turkey: Antibacterial and antibiofilm efficacy alone and with antibiotics. *Heliyon*, 10(17), e36243. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36243>.

Daubie, V., Chalhoub, H., Blasdel, B., Dahma, H., Merabishvili, M., Glonti, T., De Vos, N., Quintens, J., Pirnay, J. P., Hallin, M., & Vandenberg, O. (2022). Determination of phage susceptibility as a clinical diagnostic tool: A routine perspective. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 1000721. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1000721>.

Del Barrio-Tofiño, E., López-Causapé, C., Cabot, G., Rivera, A., Benito, N., Segura, C., Montero, M. M., Sorlí, L., Tubau, F., Gómez-Zorrilla, S., Tormo, N., Durá-Navarro, R., Viedma, E., Resino-Foz, E., Fernández-Martínez, M., González-Rico, C., Alejo-Cancho, I., Martínez, J. A., Labayru-Echverria, C., Dueñas, C., ... Oliver, A. (2017). Genomics and susceptibility profiles of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spain. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(11), e01589-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01589-17>.

Del Giacomo, P., Raffaelli, F., Losito, A. R., Fiori, B., & Tumbarello, M. (2022). XDR-*Pseudomonas aeruginosa* outside the ICU: Is there still place for colistin? *Antibiotics*, 11(2), 193. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020193>.

Deschaght, P., Van Daele, S., De Baets, F., & Vanechoutte, M. (2011). PCR and the detection of *Pseudomonas aeruginosa* in respiratory samples of CF patients. A literature review. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 10(5), 293–297. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2011.05.004>.

d'Herelle, M. F. (1961). Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *Acta Kravsi*.

Diallo, K., & Dublanchet, A. (2022). Benefits of combined phage-antibiotic therapy for the control of antibiotic-resistant bacteria: a literature review. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(7), 839. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070839>.

Diamond, G., Beckloff, N., Weinberg, A., & Kisich, K. O. (2009). The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. *Current pharmaceutical design*, 15(21), 2377–2392. <https://doi.org/10.2174/138161209788682325>

Drees, M., Pineles, L., Harris, A. D., & Morgan, D. J. (2014). Variation in definitions and isolation procedures for multidrug-resistant Gram-negative bacteria: a survey of the society for healthcare epidemiology of America research network. *Infection control and hospital epidemiology*, 35(4), 362–366. <https://doi.org/10.1086/675600>.

Duc, H. M., Son, H. M., Ngan, P. H., Sato, J., Masuda, Y., Honjoh, K. I., & Miyamoto, T. (2020). Isolation and application of bacteriophages alone or in combination with nisin against planktonic and biofilm cells of *Staphylococcus aureus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(11), 5145–5158. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10581-4>.

- Dunphy, L. J., Kolling, G. L., Jenior, M. L., Carroll, J., Attai, A. E., Farnoud, F., Mathers, A. J., Hughes, M. A., & Papin, J. A. (2021). Multidimensional Clinical Surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* Reveals Complex Relationships between Isolate Source, Morphology, and Antimicrobial Resistance. *mSphere*, 6(4), e0039321. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00393-21>
- Dupont, C. A., Bourigault, Y., Biziere-Maco, H., Boukerb, A. M., Latour, X., Barbey, C., Verdon, J., & Merieau, A. (2025). The GacS/GacA two-component system strongly regulates antimicrobial competition mechanisms of *Pseudomonas fluorescens* MFE01 strain. *Journal of bacteriology*, 207(2), e0038824. <https://doi.org/10.1128/jb.00388-24>.
- Ekkelenkamp, M. B., Cantón, R., Díez-Aguilar, M., Tunney, M. M., Gilpin, D. F., Bernardini, F., Dale, G. E., Elborn, J. S., Bayjanov, J. R., & Fluit, A. (2020). Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* recovered from cystic fibrosis patients to murepavadin and 13 comparator antibiotics. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(2), e01541-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.01541-19>.
- El-Far, A., Samir, S., El-Gebaly, E., Omar, M., Dahroug, H., El-Shenawy, A., Soliman, N. S., & Gamal, D. (2021). High rates of aminoglycoside methyltransferases associated with metallo-beta-lactamases in multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from a tertiary care hospital in Egypt. *Infection and drug resistance*, 14, 4849–4858. <https://doi.org/10.2147/IDR.S335582>.
- El-Sayed Ahmed, M. A. E., Zhong, L. L., Shen, C., Yang, Y., Doi, Y., & Tian, G. B. (2020). Colistin and its role in the era of antibiotic resistance: an extended review (2000-2019). *Emerging microbes & infections*, 9(1), 868–885. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>.
- Engeman, E., Freyberger, H. R., Corey, B. W., Ward, A. M., He, Y., Nikolich, M. P., Filippov, A. A., Tyner, S. D., & Jacobs, A. C. (2021). Synergistic killing and re-sensitization of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics by phage-antibiotic combination treatment. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(3), 184. <https://doi.org/10.3390/ph14030184>.
- Erdem Büyükkiraz, M., & Kesmen, Z. (2022). Antimicrobial peptides (AMPs): A promising class of antimicrobial compounds. *Journal of applied microbiology*, 132(3), 1573–1596. <https://doi.org/10.1111/jam.15314>.
- Essoh, C., Latino, L., Midoux, C., Blouin, Y., Loukou, G., Nguetta, S. P., Lathro, S., Cablanmian, A., Kouassi, A. K., Vergnaud, G., & Pourcel, C. (2015). Investigation of a large collection of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophages collected from a single environmental source in Abidjan, Côte d'Ivoire. *PLoS one*, 10(6), e0130548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130548>.
- EUCAST-The european committee on antimicrobial susceptibility testing. (2025). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 15.0). Retrieved from <https://www.eucast.org>.
- Falagas, M. E., & Kasiakou, S. K. (2005). Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 40(9), 1333–1341. <https://doi.org/10.1086/429323>.
- Falagas, M. E., Vouloumanou, E. K., Samonis, G., & Vardakas, K. Z. (2016). Fosfomycin. *Clinical microbiology reviews*, 29(2), 321–347. <https://doi.org/10.1128/CMR.00068-15>.
- Fasugba, O., Gardner, A., Mitchell, B. G., & Mnataganian, G. (2015). Ciprofloxacin resistance in community- and hospital-acquired *Escherichia coli* urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMC infectious diseases*, 15, 545. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1282-4>.
- Fatima, R., & Hynes, A. P. (2025). Temperate phage-antibiotic synergy is widespread-extending to *Pseudomonas*-but varies by phage, host strain, and antibiotic pairing. *mBio*, 16(2), e0255924. <https://doi.org/10.1128/mbio.02559-24>.
- Fei, B., Li, D., Liu, X., You, X., Guo, M., Ren, Y., Liu, Y., Wang, C., Zhu, R., & Li, Y. (2023). Characterization and genomic analysis of a broad-spectrum lytic phage HZ2201 and its antibiofilm efficacy

against *Pseudomonas aeruginosa*. *Virus research*, 335, 199184. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199184>.

Fiel, S. B., & Roesch, E. A. (2022). The use of tobramycin for *Pseudomonas aeruginosa*: a review. *Expert review of respiratory medicine*, 16(5), 503–509. <https://doi.org/10.1080/17476348.2022.2057951>.

Fikadu, A., Amankwah, S., Alemu, B., Alemu, Y., Naga, A., Tekle, E., & Kassa, T. (2024). Isolation and phenotypic characterization of virulent bacteriophages against multidrug-resistant *Escherichia coli* and its phage-resistant variant from sewage sources. *Infection and drug resistance*, 17, 293–303. <https://doi.org/10.2147/IDR.S441085>.

Flamm, R. K., Rhomberg, P. R., Simpson, K. M., Farrell, D. J., Sader, H. S., & Jones, R. N. (2015). In vitro spectrum of pexiganan activity when tested against pathogens from diabetic foot infections and with selected resistance mechanisms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(3), 1751–1754. <https://doi.org/10.1128/AAC.04773-14>.

Flores-Mireles, A., Hreha, T. N., & Hunstad, D. A. (2019). Pathophysiology, treatment, and prevention of catheter-associated urinary tract infection. *Topics in spinal cord injury rehabilitation*, 25(3), 228–240. <https://doi.org/10.1310/sci2503-228>.

Fuchs, P. C., Barry, A. L., & Brown, S. D. (1998). In vitro antimicrobial activity of MSI-78, a magainin analog. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(5), 1213–1216. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.5.1213>.

Gadaime, N. K., Haddadin, R. N., Shehabi, A. A., & Omran, I. N. (2024). Antimicrobial resistance and carbapenemase dissemination in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Libyan hospitals: a call for surveillance and intervention. *The Libyan journal of medicine*, 19(1), 2344320. <https://doi.org/10.1080/19932820.2024.2344320>

Ge, Y., MacDonald, D., Henry, M. M., Hait, H. I., Nelson, K. A., Lipsky, B. A., Zasloff, M. A., & Holroyd, K. J. (1999). In vitro susceptibility to pexiganan of bacteria isolated from infected diabetic foot ulcers. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 35(1), 45–53. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(99\)00056-5](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(99)00056-5).

Gellatly, S. L., & Hancock, R. E. (2013). *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and disease*, 67(3), 159–173. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12033>.

Gessard, C. (1884). Classics in infectious diseases. On the blue and green coloration that appears on bandages. By Carle Gessard (1850-1925). *Reviews of infectious diseases*, 6 Suppl 3, S775–S776.

Ghanbarzadeh Corehtash, Z., Khorshidi, A., Firoozeh, F., Akbari, H., & Mahmoudi Aznavah, A. (2015). Biofilm formation and virulence factors among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Jundishapur journal of microbiology*, 8(10), e22345. <https://doi.org/10.5812/jjm.22345>.

Ghassani, A., Triponney, P., Bour, M., Plésiat, P., Jeannot, K., & MucoMicrobes study Group (2024). Mutations in genes *lpxL1*, *bamA*, and *pmrB* impair the susceptibility of cystic fibrosis strains of *Pseudomonas aeruginosa* to murepavadin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 68(1), e0129823. <https://doi.org/10.1128/aac.01298-23>.

Ghazvini, K., Neshani, A., Farsiani, H., Youssefi, M., & Keikha, M. (2021). Preparation and evaluation of antibacterial properties of pexiganan, a magainin analogue with broadly-spectrum antimicrobial activity. *Pakistan journal of medical & health sciences* 15 (6), 1778-1784. <https://doi.org/10.53350/pjmhs211561778>.

Gheorghita, A. A., Wozniak, D. J., Parsek, M. R., & Howell, P. L. (2023). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm exopolysaccharides: assembly, function, and degradation. *FEMS microbiology reviews*, 47(6), fuad060. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad060>.

Giacometti, A., Cirioni, O., Ghiselli, R., Orlando, F., Kamysz, W., Rocchi, M., D'Amato, G., Mocchegiani, F., Silvestri, C., Łukasiak, J., Saba, V., & Scalise, G. (2005). Effects of pexiganan alone and combined with

betalactams in experimental endotoxic shock. *Peptides*, 26(2), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2004.09.012>.

Gil-Gil, T., Laborda, P., Martínez, J. L., & Hernando-Amado, S. (2025). Use of adjuvants to improve antibiotic efficacy and reduce the burden of antimicrobial resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 23(1), 31–47. <https://doi.org/10.1080/14787210.2024.2441891>.

Goman, A., Ize, B., Jeannot, K., Pin, C., Payros, D., Goursat, C., Ravon-Katossky, L., Murase, K., Chagneau, C. V., Revillet, H., Taieb, F., Bleves, S., David, L., Meunier, E., Branchu, P., & Oswald, E. (2025). Uncovering a new family of conserved virulence factors that promote the production of host-damaging outer membrane vesicles in gram-negative bacteria. *Journal of extracellular vesicles*, 14(1), e270032. <https://doi.org/10.1002/jev2.70032>.

Gomes, D., Santos, R., S Soares, R., Reis, S., Carvalho, S., Rego, P., C Peleteiro, M., Tavares, L., & Oliveira, M. (2020). Pexiganan in combination with nisin to control polymicrobial diabetic foot infections. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 9(3), 128. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030128>.

Gordillo Altamirano, F. L., & Barr, J. J. (2019). Phage therapy in the postantibiotic era. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), e00066-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18>.

Gottler, L. M., & Ramamoorthy, A. (2009). Structure, membrane orientation, mechanism, and function of pexiganan--a highly potent antimicrobial peptide designed from magainin. *Biochimica et biophysica acta*, 1788(8), 1680–1686. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.10.009>.

Gouveia, A., Pinto, D., Veiga, H., Antunes, W., Pinho, M. G., & São-José, C. (2022). Synthetic antimicrobial peptides as enhancers of the bacteriolytic action of staphylococcal phage endolysins. *Scientific reports*, 12(1), 1245. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05361-1>.

Gratia J. P. (2000). André Gratia: a forerunner in microbial and viral genetics. *Genetics*, 156(2), 471–476. <https://doi.org/10.1093/genetics/156.2.471>.

Gu Liu, C., Green, S. I., Min, L., Clark, J. R., Salazar, K. C., Terwilliger, A. L., Kaplan, H. B., Trautner, B. W., Ramig, R. F., & Maresso, A. W. (2020). Phage-antibiotic synergy is driven by a unique combination of antibacterial mechanism of action and stoichiometry. *mBio*, 11(4), e01462-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.01462-20>.

Habib, M. B., Shah, N. A., Amir, A., & Tariq, M. H. (2025). Molecular and computational insights into algD biofilm genes in multi drug resistant and extensively drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial pathogenesis*, 205, 107634. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107634>.

Hammoudi Halat, D., & Ayoub Moubareck, C. (2022). The intriguing carbapenemases of *Pseudomonas aeruginosa*: current status, genetic profile, and global epidemiology. *The Yale journal of biology and medicine*, 95(4), 507–515.

Hancock, R. E., & Sahl, H. G. (2006). Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature biotechnology*, 24(12), 1551–1557. <https://doi.org/10.1038/nbt1267>.

Hankin E. H. (1896). An outbreak of cholera in an officers' mess. *British medical journal*, 2(1878), 1817–1819. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.1878.1817>.

Harada, L. K., Silva, E. C., Campos, W. F., Del Fiol, F. S., Vila, M., Dąbrowska, K., Krylov, V. N., & Balcão, V. M. (2018). Biotechnological applications of bacteriophages: state of the art. *Microbiological research*, 212-213, 38–58. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.007>.

Harris, A. D., Jackson, S. S., Robinson, G., Pineles, L., Leekha, S., Thom, K. A., Wang, Y., Doll, M., Pettigrew, M. M., & Johnson, J. K. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* colonization in the intensive care unit: prevalence, risk factors, and clinical outcomes. *Infection control and hospital epidemiology*, 37(5), 544–548. <https://doi.org/10.1017/ice.2015.346>.

Hatfull, G. F., Dedrick, R. M., & Schooley, R. T. (2022). Phage therapy for antibiotic-resistant bacterial infections. *Annual review of medicine*, 73, 197–211. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-080219-122208>.

Hauser A. R. (2009). The type III secretion system of *Pseudomonas aeruginosa*: infection by injection. *Nature reviews. Microbiology*, 7(9), 654–665. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2199>.

Hauser, A. R., Jain, M., Bar-Meir, M., & McColley, S. A. (2011). Clinical significance of microbial infection and adaptation in cystic fibrosis. *Clinical microbiology reviews*, 24(1), 29–70. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-10>.

Hernández-García, M., Barbero-Herranz, R., Bastón-Paz, N., Díez-Aguilar, M., López-Collazo, E., Márquez-Garrido, F. J., Hernández-Pérez, J. M., Baquero, F., Ekkelenkamp, M. B., Fluit, A. C., Fuentes-Valverde, V., Moscoso, M., Bou, G., Del Campo, R., Cantón, R., & Avendaño-Ortiz, J. (2024). Unravelling the mechanisms causing murepavadin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: lipopolysaccharide alterations and its consequences. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 14, 1446626. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1446626>.

Hershey, A. D., & Chase, M. (1952). Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of general physiology*, 36(1), 39–56. <https://doi.org/10.1085/jgp.36.1.39>.

Hoiby, N., Flensburg, E. W., Beck, B., Friis, B., Jacobsen, S. V., & Jacobsen, L. (1977). *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. Diagnostic and prognostic significance of *Pseudomonas aeruginosa* precipitins determined by means of crossed immunoelectrophoresis. *Scandinavian journal of respiratory diseases*, 58(2), 65–79.

Holger, D., Kebriaci, R., Morrisette, T., Lev, K., Alexander, J., & Rybak, M. (2021). Clinical pharmacology of bacteriophage therapy: A focus on multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(5), 556. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050556>.

Hood, R. D., Singh, P., Hsu, F., GUVENER, T., Carl, M. A., Trinidad, R. R., Silverman, J. M., Ohlson, B. B., Hicks, K. G., Plemel, R. L., Li, M., Schwarz, S., Wang, W. Y., Merz, A. J., Goodlett, D. R., & Mougous, J. D. (2010). A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria. *Cell host & microbe*, 7(1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2009.12.007>.

Horcajada, J. P., Montero, M., Oliver, A., Sorlí, L., Luque, S., Gómez-Zorrilla, S., Benito, N., & Grau, S. (2019). Epidemiology and Treatment of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Clinical microbiology reviews*, 32(4), e00031-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00031-19>.

Hoşbul, T., Aydoğan, C. N., Kaya, S., Bedir, O., Özcan, H., & Gümrall, R. (2022). In vitro activity of ceftazidime-avibactam and colistin against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Journal of Istanbul faculty of medicine*, 85(3), 355–361. <https://doi.org/10.26650/IUITFD.1092556>.

Howard-Varona, C., Hargreaves, K. R., Abedon, S. T., & Sullivan, M. B. (2017). Lysogeny in nature: mechanisms, impact and ecology of temperate phages. *The ISME journal*, 11(7), 1511–1520. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.16>.

Hu, F., Wang, M., Zhu, D., & Wang, F. (2020). CHINET efforts to control antimicrobial resistance in China. *Journal of global antimicrobial resistance*, 21, 76–77. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.03.007>.

Huang, C., Shi, J., Ma, W., Li, Z., Wang, J., Li, J., & Wang, X. (2018). Isolation, characterization, and application of a novel specific *Salmonella* bacteriophage in different food matrices. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 111, 631–641. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.071>.

Hurst, M., & Lamb, H. M. (2000). Meropenem: a review of its use in patients in intensive care. *Drugs*, 59(3), 653–680. <https://doi.org/10.2165/00003495-200059030-00016>.

Jamal, M., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., Hussain, T., Ali, M., & Das, C. R. (2017). Isolation and characterization of a bacteriophage and its utilization against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*-2995. *Life sciences*, 190, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.09.034>.

Jean, S. S., Lu, M. C., Ho, M. W., Ko, W. C., Hsueh, P. R., & SMART Taiwan Group (2022). Non-susceptibilities to antibiotics against important Gram-negative bacteria, and imipenem-relebactam,

meropenem-vaborbactam against carbapenem non-susceptible Enterobacterales and Pseudomonas aeruginosa isolates implicated in complicated intra-abdominal and urinary tract infections in Taiwan, 2019. *International journal of antimicrobial agents*, 59(3), 106521. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106521>.

Jo, S. J., Lee, Y. M., Cho, K., Park, S. Y., Kwon, H., Giri, S. S., Lee, S. B., Jung, W. J., Park, J. H., Hwang, M. H., Park, D. S., Park, E. J., Kim, S. W., Jun, J. W., Kim, S. G., Kim, J. H., & Park, S. C. (2024). Standardization of the agar plate method for bacteriophage production. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 14(1), 2. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010002>.

Jurač, K., Nabergoj, D., & Podgornik, A. (2019). Bacteriophage production processes. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(2), 685–694. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9527-y>.

Jurado-Martín, I., Sainz-Mejías, M., & McClean, S. (2021). Pseudomonas aeruginosa: An audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. *International journal of molecular sciences*, 22(6), 3128. <https://doi.org/10.3390/ijms22063128>.

Juretschko, S., Labombardi, V. J., Lerner, S. A., Schreckenberger, P. C., & Pseudomonas AST Study Group (2007). Accuracies of beta-lactam susceptibility test results for Pseudomonas aeruginosa with four automated systems (BD Phoenix, MicroScan WalkAway, Vitek, and Vitek 2). *Journal of clinical microbiology*, 45(4), 1339–1342. <https://doi.org/10.1128/JCM.01716-06>.

Kačániová, M., Klůga, A., Kántor, A., Medo, J., Žiarovská, J., Puchalski, C., & Terentjeva, M. (2019). Comparison of MALDI-TOF MS Biotyper and 16S rDNA sequencing for the identification of Pseudomonas species isolated from fish. *Microbial pathogenesis*, 132, 313–318. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.04.024>.

Kal Çakmaklıoğulları, E., & Kuru, C. (2019). Pseudomonas aeruginosa suşlarının antibiyotik duyarlılıkları: Farklı örnek türlerinde değerlendirme. *ANKEM dergisi*, 33(2), 37–42. <https://doi.org/10.5222/ankem.2019.197>.

Kalil, A. C., Metersky, M. L., Klompas, M., Muscedere, J., Sweeney, D. A., Palmer, L. B., Napolitano, L. M., O'Grady, N. P., Bartlett, J. G., Carratalà, J., El Solh, A. A., Ewig, S., Fey, P. D., File, T. M., Jr, Restrepo, M. I., Roberts, J. A., Waterer, G. W., Cruse, P., Knight, S. L., & Brozek, J. L. (2016). Executive summary: management of adults with hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: 2016 clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America and the American thoracic society. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 63(5), 575–582. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw504>.

Kampf G. (2018). Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection. *The Journal of hospital infection*, 98(4), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.08.025>.

Kang, C. I., Song, J. H., Chung, D. R., Peck, K. R., Ko, K. S., Yeom, J. S., Ki, H. K., Son, J. S., Lee, S. S., Kim, Y. S., Jung, S. I., Kim, S. W., Chang, H. H., Ryu, S. Y., Kwon, K. T., Lee, H., Moon, C., & Korean Network for Study of Infectious Diseases (KONSID) (2011). Risk factors and pathogenic significance of severe sepsis and septic shock in 2286 patients with gram-negative bacteremia. *The Journal of infection*, 62(1), 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2010.10.010>.

Karaynir, A., Salih, H., Bozdoğan, B., Güçlü, Ö., & Keskin, D. (2022). Isolation and characterization of Brochothrix phage ADU4. *Virus research*, 321, 198902. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198902>.

Kaur, S., Harjai, K., & Chhibber, S. (2012). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus phage plaque size enhancement using sublethal concentrations of antibiotics. *Applied and environmental microbiology*, 78(23), 8227–8233. <https://doi.org/10.1128/AEM.02371-12>.

Keen E. C. (2012). Phage therapy: concept to cure. *Frontiers in microbiology*, 3, 238. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00238>.

Khong, E., Oh, J. J., Jimenez, J. M., Liu, R., Dunham, S., Monsibais, A., Rhoads, A., Ghatbale, P., Garcia, A., Cobián Güemes, A. G., Blanc, A. N., Chiu, M., Kuo, P., Proost, M., Kline, A., Aslam, S., Schooley, R.

- T., Whiteson, K., Fraley, S. I., & Pride, D. T. (2024). A simple solid media assay for detection of synergy between bacteriophages and antibiotics. *Microbiology spectrum*, 12(5), e0322123. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03221-23>
- Kim, J., Hasan, M., Liao, X., Ding, T., & Ahn, J. (2025). Combined antimicrobial activity of short peptide and phage-derived endolysin against antibiotic-resistant *Salmonella Typhimurium*. *Food microbiology*, 125, 104642. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104642>
- Kim, J., Kim, J. C., & Ahn, J. (2022). Assessment of bacteriophage-encoded endolysin as a potent antimicrobial agent against antibiotic-resistant *Salmonella Typhimurium*. *Microbial pathogenesis*, 168, 105576. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105576>.
- Kim, M. K., Suh, G. A., Cullen, G. D., Perez Rodriguez, S., Dharmaraj, T., Chang, T. H. W., Li, Z., Chen, Q., Green, S. I., Lavigne, R., Pirnay, J. P., Bollyky, P. L., & Sacher, J. C. (2025). Bacteriophage therapy for multidrug-resistant infections: current technologies and therapeutic approaches. *The Journal of clinical investigation*, 135(5), e187996. <https://doi.org/10.1172/JCI1187996>.
- Kizny Gordon, A. E., Mathers, A. J., Cheong, E. Y. L., Gottlieb, T., Kotay, S., Walker, A. S., Peto, T. E. A., Crook, D. W., & Stoesser, N. (2017). The hospital water environment as a reservoir for carbapenem-resistant organisms causing hospital-acquired infections—a systematic review of the literature. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 64(10), 1435–1444. <https://doi.org/10.1093/cid/cix132>.
- Knezevic, P., Obreht, D., Curcin, S., Petrusic, M., Aleksic, V., Kostanjsek, R., & Petrovic, O. (2011). Phages of *Pseudomonas aeruginosa*: response to environmental factors and in vitro ability to inhibit bacterial growth and biofilm formation. *Journal of applied microbiology*, 111(1), 245–254. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05043.x>.
- Kos, V. N., Déraspe, M., McLaughlin, R. E., Whiteaker, J. D., Roy, P. H., Alm, R. A., Corbeil, J., & Gardner, H. (2015). The resistome of *Pseudomonas aeruginosa* in relationship to phenotypic susceptibility. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(1), 427–436. <https://doi.org/10.1128/AAC.03954-14>.
- Kothari, A., Kherdekar, R., Mago, V., Uniyal, M., Mamgain, G., Kalia, R. B., Kumar, S., Jain, N., Pandey, A., & Omar, B. J. (2023). Age of Antibiotic Resistance in MDR/XDR Clinical Pathogen of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16(9), 1230. <https://doi.org/10.3390/ph16091230>
- Kotsanas, D., Wijesooriya, W. R., Korman, T. M., Gillespie, E. E., Wright, L., Snook, K., Williams, N., Bell, J. M., Li, H. Y., & Stuart, R. L. (2013). "Down the drain": carbapenem-resistant bacteria in intensive care unit patients and handwashing sinks. *The Medical journal of Australia*, 198(5), 267–269. <https://doi.org/10.5694/mja12.11757>.
- Koulenti, D., Tsigou, E., & Rello, J. (2017). Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 36(11), 1999–2006. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2703-z>.
- Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E. (2019). Phage therapy: a renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria. *Cell host & microbe*, 25(2), 219–232. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>.
- Kovacs, C. J., Rapp, E. M., Rankin, W. R., McKenzie, S. M., Brasko, B. K., Hebert, K. E., Bachert, B. A., Kick, A. R., Burpo, F. J., & Barnhill, J. C. (2024). Combinations of Bacteriophage Are Efficacious against Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Enhance Sensitivity to Carbapenem Antibiotics. *Viruses*, 16(7), 1000. <https://doi.org/10.3390/v16071000>
- Kulp, A., & Kuehn, M. J. (2010). Biological functions and biogenesis of secreted bacterial outer membrane vesicles. *Annual review of microbiology*, 64, 163–184. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073413>.

- Kurt, K. C., Kurt, H., Tokuç, E., Özbey, D., Arabacı, D. N., Aydın, S., Gönüllü, N., Skurnik, M., & Tokman, H. B. (2025). Isolation and characterization of new lytic bacteriophage PSA-KC1 against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Scientific reports*, *15*(1), 6551. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-91073-1>.
- Lam, M. Y., McGroarty, E. J., Kropinski, A. M., MacDonald, L. A., Pedersen, S. S., Høiby, N., & Lam, J. S. (1989). Occurrence of a common lipopolysaccharide antigen in standard and clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of clinical microbiology*, *27*(5), 962–967. <https://doi.org/10.1128/jcm.27.5.962-967.1989>.
- Lamb, H. M., & Wiseman, L. R. (1998). Pexiganan acetate. *Drugs*, *56*(6), 1047–1054. <https://doi.org/10.2165/00003495-199856060-00011>.
- Law, N., Logan, C., Yung, G., Furr, C. L., Lehman, S. M., Morales, S., Rosas, F., Gaidamaka, A., Bilinsky, I., Grint, P., Schooley, R. T., & Aslam, S. (2019). Successful adjunctive use of bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a cystic fibrosis patient. *Infection*, *47*(4), 665–668. <https://doi.org/10.1007/s15010-019-01319-0>.
- Lazzaro, B. P., Zasloff, M., & Rolff, J. (2020). Antimicrobial peptides: Application informed by evolution. *Science (New York, N.Y.)*, *368*(6490), eaau5480. <https://doi.org/10.1126/science.aau5480>.
- Lebreton, F., Snesrud, E., Hall, L., Mills, E., Galac, M., Stam, J., Ong, A., Maybank, R., Kwak, Y. I., Johnson, S., Julius, M., Ly, M., Swierczewski, B., Waterman, P. E., Hinkle, M., Jones, A., Lesho, E., Bennett, J. W., & McGann, P. (2021). A panel of diverse *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates for research and development. *JAC-antimicrobial resistance*, *3*(4), dlab179. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab179>.
- Lemon, D. J., Kay, M. K., Titus, J. K., Ford, A. A., Chen, W., Hamlin, N. J., & Hwang, Y. Y. (2019). Construction of a genetically modified T7Select phage system to express the antimicrobial peptide 1018. *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, *57*(6), 532–538. <https://doi.org/10.1007/s12275-019-8686-6>.
- Lerdsittikul, V., Thongdee, M., Chaiwattananruengpaisan, S., Atitthep, T., Apiratwarrasakul, S., Withatanung, P., Clokie, M. R. J., & Korbsrisate, S. (2022). A novel virulent Litonavirus phage possesses therapeutic value against multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific reports*, *12*(1), 21193. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25576-6>.
- Lew, S. Q., Chong, S. Y., & Lau, G. W. (2025). Modulation of pulmonary immune functions by the *Pseudomonas aeruginosa* secondary metabolite pyocyanin. *Frontiers in immunology*, *16*, 1550724. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1550724>.
- Li, D., & Schneider-Futschik, E. K. (2023). Current and emerging inhaled antibiotics for chronic pulmonary *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infections in cystic fibrosis. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *12*(3), 484. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030484>.
- Li, J., Nation, R. L., Turnidge, J. D., Milne, R. W., Coulthard, K., Rayner, C. R., & Paterson, D. L. (2006). Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. *The Lancet. Infectious diseases*, *6*(9), 589–601. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70580-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70580-1).
- Li, X., He, Y., Wang, Z., Wei, J., Hu, T., Si, J., Tao, G., Zhang, L., Xie, L., Abdalla, A. E., Wang, G., Li, Y., & Teng, T. (2021). A combination therapy of Phages and Antibiotics: Two is better than one. *International journal of biological sciences*, *17*(13), 3573–3582. <https://doi.org/10.7150/ijbs.60551>.
- Li, X., Zuo, S., Wang, B., Zhang, K., & Wang, Y. (2022). Antimicrobial mechanisms and clinical application prospects of antimicrobial peptides. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *27*(9), 2675. <https://doi.org/10.3390/molecules27092675>.
- Lipsky, B. A., Holroyd, K. J., & Zasloff, M. (2008). Topical versus systemic antimicrobial therapy for treating mildly infected diabetic foot ulcers: a randomized, controlled, double-blinded, multicenter trial of pexiganan cream. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *47*(12), 1537–1545. <https://doi.org/10.1086/593185>.

- Liu, C., Hong, Q., Chang, R. Y. K., Kwok, P. C. L., & Chan, H. K. (2022). Phage-antibiotic therapy as a promising strategy to combat multidrug-resistant infections and to enhance antimicrobial efficiency. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *11*(5), 570. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050570>.
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L. F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J. H., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet. Infectious diseases*, *16*(2), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7).
- Łobocka, M. B., Głowacka, A., & Golec, P. (2018). Methods for bacteriophage preservation. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *1693*, 219–230. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7395-8_17.
- Loganathan, A., Bozdogan, B., Manohar, P., & Nachimuthu, R. (2024). Phage-antibiotic combinations in various treatment modalities to manage MRSA infections. *Frontiers in pharmacology*, *15*, 1356179. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1356179>.
- Lomholt, J. A., Poulsen, K., & Kilian, M. (2001). Epidemic population structure of *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for a clone that is pathogenic to the eye and that has a distinct combination of virulence factors. *Infection and immunity*, *69*(10), 6284–6295. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.10.6284-6295.2001>.
- Lorente, L., Lecuona, M., Galván, R., Ramos, M. J., Mora, M. L., & Sierra, A. (2004). Periodically changing ventilator circuits is not necessary to prevent ventilator-associated pneumonia when a heat and moisture exchanger is used. *Infection control and hospital epidemiology*, *25*(12), 1077–1082. <https://doi.org/10.1086/502347>.
- Lorusso, A. B., Carrara, J. A., Barroso, C. D. N., Tuon, F. F., & Faoro, H. (2022). Role of efflux pumps on antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of molecular sciences*, *23*(24), 15779. <https://doi.org/10.3390/ijms232415779>.
- Lowbury, E. J., & Collins, A. G. (1955). The use of a new cetrimide product in a selective medium for *Pseudomonas pyocyanea*. *Journal of clinical pathology*, *8*(1), 47–48. <https://doi.org/10.1136/jcp.8.1.47>.
- Lu, T. K., & Collins, J. J. (2007). Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(27), 11197–11202. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704624104>.
- Luo, Y., & Song, Y. (2021). Mechanism of antimicrobial peptides: antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities. *International journal of molecular sciences*, *22*(21), 11401. <https://doi.org/10.3390/ijms222111401>.
- Luong, T., Salabarria, A. C., Edwards, R. A., & Roach, D. R. (2020). Standardized bacteriophage purification for personalized phage therapy. *Nature protocols*, *15*(9), 2867–2890. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0346-0>.
- Łusiak-Szelachowska, M., Międzybrodzki, R., Drulis-Kawa, Z., Cater, K., Knežević, P., Winogradow, C., Amaro, K., Jończyk-Matysiak, E., Weber-Dąbrowska, B., Rękas, J., & Górski, A. (2022). Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. *Journal of biomedical science*, *29*(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12929-022-00806-1>
- Lyu, J., Chen, H., Bao, J., Liu, S., Chen, Y., Cui, X., Guo, C., Gu, B., & Li, L. (2023). Clinical distribution and drug resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in Guangzhou, China from 2017 to 2021. *Journal of clinical medicine*, *12*(3), 1189. <https://doi.org/10.3390/jcm12031189>.
- Maharjan, A., Nepal, R., Dhungana, G., Parajuli, A., Regmi, M., Upadhyaya, E., Mandal, D., Shrestha, M., Pradhan, P., Manandhar, K. D., & Malla, R. (2022). Isolation and characterization of lytic bacteriophage against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of nepal health research council*, *19*(4), 717–724. <https://doi.org/10.33314/jnhrc.v19i04.3837>.

- Manohar, P., Loh, B., Nachimuthu, R., & Leptihn, S. (2024). Phage-antibiotic combinations to control *Pseudomonas aeruginosa*-*Candida* two-species biofilms. *Scientific reports*, 14(1), 9354. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59444-2>.
- Mansur, A., Ay, S., & Ersoy, Y. (2013). Nozokomiyal *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında antibiyotik duyarlılık oranları. *Journal of Turgut Ozal medical center*, 20(2), 138–142. <https://doi.org/10.7247/jtomc.20.2.9>.
- Mao, Z., Qiu, Y., Zheng, L., Chen, J., & Yang, J. (2012). Development of a visual loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of the bacterial pathogen *Pseudomonas putida* of the large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Journal of microbiological methods*, 89(3), 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.03.011>.
- Martin-Loeches, I., Dale, G. E., & Torres, A. (2018). Murepavadin: a new antibiotic class in the pipeline. *Expert review of anti-infective therapy*, 16(4), 259–268. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1441024>.
- Mathur, P., Malpiedi, P., Walia, K., Srikantiah, P., Gupta, S., Lohiya, A., Chakrabarti, A., Ray, P., Biswal, M., Taneja, N., Rupali, P., Balaji, V., Rodrigues, C., Lakshmi Nag, V., Tak, V., Venkatesh, V., Mukhopadhyay, C., Deotale, V., Padmaja, K., Wattal, C., ... Indian Healthcare Associated Infection Surveillance Network collaborators (2022). Health-care-associated bloodstream and urinary tract infections in a network of hospitals in India: a multicentre, hospital-based, prospective surveillance study. *The Lancet. Global health*, 10(9), e1317–e1325. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(22\)00274-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(22)00274-1).
- Mauch, R. M., Rossi, C. L., Ribeiro, J. D., Ribeiro, A. F., Nolasco da Silva, M. T., & Levy, C. E. (2014). Assessment of IgG antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Diagnostic pathology*, 9, 158. <https://doi.org/10.1186/s13000-014-0158-z>.
- Melchers, M. J., Teague, J., Warn, P., Hansen, J., Bernardini, F., Wach, A., Obrecht, D., Dale, G. E., & Mouton, J. W. (2019). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of murepavadin in neutropenic mouse models. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 63(3), e01699-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01699-18>.
- Merabishvili, M., Vandenheuvel, D., Kropinski, A. M., Mast, J., De Vos, D., Verbeken, G., Noben, J. P., Lavigne, R., Vaneechoutte, M., & Pirnay, J. P. (2014). Characterization of newly isolated lytic bacteriophages active against *Acinetobacter baumannii*. *PloS one*, 9(8), e104853. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104853>.
- Michalska, M., & Wolf, P. (2015). *Pseudomonas* Exotoxin A: optimized by evolution for effective killing. *Frontiers in microbiology*, 6, 963. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00963>.
- Mirski, T., Lidia, M., Nakonieczna, A., & Gryko, R. (2019). Bacteriophages, phage endolysins and antimicrobial peptides – The possibilities for their common use to combat infections and in the design of new drugs. *Annals of agricultural and environmental medicine*, 26(2), 203–209. <https://doi.org/10.26444/aaem/105390>.
- Modi, A. R., & Kovacs, C. S. (2020). Hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia: Diagnosis, management, and prevention. *Cleveland Clinic journal of medicine*, 87(10), 633–639. <https://doi.org/10.3949/ccjm.87a.19117>.
- Montero, M. M., & Horcajada, J. P. (2023). Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: A pathogen with challenging clinical management. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)*, 41(8), 451–453. <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2023.05.008>.
- Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. A. (2017). Activation mechanism and cellular localization of membrane-anchored alginate polymerase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and environmental microbiology*, 83(9), e03499-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.03499-16>.

- Moraru, C., Varsani, A., & Kropinski, A. M. (2020). VIRIDIC-A Novel tool to calculate the intergenomic similarities of prokaryote-infecting viruses. *Viruses*, *12*(11), 1268. <https://doi.org/10.3390/v12111268>.
- Morita, Y., Tomida, J., & Kawamura, Y. (2012). MexXY multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*, *3*, 408. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00408>.
- Morris, T. C., Reyneke, B., Khan, S., & Khan, W. (2025). Phage-antibiotic synergy to combat multidrug resistant strains of Gram-negative ESKAPE pathogens. *Scientific reports*, *15*(1), 17235. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01489-y>.
- Moryl, M., Szychowska, P., Dziąg, J., Różalski, A., & Torzewska, A. (2024). The Combination of Phage Therapy and β -Lactam Antibiotics for the Effective Treatment of *Enterococcus faecalis* Infections. *International journal of molecular sciences*, *26*(1), 11. <https://doi.org/10.3390/ijms26010011>.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, *65*(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- Mulcahy, L. R., Isabella, V. M., & Lewis, K. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in disease. *Microbial ecology*, *68*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00248-013-0297-x>.
- Nale, J. Y., Spencer, J., Hargreaves, K. R., Buckley, A. M., Trzepiński, P., Douce, G. R., & Clokie, M. R. (2015). Bacteriophage combinations significantly reduce *Clostridium difficile* growth in vitro and proliferation in vivo. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *60*(2), 968–981. <https://doi.org/10.1128/AAC.01774-15>.
- Nikolic, I., Vukovic, D., Gavric, D., Cvetanovic, J., Aleksic Sabo, V., Gostimirovic, S., Narancic, J., & Knezevic, P. (2022). An Optimized checkerboard method for phage-antibiotic synergy detection. *Viruses*, *14*(7), 1542. <https://doi.org/10.3390/v14071542>.
- Nikolich, M. P., & Filippov, A. A. (2020). Bacteriophage therapy: developments and directions. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *9*(3), 135. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9030135>.
- Nour El-Din, H. T., Kettal, M., Granados Maciel, J. C., Beaudoin, G., Oktay, U., Hrapovic, S., Sad, S., Dennis, J. J., Peters, D. L., & Chen, W. (2025). Isolation, characterization, and genomic analysis of bacteriophages against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from early and chronic cystic fibrosis patients for potential phage therapy. *Microorganisms*, *13*(3), 511. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030511>.
- Odds F. C. (2003). Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *52*(1), 1. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg301>.
- Oliveira, A., Ribeiro, H. G., Silva, A. C., Silva, M. D., Sousa, J. C., Rodrigues, C. F., Melo, L. D. R., Henriques, A. F., & Sillankorva, S. (2017). Synergistic Antimicrobial Interaction between Honey and Phage against *Escherichia coli* Biofilms. *Frontiers in microbiology*, *8*, 2407. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02407>.
- Olszak, T., Latka, A., Roszniowski, B., Valvano, M. A., & Drulis-Kawa, Z. (2017). Phage Life Cycles Behind Bacterial Biodiversity. *Current medicinal chemistry*, *24*(36), 3987–4001. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170413100136>.
- Orhan, Z., Doğaner, A., Küçük, B., Güner, E. T., & Aral, M. (2025). Investigation of antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from blood cultures between 2018 and 2022. *Firat medical journal*, *30*(2), 113–119.
- Otter, J. A., Yezli, S., Salkeld, J. A., & French, G. L. (2013). Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *American journal of infection control*, *41*(5 Suppl), S6–S11. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.12.004>.

- Öner, S. Z., Kaleli, İ., Demir, M., Mete, E., Çalışkan, A., & Ergin, Ç. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarının antibiyotik direnci ve yıllar içindeki değişimi. *ANKEM dergisi*, 36(1), 9–15. <https://doi.org/10.54962/ankemderg.1107814>.
- Pachori, P., Gothwal, R., & Gandhi, P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes & diseases*, 6(2), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>.
- Palleroni N. J. (2010). The *Pseudomonas* story. *Environmental microbiology*, 12(6), 1377–1383. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02041.x>.
- Palleroni NJ (1984) Genus 1. *Pseudomonas* Migula 1894, 237 AL (Nom. cons. Opin. 5, Jud. Comm. 1952, 237). In: Krieg NR, Holt JG (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 1. Baltimore: Williams and Wilkins, pp 141- 199.
- Palma, M., & Qi, B. (2024). Advancing phage therapy: A comprehensive review of the safety, efficacy, and future prospects for the targeted treatment of bacterial infections. *Infectious disease reports*, 16(6), 1127–1181. <https://doi.org/10.3390/idr16060092>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.013>.
- Paranos, P., Vourli, S., Pournaras, S., & Meletiadi, J. (2025). In vitro interactions between bacteriophages and antibacterial agents of various classes against multidrug-resistant metallo-β-lactamase-producing *pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 18(3), 343. <https://doi.org/10.3390/ph18030343>.
- Paterson, D. L., & Harris, P. N. (2016). Colistin resistance: a major breach in our last line of defence. *The Lancet. Infectious diseases*, 16(2), 132–133. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00463-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00463-6).
- Pelfrene, E., Willebrand, E., Cavaleiro Sanches, A., Sebris, Z., & Cavaleri, M. (2016). Bacteriophage therapy: a regulatory perspective. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 71(8), 2071–2074. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw083>.
- Peng, S. Y., You, R. I., Lai, M. J., Lin, N. T., Chen, L. K., & Chang, K. C. (2017). Highly potent antimicrobial modified peptides derived from the *Acinetobacter baumannii* phage endolysin LysAB2. *Scientific reports*, 7(1), 11477. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11832-7>.
- Phan, G., Picard, M., & Broutin, I. (2015). Focus on the outer membrane factor OprM, the forgotten player from efflux pumps assemblies. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 4(4), 544–566. <https://doi.org/10.3390/antibiotics4040544>.
- Piranaghl, H., Golmohammadzadeh, S., Soheili, V., Noghabi, Z. S., Memar, B., Jalali, S. M., Taherzadeh, Z., & Fazly Bazzaz, B. S. (2023). The potential therapeutic impact of a topical bacteriophage preparation in treating *Pseudomonas aeruginosa*-infected burn wounds in mice. *Heliyon*, 9(7), e18246. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18246>.
- Pirnay, J. P., Djebara, S., Steurs, G., Griselain, J., Cochez, C., De Soir, S., Glonti, T., Spiessens, A., Vanden Berghe, E., Green, S., Wagemans, J., Lood, C., Schrevels, E., Chanishvili, N., Kutateladze, M., de Jode, M., Ceysens, P. J., Draye, J. P., Verbeken, G., De Vos, D., ... Merabishvili, M. (2024). Personalized bacteriophage therapy outcomes for 100 consecutive cases: a multicentre, multinational, retrospective observational study. *Nature microbiology*, 9(6), 1434–1453. <https://doi.org/10.1038/s41564-024-01705-x>
- Price, L. B., Vogler, A., Pearson, T., Busch, J. D., Schupp, J. M., & Keim, P. (2003). In vitro selection and characterization of *Bacillus anthracis* mutants with high-level resistance to ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(7), 2362–2365. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.7.2362-2365.2003>
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., & Wu, M. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances

- and emerging therapeutics. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 199. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01056-1>.
- Rafiei, S., & Bouzari, M. (2024). Genomic analysis of vB_PaS-HSN4 bacteriophage and its antibacterial activity (in vivo and in vitro) against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn. *Scientific reports*, 14(1), 2007. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50916-5>.
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 13(6), 151–171. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.08.003>.
- Ramsey, M. M., & Whiteley, M. (2004). *Pseudomonas aeruginosa* attachment and biofilm development in dynamic environments. *Molecular microbiology*, 53(4), 1075–1087. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2004.04181.x>.
- Ratajczak, M., Kamińska, D., Nowak-Malczewska, D. M., Schneider, A., & Długaszewska, J. (2021). Relationship between antibiotic resistance, biofilm formation, genes coding virulence factors and source of origin of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM*, 28(2), 306–313. <https://doi.org/10.26444/aaem/122682>.
- Ratjen, F., Döring, G., & Nikolaizik, W. H. (2001). Effect of inhaled tobramycin on early *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in patients with cystic fibrosis. *Lancet (London, England)*, 358(9286), 983–984. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06124-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06124-4).
- Rehman, A., Patrick, W. M., & Lamont, I. L. (2019). Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. *Journal of medical microbiology*, 68(1), 1–10. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000873>.
- Reig, S., Le Gouellec, A., & Bleves, S. (2022). What is new in the anti-*Pseudomonas aeruginosa* clinical development pipeline since the 2017 WHO alert? *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 909731. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.909731>.
- Reuven, A. D., Katzenell, S., Mwaura, B. W., & Bliska, J. B. (2025). ExoS effector in *Pseudomonas aeruginosa* hyperactive type III secretion system mutant promotes enhanced plasma membrane rupture in neutrophils. *PLoS pathogens*, 21(4), e1013021. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1013021>
- Rezk, N., Abdelsattar, A. S., Elzoghby, D., Agwa, M. M., Abdelmoteleb, M., Aly, R. G., Fayez, M. S., Essam, K., Zaki, B. M., & El-Shibiny, A. (2022). Bacteriophage as a potential therapy to control antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection through topical application onto a full-thickness wound in a rat model. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 20(1), 133. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00409-1>.
- Rimon, A., Gelman, D., Yerushalmy, O., Copenhagen-Glazer, S., Katvan, E., Nir-Paz, R., & Hazan, R. (2022). Phage Therapy in Israel, Past, Present, and Future. *PHAGE (New Rochelle, N.Y.)*, 3(2), 85–94. <https://doi.org/10.1089/phage.2022.0010>.
- Rimon, A., Rakov, C., Lerer, V., Sheffer-Levi, S., Oren, S. A., Shlomov, T., Shasha, L., Lubin, R., Zubeidat, K., Jaber, N., Mujahed, M., Wilensky, A., Copenhagen-Glazer, S., Molho-Pessach, V., & Hazan, R. (2023). Topical phage therapy in a mouse model of *Cutibacterium acnes*-induced acne-like lesions. *Nature communications*, 14(1), 1005. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36694-8>.
- Rodriguez-Gonzalez, R. A., Leung, C. Y., Chan, B. K., Turner, P. E., & Weitz, J. S. (2020). Quantitative models of phage-antibiotic combination therapy. *mSystems*, 5(1), e00756-19. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00756-19>.
- Rossi, E., La Rosa, R., Bartell, J. A., Marvig, R. L., Haagensen, J. A. J., Sommer, L. M., Molin, S., & Johansen, H. K. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis. *Nature reviews. Microbiology*, 19(5), 331–342. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00477-5>

- Sader, H. S., Castanheira, M., Duncan, L. R., & Flamm, R. K. (2018a). 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. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.04.012>.
- Sader, H. S., Dale, G. E., Rhomberg, P. R., & Flamm, R. K. (2018a). Antimicrobial activity of murepavadin tested against clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from the United States, Europe, and China. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(7), e00311-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00311-18>.
- Sader, H. S., Farrell, D. J., Flamm, R. K., & Jones, R. N. (2014). Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalised with pneumonia in US and European hospitals: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009-2012. *International journal of antimicrobial agents*, 43(4), 328–334. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.01.007>.
- Sader, H. S., Flamm, R. K., Dale, G. E., Rhomberg, P. R., & Castanheira, M. (2018c). Murepavadin activity tested against contemporary (2016-17) clinical isolates of XDR Pseudomonas aeruginosa. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 73(9), 2400–2404. <https://doi.org/10.1093/jac/dky227>.
- Salih Doğan, H., Karaynir, A., Yilmaz, Ü. İ., Başgöz, B. B., Hoşbul, T., & Bozdoğan, B. (2024). Two novel phages, Klebsiella phage GADU21 and Escherichia phage GADU22, from the urine samples of patients with urinary tract infection. *Virus genes*, 60(2), 208–221. <https://doi.org/10.1007/s11262-024-02052-z>.
- Salih, H., Karaynir, A., Yalcin, M., Oryasin, E., Holyavkin, C., Basbulbul, G., & Bozdogan, B. (2022). Metagenomic analysis of wastewater phageome from a University Hospital in Turkey. *Archives of microbiology*, 204(6), 353. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02962-2>.
- Salmond, G. P. C., & Fineran, P. C. (2015). A century of the phage: Past, present and future. *Nature reviews Microbiology*, 13(12), 777–786. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3564>.
- Santamaría-Corral, G., Pagán, I., Aguilera-Correa, J. J., Esteban, J., & García-Quintanilla, M. (2024). A Novel Bacteriophage Infecting Multi-Drug- and Extended-Drug-Resistant Pseudomonas aeruginosa Strains. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 13(6), 523. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13060523>.
- Santamaría-Corral, G., Senhaji-Kacha, A., Broncano-Lavado, A., Esteban, J., & García-Quintanilla, M. (2023). Bacteriophage-Antibiotic Combination Therapy against Pseudomonas aeruginosa. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(7), 1089. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071089>.
- Santamarina-Fernández, R., Fuentes-Valverde, V., Silva-Rodríguez, A., García, P., Moscoso, M., & Bou, G. (2025). Pseudomonas aeruginosa Vaccine Development: Lessons, Challenges, and Future Innovations. *International journal of molecular sciences*, 26(5), 2012. <https://doi.org/10.3390/ijms26052012>.
- Santos, S. B., Carvalho, C. M., Sillankorva, S., Nicolau, A., Ferreira, E. C., & Azeredo, J. (2009). The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double-layer agar technique. *BMC microbiology*, 9, 148. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-148>.
- Sarkheili, M., Asghari-Sana, F., Asli, S. A., & Daghdari, S. G. (2025). Biofilm formation, pigment production, and virulence gene profiles in Pseudomonas aeruginosa isolates from respiratory and urinary tract infections. *Gene Reports*, 39, 102184. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2025.102184>.
- Scarascia, G., Yap, S. A., Kaksonen, A. H., & Hong, P. Y. (2018). Bacteriophage infectivity against Pseudomonas aeruginosa in saline conditions. *Frontiers in microbiology*, 9, 875. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00875>.
- Schooley, R. T., Biswas, B., Gill, J. J., Hernandez-Morales, A., & Loc-Carrillo, C. (2017). Development and use of personalized bacteriophage-based therapeutic cocktails to treat a patient with a disseminated resistant Acinetobacter baumannii infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(10), e00954-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.00954-17>.

- Schwartz, B., Klamer, K., Zimmerman, J., Kale-Pradhan, P. B., & Bhargava, A. (2024). Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in clinical settings: A review of resistance mechanisms and treatment strategies. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *13*(11), 975. <https://doi.org/10.3390/pathogens13110975>.
- Segundo-Arizmendi, N., Arellano-Maciél, D., Rivera-Ramírez, A., Piña-González, A. M., López-Leal, G., & Hernández-Baltazar, E. (2025). Bacteriophages: A challenge for antimicrobial therapy. *Microorganisms*, *13*(1), 100. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13010100>.
- Shah, S., Kline, E. G., Haidar, G., Squires, K. M., Pogue, J. M., McCreary, E. K., Ludwig, J., Clarke, L. G., Stellfox, M., Van Tyne, D., & Shields, R. K. (2025). Rates of Resistance to Ceftazidime-Avibactam and Ceftolozane-Tazobactam Among Patients Treated for Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia or Pneumonia. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *80*(1), 24–28. <https://doi.org/10.1093/cid/ciae332>
- Shariati, A., Arshadi, M., Khosrojerdi, M. A., Abedinzadeh, M., Ganjalishahi, M., Maleki, A., Heidary, M., & Khoshnood, S. (2022). The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Frontiers in public health*, *10*, 1025633. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1025633>
- Shein, A. M. S., Wannigama, D. L., Hurst, C., Monk, P. N., Amarasiri, M., Badavath, V. N., Phattharapornjaroen, P., Ditcham, W. G. F., Ounjai, P., Saethang, T., Chantaravisoot, N., Thuptimjang, W., Luk-In, S., Nilgate, S., Rirerm, U., Tanasatitchai, C., Kueakulpattana, N., Laowansiri, M., Liao, T., Kupwiwat, R., ... Abe, S. (2023). Novel intranasal phage-CaEDTA-ceftazidime/avibactam triple combination therapy demonstrates remarkable efficacy in treating *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *168*, 115793. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115793>.
- Shi, Z., Hong, X., Li, Z., Zhang, M., Zhou, J., Zhao, Z., Qiu, S., & Liu, G. (2024). Characterization of the novel broad-spectrum lytic phage Phage_Pae01 and its antibiofilm efficacy against *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in microbiology*, *15*, 1386830. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1386830>.
- Shooter, R. A., Walker, K. A., Williams, V. R., Horgan, G. M., Parker, M. T., Asheshov, E. H., & Bullimore, J. F. (1966). Faecal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital patients. Possible spread from patient to patient. *Lancet (London, England)*, *2*(7477), 1331–1334. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(66\)92082-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(66)92082-4).
- Silva, L. V., Galdino, A. C., Nunes, A. P., dos Santos, K. R., Moreira, B. M., Cacci, L. C., Sodré, C. L., Ziccardi, M., Branquinho, M. H., & Santos, A. L. (2014). Virulence attributes in Brazilian clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *International journal of medical microbiology: IJMM*, *304*(8), 990–1000. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.07.001>.
- Simmonds, P., Adriaenssens, E. M., Zerbini, F. M., Abrescia, N. G. A., Aiewsakun, P., Alfnas-Zerbini, P., Bao, Y., Barylski, J., Drosten, C., Duffy, S., Duprex, W. P., Dutilh, B. E., Elena, S. F., García, M. L., Junglen, S., Katzourakis, A., Koonin, E. V., Krupovic, M., Kuhn, J. H., Lambert, A. J., ... Vasilakis, N. (2023). Four principles to establish a universal virus taxonomy. *PLoS biology*, *21*(2), e3001922. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001922>.
- Soltani, B., Ahmadrabaji, R., & Kalantar-Neyestanaki, D. (2024). Critical resistance to carbapenem and aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa*: spread of bla_{NDM}/16S methylase armA harboring isolates with intrinsic resistance mechanisms in Kerman, Iran. *BMC infectious diseases*, *24*(1), 1188. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-10085-w>.
- Spernovasilis, N., Psychogiou, M., & Poulakou, G. (2021). Skin manifestations of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Current opinion in infectious diseases*, *34*(2), 72–79. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000717>.
- Stachurska, X., Roszak, M., Jabłońska, J., Mizielińska, M., & Nawrotek, P. (2021). Double-Layer Agar (DLA) Modifications for the First Step of the Phage-Antibiotic Synergy (PAS) Identification. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, *10*(11), 1306. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111306>.

- Stanier, R. Y., Palleroni, N. J., & Doudoroff, M. (1966). The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. *Journal of general microbiology*, 43(2), 159–271. <https://doi.org/10.1099/00221287-43-2-159>.
- Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warriner, P., Hickey, M. J., Brinkman, F. S., Hufnagle, W. O., Kowalik, D. J., Lagrou, M., Garber, R. L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L. L., Coulter, S. N., Folger, K. R., Kas, A., Larbig, K., ... Olson, M. V. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799), 959–964. <https://doi.org/10.1038/35023079>.
- Sulakvelidze, A., Alavidze, Z., & Morris, J. G., Jr (2001). Bacteriophage therapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(3), 649–659. <https://doi.org/10.1128/AAC.45.3.649-659.2001>.
- Summer E. J. (2009). Preparation of a phage DNA fragment library for whole genome shotgun sequencing. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 502, 27–46. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-565-1_4.
- Taconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavalieri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U., ... WHO pathogens priority list working group (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. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3).
- Tamma, P. D., Aitken, S. L., Bonomo, R. A., Mathers, A. J., van Duin, D., & Clancy, C. J. (2022). Infectious diseases society of America 2022 guidance on the treatment of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacterales (ESBL-E), carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE), and *Pseudomonas aeruginosa* with difficult-to-treat resistance (DTR-P. aeruginosa). *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 75(2), 187–212. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac268>.
- Taudien, S., Leszczynski, W., Mayer, T., Loderstädt, U., Bader, O., Kaase, M., & Scheithauer, S. (2023). Misidentification as *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water supply samples. *The Journal of hospital infection*, 133, 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2022.12.013>.
- Thabit, A. K., Alghamdi, A. M., Miaji, M. Y., Alharbi, F. S., Jawah, A. F., Alturki, F., Hosin, N., Bazuqamah, M., Almutairi, M. S., Alhamed, H., Elhendawy, A., Atallah, D., Humadi, A. A., Alfifi, K. A., Alfadel, K., Eljaaly, K., Elfaky, M. A., & Saudi AntiMicrobial Surveillance (SAMS) study group (2024). Antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* in Saudi Arabia: a national antimicrobial resistance surveillance study. *Frontiers in public health*, 12, 1436648. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1436648>.
- Tkhalishvili, T., Winkler, T., Müller, M., Perka, C., & Trampuz, A. (2019). Bacteriophages as adjuvant to antibiotics for the treatment of periprosthetic joint infection caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(1), e00924-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00924-19>.
- Torres-Barceló, C., Gurney, J., Gougat-Barberá, C., Vasse, M., & Hochberg, M. E. (2018). Transient negative effects of antibiotics on phages do not jeopardise the advantages of combination therapies. *FEMS microbiology ecology*, 94(8), 10.1093/femsec/fiy107. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy107>
- Treviño González, J. L., Reyes Suárez, L. L., & Hernández de León, J. E. (2021). Malignant otitis externa: An updated review. *American journal of otolaryngology*, 42(2), 102894. <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2020.102894>.
- Tsai, Y. C., Lee, Y. P., Lin, N. T., Yang, H. H., Teh, S. H., & Lin, L. C. (2023). Therapeutic effect and anti-biofilm ability assessment of a novel phage, phiPA1-3, against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Virus research*, 335, 199178. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2023.199178>.
- Tsuji, B. T., Pogue, J. M., Zavascki, A. P., Paul, M., Daikos, G. L., Forrest, A., Giacobbe, D. R., Viscoli, C., Giamarellou, H., Karaiskos, I., Kaye, D., Mouton, J. W., Tam, V. H., Thamlikitkul, V., Wunderink, R. G., Li, J., Nation, R. L., & Kaye, K. S. (2019). International consensus guidelines for the optimal use of the polymyxins: Endorsed by the American College of Clinical Pharmacy (ACCP), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), Infectious Diseases Society of America (IDSA),

International Society for Anti-infective Pharmacology (ISAP), Society of Critical Care Medicine (SCCM), and Society of Infectious Diseases Pharmacists (SIDP). *Pharmacotherapy*, 39(1), 10–39. <https://doi.org/10.1002/phar.2209>.

Turner, D., Shkoporov, A. N., Lood, C., Millard, A. D., Dutilh, B. E., Alfenas-Zerbini, P., van Zyl, L. J., Aziz, R. K., Oksanen, H. M., Poranen, M. M., Kropinski, A. M., Barylski, J., Brister, J. R., Chanisvili, N., Edwards, R. A., Enault, F., Gillis, A., Knezevic, P., Krupovic, M., Kurtböke, I., ... Adriaenssens, E. M. (2023). Abolishment of morphology-based taxa and change to binomial species names: 2022 taxonomy update of the ICTV bacterial viruses subcommittee. *Archives of virology*, 168(2), 74. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05694-2>.

Twort F. W. (1936). Further investigations on the nature of ultra-microscopic viruses and their Cultivation. *The Journal of hygiene*, 36(2), 204–235. <https://doi.org/10.1017/s0022172400043606>

Uchiyama, J., Shigehisa, R., Nasukawa, T., Mizukami, K., Takemura-Uchiyama, I., Ujihara, T., Murakami, H., Imanishi, I., Nishifuji, K., Sakaguchi, M., & Matsuzaki, S. (2018). Piperacillin and ceftazidime produce the strongest synergistic phage-antibiotic effect in *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives of virology*, 163(7), 1941–1948. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3811-0>.

Uğur, M., & Genç, S. (2019). Yoğun bakım ünitelerinden izole edilen *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının üç yıllık direnç profili. *Turkish journal of intensive care*, 17(3), 130–137. <https://doi.org/10.4274/tybd.galenos.2018.94103>.

Ullah, R., Amir, M., Anjum, S., Ur Rehman, M., Noorul Hasan, T., Sajjad Naqvi, S., Faryal, R., Ali Khan, H., Khadija, B., Arshad, N., Rashid, Z., Yousaf, M., Ammad, M., & Mazhar, K. (2023). Presence of T3SS (exoS, exoT, exoU and exoY), susceptibility pattern and MIC of MDR-*Pseudomonas aeruginosa* from burn wounds. *Journal of infection in developing countries*, 17(8), 1130–1137. <https://doi.org/10.3855/jidc.17580>.

Uludağ Altun, H., & Ak, S. (2012). İkinci basamak bir hastanede izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotik duyarlılıkları. *Ege tıp dergisi*, 51(4), 249–252.

van de Beek, D., Brouwer, M., Hasbun, R., Koedel, U., Whitney, C. G., & Wijdicks, E. (2016). Community-acquired bacterial meningitis. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16074. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.74>.

van Helvoort T. (1992). Bacteriological and physiological research styles in the early controversy on the nature of the bacteriophage phenomenon. *Medical history*, 36(3), 243–270. <https://doi.org/10.1017/s0025727300055265>.

van Hoek M. L. (2014). Antimicrobial peptides in reptiles. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 7(6), 723–753. <https://doi.org/10.3390/ph7060723>.

Van Twest, R., & Kropinski, A. M. (2009). Bacteriophage enrichment from water and soil. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 501, 15–21. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-164-6_2.

Vardar-Ünlü, G., Ünlü, M., Bakıcı, M. Z., & Şahin, A. (2003). Klinik örneklerden soyutlanan aerop bakterilerin peksiganana in vitro duyarlılığı. *İnfeksiyon dergisi*, 17, 61–64.

Velkov, T., Roberts, K. D., Nation, R. L., Thompson, P. E., & Li, J. (2013). Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future microbiology*, 8(6), 711–724. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.39>.

Vincent, J. L., Sakr, Y., Singer, M., Martin-Loeches, I., Machado, F. R., Marshall, J. C., Finfer, S., Pelosi, P., Brazzi, L., Aditiani, D., Timsit, J. F., Du, B., Wittebole, X., Máca, J., Kannan, S., Gorordo-Delsol, L. A., De Waele, J. J., Mehta, Y., Bonten, M. J. M., Khanna, A. K., ... EPIC III Investigators (2020). Prevalence and outcomes of infection among patients in intensive care units in 2017. *JAMA*, 323(15), 1478–1487. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2717>.

- Wach, A., Dembowski, K., & Dale, G. E. (2018). Pharmacokinetics and safety of intravenous murepavadin infusion in healthy adult subjects administered single and multiple ascending doses. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(4), e02355-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.02355-17>.
- Walker, J., & Moore, G. (2015). *Pseudomonas aeruginosa* in hospital water systems: biofilms, guidelines, and practicalities. *The Journal of hospital infection*, 89(4), 324–327. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2014.11.019>.
- Wang, X., Gao, K., Pan, B., Wang, B., Song, Y., & Guo, W. (2025). The virulence trait and genotype distribution amongst the *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *BMC microbiology*, 25(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-03754-6>.
- Wang, X., Tang, J., Dang, W., Xie, Z., Zhang, F., Hao, X., Sun, S., Liu, X., Luo, Y., Li, M., Gu, Y., Wang, Y., Chen, Q., Shen, X., & Xu, L. (2023). Isolation and characterization of three *Pseudomonas aeruginosa* viruses with therapeutic potential. *Microbiology spectrum*, 11(3), e0463622. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04636-22>.
- Wannasrichan, W., Htoo, H. H., Suwansaeng, R., Pogliano, J., Nonejuie, P., & Chaikerasitak, V. (2022). Phage-resistant *Pseudomonas aeruginosa* against a novel lytic phage JJ01 exhibits hypersensitivity to colistin and reduces biofilm production. *Frontiers in microbiology*, 13, 1004733. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1004733>.
- Watanabe, M., Iyobe, S., Inoue, M., & Mitsuhashi, S. (1991). Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 35(1), 147–151. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.1.147>.
- Webster, T. A., Sismaet, H. J., Conte, J. L., Chan, I. P., & Goluch, E. D. (2014). Electrochemical detection of *Pseudomonas aeruginosa* in human fluid samples via pyocyanin. *Biosensors & bioelectronics*, 60, 265–270. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.04.028>.
- Wei, X., Gao, J., Zhou, D., Xu, C., Chen, P., Chen, S., Zhang, Y., Liu, X., Li, G., Zhu, G., Liu, H., Li, J., Geng, B., Gao, L., Cheng, Z., Lamont, I. L., Pletzer, D., Jin, Y., Jin, S., & Wu, W. (2024a). Murepavadin promotes the killing efficacies of aminoglycoside antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* by enhancing membrane potential. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 68(4), e0153923. <https://doi.org/10.1128/aac.01539-23>.
- Wei, X., Zhou, D., Xu, C., Chen, P., Chen, S., Cheng, Z., Jin, Y., Jin, S., & Wu, W. (2024b). Murepavadin enhances the killing efficacy of ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* by inhibiting drug efflux. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 13(9), 810. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13090810>.
- Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J., Edwards, J. R., & Sievert, D. M. (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infection control and hospital epidemiology*, 37(11), 1288–1301. <https://doi.org/10.1017/ice.2016.174>
- Wilkinson, R. C., Thomas, N. E., Bhatti, A., Burton, M. R., Joyce, N., & Jenkins, R. E. (2025). Phage-encoded antimicrobial peptide gp28 demonstrates ll-37-like antimicrobial activity against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *PHAGE (New Rochelle, N.Y.)*, 6(1), 12–19. <https://doi.org/10.1089/phage.2024.0009>.
- Wittebole, X., De Roock, S., & Opal, S. M. (2014). A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens. *Virulence*, 5(1), 226–235. <https://doi.org/10.4161/viru.25991>.
- Wojciechowska M. (2025). Endolysins and membrane-active peptides: innovative engineering strategies against gram-negative bacteria. *Frontiers in microbiology*, 16, 1603380. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1603380>.

- Xie, Y., Wahab, L., & Gill, J. J. (2018). Development and validation of a microtiter plate-based assay for determination of bacteriophage host range and virulence. *Viruses*, 10(4), 189. <https://doi.org/10.3390/v10040189>.
- Xu, B., Wang, L., Yang, C., Yan, R., Zhang, P., Jin, M., Du, H., & Wang, Y. (2025). Specifically targeted antimicrobial peptides synergize with bacterial-entrapping peptide against systemic MRSA infections. *Journal of advanced research*, 67, 301–315. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.01.023>.
- Xuan, G., Liu, X., Wang, Y., Lin, H., Jiang, X., & Wang, J. (2024). Isolation, characterization, and application of a novel *Pseudomonas fluorescens* phage vB_PF_Y1-MI in contaminated milk. *Molecular genetics and genomics : MGG*, 299(1), 97. <https://doi.org/10.1007/s00438-024-02179-6>.
- Yang, L., Zhang, T., Li, L., Zheng, C., Tan, D., Wu, N., Wang, M., & Zhu, T. (2022). Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage L5 which requires type IV pili for infection. *Frontiers in microbiology*, 13, 907958. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.907958>.
- Yazdi, M., Bouzari, M., & Ghaemi, E. A. (2018). Isolation and Characterization of a Lytic Bacteriophage (vB_PmiS-TH) and Its Application in Combination with Ampicillin against Planktonic and Biofilm Forms of *Proteus mirabilis* Isolated from Urinary Tract Infection. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 28(1), 37–46. <https://doi.org/10.1159/000487137>.
- Yildirim, Z., Sakin, T., Akçelik, M., & Akçelik, N. (2019). Characterization of SE-P3, P16, P37, and P47 bacteriophages infecting *Salmonella enteritidis*. *Journal of basic microbiology*, 59(10), 1049–1062. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900102>.
- Yilmaz, U., Coşkun, A. G., Özel, Y., Ünlü, M., & Vardar-Ünlü, G. (2024). Synergistic interactions of essential oil components with antibiotics against multidrug-resistant *Corynebacterium striatum*. *Journal of applied microbiology*, 135(4), lxae090. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxae090>.
- Yin, Y., Wang, X., Mou, Z., Ren, H., Zhang, C., Zou, L., Liu, H., Liu, W., & Liu, Z. (2022). Characterization and genome analysis of *Pseudomonas aeruginosa* phage vB_PaeP_Lx18 and the antibacterial activity of its lysozyme. *Archives of virology*, 167(9), 1805–1817. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05472-0>.
- Zalewska-Piątek B. (2023). Phage therapy-challenges, opportunities and future prospects. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16(12), 1638. <https://doi.org/10.3390/ph16121638>.
- Zasloff M. (1987). Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(15), 5449–5453. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.15.5449>.
- Zasloff M. (2002). Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature*, 415(6870), 389–395. <https://doi.org/10.1038/415389a>.
- Zeng, M., Xia, J., Zong, Z., Shi, Y., Ni, Y., Hu, F., Chen, Y., Zhuo, C., Hu, B., Lv, X., Li, J., Liu, Z., Zhang, J., Yang, W., Yang, F., Yang, Q., Zhou, H., Li, X., Wang, J., Li, Y., ... Infectious Diseases Society of Chinese Medical Education Association (2023). Guidelines for the diagnosis, treatment, prevention and control of infections caused by carbapenem-resistant gram-negative bacilli. *Journal of microbiology, immunology, and infection*, 56(4), 653–671. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2023.01.017>.
- Zhanel, G. G., Golden, A. R., Zelenitsky, S., Wiebe, K., Lawrence, C. K., Adam, H. J., Idowu, T., Domalaon, R., Schweizer, F., Zhanel, M. A., Lagacé-Wiens, P. R. S., Walkty, A. J., Noreddin, A., Lynch Iii, J. P., & Karlowsky, J. A. (2019). Cefiderocol: A siderophore cephalosporin with activity against carbapenem-resistant and multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Drugs*, 79(3), 271–289. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-1055-2>.
- Zhanel, G. G., Simor, A. E., Vercaigne, L., Mandell, L., & Canadian Carbapenem Discussion Group (1998). Imipenem and meropenem: Comparison of in vitro activity, pharmacokinetics, clinical trials and adverse effects. *The Canadian journal of infectious diseases = Journal canadien des maladies infectieuses*, 9(4), 215–228. <https://doi.org/10.1155/1998/831425>.

Zhang, H., Zhang, X., Liang, S., Wang, J., Zhu, Y., Zhang, W., Liu, S., Schwarz, S., & Xie, F. (2023). Bactericidal synergism between phage endolysin Ply2660 and cathelicidin LL-37 against vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* biofilms. *NPJ biofilms and microbiomes*, 9(1), 16. <https://doi.org/10.1038/s41522-023-00385-5>.

Zhi, C., Lv, L., Yu, L. F., Doi, Y., & Liu, J. H. (2016). Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *The Lancet. Infectious diseases*, 16(3), 292–293. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00063-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00063-3).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Umut YILMAZ
Eğitim	
Lise	Yeni Biga Lisesi (2010-2014)
Lisans	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2014-2019)
Yüksek Lisans	Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2019-2021)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce	Orta
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Kuruluş Adı	Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti

EKLER

EK 1. Etik Kurul Belgesi



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Litik Bakteriyofajların İzolasyonu Karakterizasyonu ve Çoklu İlaç Dirençli Pseudomonas Aeruginosa'ya Karşı Çeşitli Antimikrobiyal Ajanlarla Sinerjik Etkileşiminin In Vitro Araştırılması
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu
	KURUL ADRESİ	Balıkesir Üniversitesi Çalışma Yerleşkesi 10145 Balıkesir
	TELEFON	(0266) 612 14 18
	FAKS	(0 266) 612 14 17
	E-POSTA	sb.etikkurulu@balikesir.edu.tr
KARAR BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÖNLÜ
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Mikrobiyoloji
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	BAUN Tıp Fakültesi
	VARSA İDARİ SORUMLU ÜNVANI, ADI-SOYADI	
	DESTEKLEYİCİ	
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ (TÜBİTAK vb kaynaklardan destek alanlar için) ÜNVANI, ADI-SOYADI	
	YARDIMCI ARAŞTIRMACI VE BÖLÜMÜ	Prof. Dr. Mehmet ÖNLÜ BAUN Tıp Fakültesi- Tıbbi Mikrobiyoloji Vet. Hek. Unut YILMAZ BAUN Sağlık Bilimleri Enstitüsü- Tıbbi Mikrobiyoloji
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Retrospektif
	Karar No: 2025/35	Tarih: 28/01/2025
	Başvuru dosyası ile ilgili belgeler; araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve UYGUN BULUNMUŞ olup usulüne uygun gerçekleştirilmesinde bilimsel ve etik sakınca OLMADIĞINA oy birliğiyle karar verilmiştir. Araştırmanın tüm süreçlerinde ilgili kurum, kuruluş ve kişilerden gereken izinlerin alınmasından araştırmacılar sorumludur.	

ETİK KURUL ÜYELERİ

Ünvanı	Adı-Soyadı	Görevi	Araştırma ile İlişkisi	
			VAR	YOK
Prof. Dr.	Sibel ERGÜN	Başkan		X
Prof. Dr.	Özkan IŞIK	Üye		X
Doç. Dr.	Hilmi BOLAT	Üye		X
Doç. Dr.	Selda YÖRÜK	Üye		X
Doç. Dr.	Sevde AKSU	Üye		X
Dr. Öğr. Üyesi	Emrah ÖZDEMİR	Üye		X
Dr. Öğr. Üyesi	Mehmet ÖZÖİÇLİ	Üye		X
Dr. Öğr. Üyesi	Oğuzhan KORKUT	Üye		X



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...

