

Mikrobiyal Biyofilm Kontrolünde Lipozom Bazlı İlaç Taşıyıcı Sistemler

Liposome Based Drug Delivery Systems for Control of Microbial Biofilms

¹Aslınur ALBAYRAK^a, ²Füsun ACARTÜRK^b

^aGazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Klinik Eczacılık ABD, Ankara, TÜRKİYE

^bGazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji ABD, Ankara, TÜRKİYE

ÖZET Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri jeli bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanmaktadır. Biyofilm varlığı geleneksel antimikrobiyallerin kullanımı için büyük zorluklar doğurmaktadır. Biyofilme ilgili klinik enfeksiyonlara kronik otitis media, tekrarlayan tonsilit, kronik yaralar, kistik fibrozis akciğer enfeksiyonları, üriner sistem enfeksiyonları, kronik rinosinüzitler, diş çürükleri ve alet kaynaklı enfeksiyonlar örnek verilebilir. Bakteri türleri tüm mikroorganizmalar arasında diğerlerinden daha fazla biyofilm üretme kapasitesine sahiptir. Çoğu tür, hücre dışı yapılarıyla mikropları yaşam ortamlarında korumaktadır ve olumsuz koşullarda bile mükemmel kolonizasyon yeteneğine sahiptir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, nöropeni, parenteral nutrisyon, kalıcı kateterler, immünsupresyon, cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi mantar enfeksiyonları için en önemli faktörler arasındadır. Biyofilmlerin ortadan kaldırılmasındaki ana problem, şu anda klinikte kullanılan ilaçlara karşı oluşan dirençtir. Antibiyotiğin biyofilm içine yavaş ve düşük penetrasyonu, biyofilm içinde değişen kimyasal mikroçevre ve eflüks pompalarının ekspresyonu direnç nedenleri arasındadır. Bu sebeple antibiyofilm aktivitesi olan yeni bileşiklerin ve ilaçların araştırılması zorunlu hâle gelmiştir. Lipozomlar, birçok alanda kullanılan önemli ilaç taşıyıcı sistemlerden biridir. Lipozomlar enkapsüllemiş ilacın biyoyararlılığını, biyoyoumluluğunu ve güvenlik profilini artırmaktadır. Bu bağlamda, lipozomlar biyofilmlerin neden olduğu çok sayıda mikrobiyal enfeksiyonu tedavi etmede ve ilaçların hedefe ulaştırılmasında güvenli platformlar sağlamaktadır. Bu derlemede, mikrobiyal biyofilmlerin enfeksiyon hastalıklarına olan etkisi ve lipozom bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerle biyofilmlerin kontrolü ve tedavisi özetlenmiştir.

ABSTRACT Biofilms are defined as a group of microorganisms that live in a gelled layer that they produce by adhering to a surface. The presence of biofilm poses great challenges for the use of conventional antimicrobials. Biofilm-related clinical infections include chronic otitis media, recurrent tonsillitis, chronic wounds, cystic fibrosis lung infections, urinary tract infections, chronic rhinosinusitis, dental caries and instrument-borne infections. Bacterial species are capable of producing more biofilm among all microorganisms than others. Most species, with their extracellular structures, protect microbes in their habitats and have excellent colonization ability even in adverse conditions. Use of broad spectrum antibiotics, neutropenia, parenteral nutrition, permanent catheters, immunosuppression, surgery, chemotherapy and radiotherapy are among the most important factors for fungal infections. The main problem in eliminating biofilms is the resistance to drugs currently used in the clinic. The slow and low penetration of the antibiotic into the biofilm, the chemical microenvironment changing in the biofilm and the expression of efflux pumps are among the causes of resistance. Therefore, it has become necessary to search for novel compounds and drugs with anti-biofilm activity. Liposomes are one of the important drug delivery systems used in many areas. Liposomes increase the bioavailability, biocompatibility and safety profile of the encapsulated drug. In this regard, liposomes are safe in treating a large number of microbial infections caused by biofilms and delivering drugs to the target. In this review, the effect of microbial biofilms on infectious diseases and the control and treatment of biofilms with liposome based drug delivery systems are summarized.

Anahtar Kelimeler: Lipozom; biyofilmler

Keywords: Liposom; biofilms

Biyofilmler, hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %80'ine neden olan önemli bir sağlık sorunudur. Biyofilmler, bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri jeli bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluş-

turduğu topluluk olarak tanımlanmaktadır. Biyofilmler, doğal olarak antibiyotiklere ve diğer antimikrobiyal tedavi biçimlerine daha dirençlidir ve bu da klinikte tekrarlayan enfeksiyonlara neden olur.¹

Correspondence: Aslınur ALBAYRAK

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Klinik Eczacılık ABD, Ankara, TÜRKİYE/TURKEY

E-mail: a.albayrak007@gmail.com

Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri.

Received: 27 Aug 2019

Received in revised form: 21 Oct 2019

Accepted: 30 Oct 2019

Available online: 10 Nov 2019

2630-5569 / Copyright © 2020 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Tablo 1’de biyofilm ilişkili klinik enfeksiyonlar görülmektedir.²

Mikrobiyal biyofilmlerin ortamda ve hatta cansız yüzeylerde, diğer kommensal türlerle birlikte bulunması çok yaygındır. Bakteriler ve mantarlar, her ikisi de yüzeyler üzerinde biyofilm oluşturabilirler, ancak oluşumlarının seyri sırasında ortaya çıkan bazı faktörler birbirinden farklıdır.³

Katı maddeye bakteri kolonizasyonu, fiziko-kimyasal ve biyolojik faktörleri içeren çok aşamalı bir süreçtir. Biyofilm oluşumu 5 aşamalı bir süreç olarak tanımlanabilir:⁴

1. Planktonik mikroorganizmaların katı yüzeylere geri dönüşümlü tutunması;
2. Bakteriler tarafından ekstraselüler polimerlerin (EPS) üretilmesiyle geri dönüşümsüz tutunması;
3. Biyofilm yapısının erken gelişimi;
4. Mikrokolonilerin olgun biyofilm hâlinde gelişmesi;
5. Hücrelerin biyofilmden çevreye yayılması.

Bu derlemede, mikrobiyal biyofilmlerin enfeksiyon hastalıklarına olan etkisi ve lipozom bazlı ilaç taşıyıcı sistemlerine odaklanarak biyofilmlerin kontrolü ve tedavisi anlatılmaktadır.

TABLO 1: Biyofilm ilişkili klinik enfeksiyonlar.²

Kronik otitis media
Tekrarlayan tonsilit
Kronik yaralar
Kistik fibrozis akciğer enfeksiyonları
Üriner sistem enfeksiyonları
Kronik rinosinüzitler
Diş çürükleri
Periodontit
Alet kaynaklı enfeksiyonlar
İdrar sondaları
Mekanik kalp kapakçıkları
Prostetik eklemler
Kontakt lens
Rahim içi cihazlar
Kalp pilleri
Endotrakeal tüpler
Ses protezleri
Timpanostomi tüpleri

BAKTERİYEL BİYOFİMLER

Bakteri türleri tüm mikroorganizmalar arasında koşulların elverişli olması şartıyla, diğerlerinden daha fazla biyofilm üretme kapasitesine sahiptir. Çoğu tür, hücre dışı yapılarıyla mikropları yaşam ortamlarında korumaktadır ve olumsuz koşullarda bile her türlü yüzeyde mükemmel kolonizasyon yeteneğine sahiptir.¹

Cihaz ilişkili enfeksiyonları, morbidite ve mortalite nedeni ile anlamak önemlidir. Sıklıkla uzun süreli antibiyotik tedavisi ve cerrahi müdahalelerle yönetildiği için hastaların hastaneye yatış süresi artmaktadır.⁵ Cihaz ilişkili enfeksiyonlarda, en sık görülen mikroorganizmalar stafilkoklardır (özellikle *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*), daha sonra *Pseudomonas aeruginosa*’dır. İn-vaziv tıbbi müdahale, kemoterapi veya önceden var olan bir hastalık durumu nedeni ile, konak canlıya fırsatçı mikroorganizma olarak bulaşmaktadır.⁶

Prostetik kapak endokarditleri, mikrobiyoloji ve enfeksiyon metoduna göre erken, gecikmiş ve geç tip olmak üzere 3 tiptir. Erken evre; stafilkok, koagülaz negatif stafilkok, metisilin dirençli *Staphylococcus epidermidis*’ten kaynaklanır. Geç tip, erken tiptekilerin yanı sıra HACEK (*Haemophilus parainfluenzae*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Aggregatibacter aphrophilus*, *Cardiobacterium hominis*, *Eikenella corrodens*, *Kingella kingae*) kaynaklıdır.⁷

Kistik fibrozis, disfonksiyonel elektrolit sekresyonu ve emilimi ile sonuçlanan kistik fibrozis transmembran iletkenlik düzenleyici genindeki mutasyonlardan kaynaklanan otozomal resesif bir hastalıktır. Akciğerlerde mukusun viskoelastisitesinin artması ve epitelyal örtü sıvısının daha tuzlu olmasıyla birlikte enfeksiyon ajanlarının kolay yerleşmesine neden olur. Solunum mukozasını daha viskoz hâle getiren ve mukosilyer klirensi bozan havayolu yüzey sıvısının hidrasyonunun azaltılması ve havayolu tıkanıklığına yol açan havayolu iltihabı, nihayetinde solunum yetmezliğine yol açar. Kistik fibrozis hastalarının alt solunum yollarının pulmoner kolonizasyonu, genellikle *S. aureus* ve *Haemophilus influenzae* ile bebeklik veya erken çocukluk döneminde başlar. Bununla birlikte, ergenlik ve erken erişkinlik dönemlerinde çoğu kistik fibrozis hastası, *P. aeruginosa* ile kolonize hâle

gelmiştir.⁸ Bu mikroorganizmaların biyofilmleri nedeni ile kistik fibrozisli hastalarda kronik enfeksiyonlar meydana gelmektedir.

Kronik yaralardaki biyofilm rezervuarları, gecikmiş yara iyileşmesi ve sistemik enfeksiyonların ana nedenidir. *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve β -hemolitik streptokoklar ve buna ek olarak sporsuz gram-negatif anaerobik bakteriler sık kültür edilir.⁹

Escherichia coli, insanlarda idrar yolu enfeksiyonunda en sık görülen etkenlerden biridir ve hastanede yatan hastalarda gram-negatif bakterilerden kaynaklanan bakteriyeminin en yaygın nedenlerinden biridir.¹⁰ Diğer bakteriler *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* türleri, *Enterobacter* türleri, B grubu Streptokoklar ve *Staphylococcus saprophyticus* 'tur.¹¹ Biyofilm gelişimi, genitouriner sistemdeki bakterilerin uzun süreli varlığından sorumlu bir virülans belirleyicisi olarak düşünülebilir.¹² Üriner kateterler ve diğer herhangi bir prostetik cihaz, doğal bariyerleri yok ederek ve biyofilm oluşumu için bir substrat olarak hizmet eder. Araştırmalar, biyofilm hücrelerinin, antimikrobiyal ajanlara planktonik bakteriyel hücrelerden daha dirençli olduğunu göstermiştir.¹³ Üriner kateter, ağır kolonize perineyi steril mesane ile birleştirir ve hem dış hem de iç yüzeyleri boyunca bakteriyel giriş için bir yol sağlar.¹⁴ İdrar genellikle mesanede veya kateterin kendisinde toplanır ve idrar durması bakteriyel çoğalmayı teşvik eder.¹⁵

Gastrik enfeksiyonlarla ilişkili bulunan *Helicobacter pylori* insan mide mukozasında biyofilm oluşturabilmektedir.¹⁶ Bu bakteriyi yok etmek için mevcut tedavi karmaşık ve maliyetli olup, ciddi yan etkileri vardır. *H. pylori* 'de biyofilm oluşturma yeteneğinin değerlendirilmesi, antibiyotik direncinin engellenmesi ve kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır.¹⁷

Diş çürüklerinin en önemli patojenlerinden biri olan *Streptococcus mutans*, katı bir yüzeye yapışmasıyla, ağız boşluğunda bakteriyel biyofilm oluşturabilir. *S. mutans* 'ların ağız boşluğunu kolonize etmesini sağlayan ek özellikler, asidik bir ortamda hayatta kalma ve bu ekosistemi kolonize eden diğer mikroorganizmalar ile seçici etkileşim yeteneğidir.¹⁸

Kronik otitis media, sıklıkla çocuklarda seyreden orta kulak iltihabıdır. Kronik süperatif otitis media düşük sosyoekonomik sınıflarda daha sık görülür, muhtemelen akut otitis media tedavisinde gecikme, daha kötü hijyen koşulları, sigara içiminin artması veya daha kötü beslenme ile ilişkilidir.¹⁹ *P. aeruginosa* ve *S. aureus*, vaka serilerinde en sık izole edilen aerobik bakterilerdir.²⁰ Biyofilm varlığı, kronik otitis medianın çoklu patofizyolojik yönlerini açıklamaya yardımcıdır.²¹

Gardnerella vaginalis 'in, bakteriyel vajinozis patogeneğinde anahtar rol oynamaktadır ve biyofilm gelişiminin, yerleşik anaerobik vajinal floranın kademeli şekilde aşırı artmasına ek olarak, bu sürecin önemli bir bileşeni olabileceğini düşündürmektedir.²²

MANTARLARDA BİYOFİLM

Mantarların neden olduğu enfeksiyonlar, insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımı, nötropeni, parenteral nutrisyon, kalıcı kateterler, immünsupresyon ve cerrahi, kemoterapi ve radyoterapiye bağlı mukozal bariyerlerin bozulması bu enfeksiyonlar için en önemli faktörler arasındadır.²³

Mantarlar arasında *Candida* türleri, implante edilmiş medikal cihazların en yaygın kolonileridir.²⁴ Oral kandidiyazis hem yumuşak hem de sert dokunun en iyi tanımlanmış fungal biyofilm enfeksiyonlarından biri olup, konakçı bileşenleri ve bakterilerle birlikte karmaşık biyofilmler oluşturur.²⁵ Biyofilm yapısında farklı *Candida* türleri arasındaki sinerjik etkileşimler bir patojenik mekanizma olarak önerilmiştir. *Candida glabrata* ve *Candida albicans* 'ın, şiddetli inflamasyonu olan hastalardan birlikte izole edildiği bildirilmektedir. *C. glabrata* 'nın hifleri bulunmamaktadır; bu nedenle de nispeten yapısal olarak zayıf ve kararsız biyofilmler oluşturmaktadır, konakçıya giriş yapmak için yapısal bir iskele olarak *C. albicans* 'ı kullanmaktadır.²⁶

Baş-boyun ile ilgili prostetik cihazların da mantar biyofilmlerinin büyümesini desteklediği gösterilmiştir. Örneğin, yüz protezinin *Candida* türlerini içeren bir biyofilm kaynağı olduğu bildirilmiştir.²⁷

Pneumocystis cinsinin türleri, immün sistemi baskılanmış kişilerde, özellikle de insan immün yet-

mezlik virüsü [human immunodeficiency virus (HIV)] enfeksiyonu olanlarda, ölümcül pnömoniye yol açan enfeksiyonların ana nedeni olarak bilinmektedir.²⁸ *Cryptococcus* önemli bir sistemik mikozdur ve HIV pozitif bireylerde üçüncü en yaygın hastalıktır.²⁹ Yılda 1 milyon *cryptococcus* vakasının dünya çapında HIV ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir.³⁰ *Candida neoformans*, ventriküler şantlar, periton diyalizi ve kalp kapakçıkları dâhil olmak üzere çeşitli prostetik cihazlarda biyofilm oluşturur.³¹

Candida türlerinin gastrointestinal (GI) kanalı kolonizasyonu normal sağlıklı erişkinlerde %30-80'dir.³² Kronik kolonizasyon, immün sistemi baskılanmış bireylerde sistemik kandidiyaza yol açabilen GI kandidiyazise yol açabilir.³³

Sonuç olarak mantar enfeksiyonları karmaşıktır ve tedaviye zayıf yanıt verir, bu yüzden biyofilm kontrolü önemlidir.

BIYOFİMLERE ANTİMİKROBİYAL DİRENCİN NEDENLERİ

Bakteriyel biyofilmlerde konakçı immün yanıtları, planktonik benzerlerine kıyasla çok etkili değildir.³⁴ Başlangıçta tamamen hücre dışı olarak kabul edilen birçok bakteriyel patojen, konakçının doğal immüniyetinden bakterinin kaçmasına neden olan adaptasyon süreciyle biyofilm oluşturarak konakçının içinde kalmaya devam edebilir.³⁵

Direnç nedenlerinden biri, antibiyotığın biyofilm içine yavaş ve düşük penetrasyon olasılığıdır. Biyofilmlerin in vitro olarak antibiyotik penetrasyonu ölçümleri, bazı antibiyotiklerin bakteriyel biyofilmlere kolayca nüfuz ettiğini göstermiştir.³⁶ Bazen, antibiyotik biyofilmlere nüfuz ederken bozulursa, antibiyotik etkisi hızla azalmaktadır. Örneğin aminoglikozidler, penetrasyonu azaltan, biyofilmin hücre dışı polimerik yüzeylerine adsorbe olabilir.³⁷ Eğer biyofilm yapısı negatif yüklü matris polimerinden oluşuyorsa, pozitif yüklü antibiyotığın penetrasyonu bozulmakta ve antibiyotığın difüzyonu olumsuz etkilenmektedir.³⁸

Biyofilm içinde değişen kimyasal mikroçevrede direnç oluşumuna neden olabilir. Farklı katmanlarda oksijen konsantrasyonu, besin maddelerinin yoğunluğu, pH gibi faktörler değişkenlik göstermektedir.³⁹

Asitli atık ürünlerinin birikimi, 1'den büyük pH farklılıklarına yol açabilir ve bu da bir antibiyotığın etkisini doğrudan etkileyebilmektedir.⁴⁰ Aminoglikozidler, anaerobikte aynı mikroorganizmaya karşı aerobik koşullara göre daha az etkilidir.⁴¹ Zehirli atık birikimi veya gerekli substratların sınırlandırılması, bakteriyel popülasyonun büyümeyen hareketsiz formda kalmasına neden olabilir. Bu da penisilin gibi bazı antibiyotiklerden korunmasını sağlar.⁴²

Bir başka yaklaşım da biyofilme yaşayan küçük bir bakteri popülasyonunun, ilaç direncinin gelişmesine yol açan koruyucu bir fenotipe (spor formuna) adapte olabileceğini varsaymıştır.³⁶

Biyofilm, doğal mutasyon veya direnç genlerinin (konjugasyon, transformasyon veya transdüksiyon için) elde edilmesiyle antibiyotik direnci kazanabilir. Antibiyotiklerin hedefi olan bu genler, antibiyotik modifiye edici genleri eksprese ederek modifiye protein üretimine yol açar.⁴³

Eflüks pompalarının ekspresyonu, esas olarak, antimikrobiyal ajanların hücrelerden atılmasına dayanmaktadır. Bu, özellikle gram-negatif bakterilerdeki mikrobiyal hücrelerin artan direnci ile ilişkilidir.⁴⁴ Örneğin *P. aeruginosa*, indüklenebilir kromozomik AmpC β -laktamazın ekspresyonu ve yapısal (MexAB-OprM) veya indüklenebilir (MexXY) eflüks pompalarının üretilmesiyle antibiyotiklere belirgin direnç kazanmaktadır.⁴⁵ İndüklenebilir AmpC'nin ekspresyonu, *P. aeruginosa*'nın çoğu penisilin ve sefalosporine olan doğal direncinde önemlidir.⁴⁶ Ayrıca MexAB-OprM'nin ekspresyonu da *P. aeruginosa*'nın tüm β -laktamlara (imipenem hariç) ve florokinolonlara azalmış duyarlılığına katkıda bulunmaktadır.⁴⁷ RND ailesine ait olan AcrAB-TolC sistemi, *E. coli*'de iyi karakterize edilmiş olup, kloramfenikol, tetrasiklinler ve kinolonlar gibi antibiyotiklere direnç kazandırmaktadır.⁴⁸ *C. albicans*'ta iki ana eflüks pompa sınıfı ilaç atılımını modüle eder. Bunlar ABC (ATP bağlayıcı kaset) taşıyıcı süper ailesi ve majör kolaylaştırıcı süper ailesidir (MDR1 dâhil).⁴⁹

Mevcut ilaçların, biyofilme nüfuz edememesi ve etkisizliği söz konusudur. Biyofilmlerin kontrolü ve ortadan kaldırılması için yeni tedavi alternatifleri uygulanmıştır. Bu makalede, lipozom bazlı ilaç taşıyıcı sistemleriyle biyofilmlerin kontrolü ve tedavisi üzerinde durulacaktır.

LİPOZOMLARA GENEL BAKIŞ

Lipozomlar, aralarında sulu faz bulunan bir veya daha fazla lipid çift katmanından oluşan biyolojik membrana benzeyen kesecik şeklindeki yapılardır. Sulu kısma hidrofilik, iki çift tabaka arasına da lipofilik madde yüklenebilme özelliğiyle birçok ilacın/etkin maddenin enkapsülasyonu kolaylaşmaktadır. Lipozomlar fosfolipid bileşimleri, morfolojisi, partikül boyutu, yüzey özellikleri ve zar sertliği/esnekliği gibi biyolojik çevreyle olan stabilitelemleri ve etkileşimlerini belirleyen parametreler ile karakterize edilir.^{50,51} Lipozomlar enkapsülennmiş ilacın biyoyararlılığını, biyoyumuluğunu ve güvenlik profillerini artırmaktadır. Antitümör ajanlar, antiviraller, antifungaller, antimikrobiyaller, aşular ve gen terapötikler dâhil olmak üzere geniş bir ilaç yelpazesinde geliştirilmiş güvenlik ve yüksek verimlilik elde edilmiştir.⁵²

Geleneksel lipozomlar, geliştirilen ilk jenerasyon lipozomlardır. Bunlar; katyonik, anyonik veya nötr (fosfo) lipidler ve kolesterol içeren sulu fazdan ve lipid çift katmanından oluşur. Lipozom stabilitesini geliştirmek ve kandaki dolaşım zamanlarını artırmak için sterik olarak stabilize edilmiş lipozomlar geliştirilmiştir.⁵³

Polietilen glikol, sterik stabilize lipozomlar elde etmek için en uygun seçim olarak gösterilmiştir. Sterik bir bariyerin oluşturulması, serum bileşenleriyle in vivo opsonizasyonu azaltır. Retikuloendotelial Sistem (RES) tarafından alımını azaltarak enkapsülennmiş ajanların etkinliğini artırır. Kan dolaşımı süresini uzatır ve patolojik bölgelerde birikim sağlayarak ilaçların eliminasyonunu azaltır, aynı zamanda yan etkilerini de azaltır.^{54,55}

Ligand-hedefli lipozomlar, belirli bir ligandın hastalığın bulunduğu bölgede seçici olarak eksprese olması ve in vivo olarak belirlennmiş hücre tiplerine ya da organlarına ilacın seçici olarak verilmesi için geniş bir potansiyel sunar. Birçok ligand aynı anda taşıyıcıya kombine edilebilir, böylelikle daha spesifik hedeflendirme sağlanmış olur.⁵⁶

LİPOZOMAL İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLERİYLE BİYOFİLMLE HEDEFLENDİRME

Catuogno ve Jones, çinko sitrata adsorbe edilmiş lipozomların, *Streptococcus oralis* biyofilmlerine karşı

antibakteriyel etkisini araştırmışlardır.⁵⁷ Çinko sitratın kendisi bir bakterisittir ve diş macunları formülasyonunda kullanılır. Anyonik lipozomlar, fosfatidilinositolün, dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC) lipozomlarına katılmasıyla hazırlanmıştır. Katyonik lipozomlar, DPPC ve kolesterol lipozomlarının içine dimetildioktadesil amonyum bromür (DDAB) ilave edilmesiyle hazırlanmıştır. Lipidde çözünür bir ajan olan triklosan ve suda çözünür penisilin-G, anyonik ve katyonik lipozomlara enkapsüle edilmiş, daha sonra lipozomlar çinko sitrat partikülüne adsorbe edilmiştir. Katı destekli veziküller (partiküller, lipozomlar ve ilaçlar), ikili sistemlerde tek başlarına ve diğer bileşenlerle birlikte incelenmiştir. Katı destekli veziküller, tek başına kullanılan sistemlerin antibakteriyel aktivitesini iyileştirmemiştir. Çinko sitrat partikülleri lipozomların stabilitesini artırmasına rağmen ilaçların veya lipozomların varlığının, çinko sitrat partiküllerinin bakterisit etkisini engellediği bulunmuştur.

Mugabe ve ark., kistik fibrozisli hastalarda *P. aeruginosa*'nın kronik akciğer enfeksiyonuna karşı, lipozomal gentamisin antibakteriyel aktivitesini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Gentamisin, farklı lipid bileşimleri 2:1 oranında sonikasyonla enkapsülennmiştir.⁵⁸ *P. aeruginosa*'nın klinik izolatları için serbest ve lipozomal gentamisin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK), broth dilüsyonu ile değerlendirilmiştir. Enkapsülennmiş gentamisin in vitro stabilitesi, fosfat tamponlu salinde 4 ve 37°C'de 48 saat boyunca ve havuzlanmış plazmada 37°C'de incelenmiştir. Lipozomlar, enkapsülennmiş gentamisin %60-70'ini, normal insan havuzlu plazmada veya fosfat tamponlu salinde 48 saat korumuştur. *P. aeruginosa*'nın tüm klinik izolatları için lipozomal gentamisin MİK'leri, serbest gentamisin MİK'lerinden daha düşüktür. Lipozomal gentamisin, bu klinik izolatların duyarlılıklarını, dirençli den, orta ve duyarlı olmak üzere değiştirmiştir. Lipozomlar enkapsülennmiş ilacı bakteriyel enzimlerin etkisinden koruyabilir ve aynı zamanda bakteri zarfı boyunca difüzyonunu kolaylaştırabilir. Sonuç olarak, lipozomal gentamisin formülasyonları, *P. aeruginosa*'ya bağlı pulmoner enfeksiyonları ve biyofilmleri kontrol etmede serbest ilaca göre daha etkilidir.

Drulis Kawa ve ark., yaptıkları bir çalışmada, meropenem duyarlı *P. aeruginosa* suşlarına karşı,

düşük geçirgenlik veya efluks pompa nedeni ile meropenem dirençli olan *P. aeruginosa* suşlarına karşı ve karbapenemazların üretiminden dolayı meropenem dirençli *P. aeruginosa* suşlarına karşı lipozomlarda enkapsüllemiş meropenemin in vitro aktivitesinin incelenmesini amaçlamışlardır.⁵⁹ Lipozomal meropenemin 12 lipid formülasyonu, antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için 6'sı ilaca duyarlı ve 2'si ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşu üzerinde test edilmiştir. Katyonik lipozomlar, özellikle fosfatidilkolin/1,2-diöleil-sn-glisero-3-fosfoetanolin/oktadesilamin 4: 4: 2 ve fosfatidilkolin/1,2-diöleiloksi-3-trimetilamonyum-propan/kolesterol 5: 2: 3, formülasyonların MİK'leri serbest ilaçtan 2 veya 4 kat daha düşük olduğundan, duyarlı izolatlarla karşı anyonik olanlardan daha etkili olmuştur.

Meers ve ark., nebulizasyon ve inhalasyon yoluyla verilmek üzere tasarlanmış amikasinin lipozomal formülasyonunun biyofilm penetrasyonu, ilaç salım mekanizması ve in vivo antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır.⁶⁰ Balgam ya da *P. aeruginosa* (PA3064) biyo-filmeleri içine floresan etiketli lipozomların penetrasyonu, bir filtre analizi ve epifloresans veya konfokal tarama lazer mikroskobu ile izlenmiştir. Nebulize materyalin inhalasyonu sonrası amikasin in vitro ve sıçan akciğer seviyeleri, floresan polarizasyon immünoassay ile ölçülmüştür. Sıçanlarda kronik *Pseudomonas* akciğer enfeksiyonunun 14 günlük bir agar boncuk modeli, bakteriyel sayımın azaltılmasında serbest aminoglikozidlere karşı lipozomal amikasinin etkinliğini değerlendirmek için kullanılmıştır. Floresan lipozomlar biyo-filmere ve enfekte olmuş mukozaya kolayca nüfuz ederken, daha büyük (1 mm) floresan boncuklar bunu gerçekleştirememiştir. İn hale lipozomal amikasin, normal sıçan akciğerlerinde yavaş ve sürekli bir şekilde salınmıştır ve enfekte akciğerlerde inhale edilen serbest amikasinin göre daha etkilidir. Sonuç olarak, 14 günlük bir enfeksiyon modelinde gözlenen serbest ilaca karşı inhale lipozomal amikasinin üstünlüğü görülmüştür.

Halwani ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmanın amacı, lipozomal gentamisin formülasyonunun gal-yum metali (Lipo-Ga-GEN) ile *P. aeruginosa*'nın klinik izolatlarına karşı antimikrobiyal etkinliğini arttırmaktır.⁶¹ Kistik fibrozisli hastalardan *P. aerugi-*

nosa'nın balgam izolatları, Lipo-Ga-GEN'in MİK ve minimum bakterisit konsantrasyonları (MBK)'nı belirlemek için kullanılmıştır. *P. aeruginosa* biyo-film-leri oluşturulmuştur ve geleneksel ilaçların minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonu Lipo-Ga-GEN ile karşılaştırmak için kullanılmıştır. *P. aerugi-nosa*'nın "Quorum sensing (QS)" molekülünün azalması, *Agrobacterium tumefaciens* suşu (A136) kullanılarak N-açıl homoserin lakton üretiminin izlenmesi ile belirlenmiştir. Kültürü yapılmış insan akciğer epitelyal hücrelerinin yaşayabilirliği (A549), Ga toksisitesini değerlendirmek için Trypan Blue testi ile belirlenmiştir. 256 mg/L serbest gentamisine karşı 2 mg/L Lipo-Ga-GEN verildiğinde, Lipo-Ga-GEN formülasyonu, gentamisin bir yüksek dirençli *P. aeruginosa* (PA-48913) suşuna karşı daha etkili olduğunu göstermiştir. Lipo-Ga-GEN, biyo-film-leri tamamen ortadan kaldıran ve çok düşük konsantrasyonda (0,94 mg/L gentamisin) QS moleküllerini bloke eden tek formülasyondur. Hücre canlılığında azalma, Lipo-Ga'ya maruz bırakılan A549 hücrelerinde daha azdır, bu da kapsüllemiş Ga'nın daha güvenli olduğunu düşündürmüştür. Sonuçlar Lipo-Ga-GEN formülasyonunun, antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* izolatlarının ortadan kaldırılmasında, tek başına gentamisin-den daha etkili olduğunu açıkça göstermektedir.

Alipour ve ark., konvansiyonel (serbest) ve lipozomal gentamisin, amikasin ve tobramisin (TOB)'in in vitro bakterisidal aktivitesinin artırılmasında DNase, alginat liyaz (AlgL) ve N-asetilsistein (NAC) potansiyelinin değerlendirilmesini amaçlamışlardır.⁶² İki *P. aeruginosa* (bir mukoid suş ve bir mukoid olmayan suş) izolatları için MİK ve biyo-film eradikasyonu AlgL varlığında ve yokluğunda belirlenmiştir. Kistik fibrozis hastalarının balgam örneklerinde, endojen *P. aeruginosa*'ya karşı aminoglikozidlerin DNase ve/veya AlgL ile birlikte aktivitesi ölçülmüştür. Müsinin, aminoglikosidik aktivite üzerindeki mukolitik ajan NAC'nin varlığında ve yokluğunda önleyici etkileri de incelenmiştir. Biyo-film oluşumu, bu ilaçların bakterisidal konsantrasyonlarını 8-256 kat artırmış ve AlgL ile tedavi, mukoid suşun ölüm oranını azaltmıştır. Bazı aminoglikozidlerin balgamlara karşı aktivitesi, DNase veya AlgL (p<0,05) ilavesiyle artmıştır ve eş zamanlı olarak DNase ve AlgL uygulaması ile daha fazla art-

maktadır. Müsin eklenmesi, serbest aminoglikozidlerden (8 kata kadar) belirgin bir şekilde daha fazla lipozomal aminoglikozid aktivitesini (32 kata kadar) inhibe etmiştir. NAC'nin eklenmesi, aktiviteyi önemli ölçüde iyileştirmemiştir ($p>0,05$). TOB, biyofilmleri ve balgamı azaltmak için en etkili aminoglikoziddir.

Zhou ve ark., bir çalışmada simüle edilmiş vücut sıvısında salım davranışlarını ve in vitro olarak anti-biyofilm özelliklerini araştırmak için lipozomal seftazidim yüklü, nano-hidroksiapatit/ β -trikalsiyum fosfat seramik iskeleleri hazırlamıştır.⁶³ In vitro anti-biyofilm aktivitesi ve bakteri duyarlılığının belirlenmesi ELISA ile incelenmiştir. İncelenen katyonik lipozomal seftazidim (KLS)'lerin ortalama partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli, pH ve enkapsülasyon etkinliği sırasıyla $161,5\pm 5,37$ nm, $60,60\pm 5,24$ mV, $6,90\pm 0,07$ ve $\%16,57\pm 0,13$ 'tür. KLS'ler *S. aureus* biyofilm oluşumunu serbest ilaca göre daha etkin bir şekilde inhibe etmektedir ($p<0,05$). KLS'nin etkinliği, inkübasyon süresiyle artmıştır, ancak 60 dk sonra lipozomal antibiyotik, muhtemelen bazı lipozomların bozulması nedeni ile daha az etkili olmuştur. Aynı zamanda serbest ilaç, biyofilmlerin inhibisyonunda nispeten düşük etkinlik göstermiştir. Özetle, katyonik lipozomal seftazidim yüklü nano-hidroksiapatit/ β -trikalsiyum fosfat seramikleri, klinik uygulama için bakteriyel biyofilmleri lokal olarak inhibe etmede ideal bir strateji sağlamıştır.

Alhajlan ve ark., kistik fibrozis hastalarının akciğerlerinden *P. aeruginosa*'nın klinik izolatlarına karşı farklı yüzey yüklerine sahip lipozomal klaritromisin (KLA) formülasyonlarının etkinlik ve güvenilirliğini araştırmışlardır.⁶⁴ Lipozomal KLA formülasyonları dehidrasyon-rehidrasyon yöntemi ile hazırlanmış ve boyutları dinamik ışık saçılımı tekniği kullanılarak ölçülmüştür. Enkapsülasyon verimliliği mikrobiyolojik analiz ile belirlenmiş ve biyolojik akışkandaki formülasyonların stabiliteyi 48 saat süreyle değerlendirilmiştir. Kistik fibrozis hastalarından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarında MİK ve MBK'ler serbest ve lipozomal formülasyonlarda belirlenmiştir. *P. aeruginosa*'ya karşı lipozomal KLA aktivitesi, Calgary Biofilm Cihazı (Innovotech, Edmonton, AB, Kanada) kullanılarak serbest antibiyotikle karşılaştırılmıştır. Lipozom preparatlarının ve

serbest ilacın sitotoksiteleri pulmoner epitelyal hücre çizgisi üzerinde değerlendirilmiştir. Formülasyonların ortalama çapı > 222 nm iken, kapsülleme verimliliği $\%5,7$ 'den $\%30,4$ 'e kadar değişmektedir. Lipozomlar, ilaç içeriğinin $\%70$ 'inden fazlasını 48 saatlik süre boyunca muhafaza etmiştir. Yüksek dirençli *P. aeruginosa* suşları, lipozomlarda enkapsüllenmiş KLA'ya (MİK 256 mg/L'ye karşı 8 mg/L; $p<0,001$) duyarlı olmuştur. Lipozomal KLA, biyofilm içindeki bakteriyel büyümeyi 3 ila 4 log birim ($p<0,001$), ölçüde azaltmıştır. Lipozomlarda enkapsüllenmiş KLA serbest ilaçtan daha az sitotoksiktir ($p<0,001$). Bu veriler, kistik fibrozisli bireyleri etkileyen dirençli *P. aeruginosa* suşlarına karşı KLA'nın etkinliğini artırmak için yararlı olduğunu göstermektedir.

Kawai ve ark.nın, yaptıkları çalışmada, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* ve *C. glabrata* ile biyofilm oluşumu değerlendirilmiş ve bu biyofilmlere karşı lipozomal amfoterisin B (LAB), mikafungin (MFG) ve flukonazol (FLC) aktiviteleri klinik olarak ilgili in vitro model sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir.⁶⁵ LAB üç non-*albicans* *Candida* türüne karşı güçlü aktivite sergilemiş ve doza bağlı etkinlik göstermiştir. MFG, *C. tropicalis* biyofilmine karşı paradoksal bir büyüme etkisi göstermiştir. FLC, non-*albicans* biyofilmler için etkisizdir. *Candida* biyofilmleri LAB'ye karşı eşsiz bir duyarlılığa sahiptir. LAB'nin doza bağlı etkileri, bu ilacın klinik nedenlerden dolayı kateterin çıkartılamayacağı durumlarda, non-*albicans* *Candida* türleri tarafından biyofilm oluşumu için yararlı bir tedavi olabileceğini göstermektedir.

Dong ve ark., çeşitli boyutlarda katyonik ve anyonik lipozomlar hazırlayarak, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* biyofilmlerinde in vitro ortamda dağılım ve antibiyofilm etkilerini araştırmışlardır.⁶⁶ Bu amaçla fosfolipid lipozomlar hazırlamış ve konfokal tarama lazer mikroskobu kullanarak lipozom biyofilm etkileşimini belirlemişlerdir. Lipozomdan sonra biyofilmlerin yaşayabilirliği Alamar blue testi kullanılarak belirlenmiştir. *S. aureus* ATCC 25923 ve *P. aeruginosa* ATCC 15692 için spesifik biyofilm modelleri oluşturulmuştur. Lipozomal dağılım, konfokal tarama lazer mikroskobu kullanılarak izlenmiştir. Antibiyofilm etkinliği çalışması, 24 saat ve 5 dk boyunca çeşitli lipozomlarla tedavi edilen biyofilmin nispi

canlılığını test etmek için Alamar blue testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Daha küçük tek tabakalı veziküller (TLV) hem *S. aureus* hem de *P. aeruginosa* biyofilmlerine, çok tabakalı veziküllerden daha iyi nüfuz etmişlerdir. + TLV ve -TLV'nin *S. aureus* biyofilminde benzer dağılım göstermesi dışında, katyonik lipozomlar anyonik lipozomlardan daha iyi penetre olmuştur. Biyofilm büyümesi 24 saat ve 5 dk'lık maruz kalma süresinde inhibe edilmiştir, ancak lipozomal tedavi sonrası *P. aeruginosa* biyofilminin yaşayabilirliğinin azalması istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sonuç olarak, lipozom boyutunun azaltılması ve lipozomların pozitif yüklü olarak formüle edilmesi *S. aureus* ve *P. aeruginosa* biyofilmlerinin penetrasyonu ve inhibisyonunu artırmıştır.

Meng ve ark., KLA enkapsülenmiş buğday tohumu aglutinin [wheat germ agglutinin (WGA)] modifiye lipozomları hazırlayarak, metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA)'a karşı in vitro ve in vivo etkinliğini değerlendirmişlerdir.⁶⁷ Fizikokimyasal parametreler, MİK'ler, in vitro öldürme kinetiği, hücresel alım, biyofilm oluşumu inhibisyonu, biyolojik dağılım, MRSA'ya karşı in vivo antibakteriyel etkinlik, KLA enkapsülenmiş lipozomlar için makrofaj fagositozudur. WGA-modifiye lipozomal KLA için MİK ve zamana bağlı ölüm kinetiği, serbest ve modifiye edilmemiş lipozomal KLA'dan daha iyidir. WGA-modifiye lipozomal KLA, *S. aureus* (ATCC 29213) ve MRSA biyofilm oluşumunu inhibe etmiştir ve biyofilm parçalanmasını MİK'in altındaki düşük konsantrasyonlarda başlatmıştır. WGA nedeni ile farelerin anteroseleinde etkili bir lipozom birikimi sergilenmiştir.

Sugano ve ark. bir çalışmada, planktonik hücrelerde ve biyofilmlerde katyonik lipozomların ve *S. mutans*'ın davranışlarını incelemişlerdir.⁶⁸ Katyonik lipid içeren ve içermeyen lipozomlar, ters faz buharlaştırma yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Geleneksel lipozomların (katyonik lipid içermeyen) ve katyonik lipozomların zeta potansiyelleri, sırasıyla 13 ve 8 mV'dir ve her ikisi de yaklaşık 180 nm'lik bir ortalama partikül boyutuna sahiptir. Bir akış sitometrisi ile lipozomlar ve planktonik bakteriyel hücreler arasındaki etkileşim değerlendirilmiştir. Daha sonra lipozomların biyofilmlere bağlanmasını incelemek için bir yüzey plazmon rezonans spektrosko-

pisini kullanılmıştır. Konfokal lazer tarama mikroskobu kullanarak lipozomların biyofilmlere etkisi incelenmiştir. Katyonik lipozomlar, *S. mutans* hücreleri ve biyofilmler arasındaki etkileşimler, geleneksel lipozomlardan daha kuvvetlidir. Mikroskobik gözlemler, katyonik lipozomların bakteriyel kütle ile etkileştirmesini ve biyofilmlerin derin katmanlarına nüfuz ettiğini ortaya koymuştur. Katyonik lipozomlar sadece oral bakteriyel hücrelere değil, aynı zamanda geleneksel lipozomlara göre biyofilmlere daha yüksek afiniteye sahiptir. Elektrostatik etkileşimlerin katyonik lipozomlar ve bakteriler arasındaki bu yüksek afiniteye katkıda bulunmadığı ileri sürülmektedir. Bu elektrostatik etkileşim, biyofilmler için ilaç taşıyıcı sistemlerde yararlı olabilir.

Berti ve ark.nın çalışmasında, kalsiyum fosfat (CaP) kaplı 1,2-dioleoil-sn-glisero-3-fosfat (DOPA) lipozomlarının salım kapasitesi, mekanik stabilitesi ve lipozomların sulu çekirdeğinde akrinin turuncu (AT) ve 5,10,15,20-Tetrakis (1-metil-4-piridin) porfirin (TMP) içeren bakteriyel yüzey üzerine adsorbe edilmesi incelenmiştir.⁶⁹ Elde edilen nanomateryaller elektron, optik mikroskopi ve floresans teknikleri ile karakterize edilmiştir. Sulu lipozom çekirdeği ile dış çözelti arasındaki AT ve TMP moleküllerinin dağılımı, bant kaymaları ve eksitasyon-emisyon matrikslerinin ve floresan oluşumu için modifiye Stern-Volmer modelinin genişletilmesi ile gösterilmiştir. Nanolipozomların adezyon kapasitesi, florofor moleküllerinin *S. aureus* biyofilmlerine penetrasyonu ile daha da artmıştır. "Transmission Electron Microscope (TEM)" ve "Scanning Electron Microscope (SEM) görüntülemeyle lipozomlar ve *S. aureus* biyofilm arasındaki etkileşim kanıtlanmıştır. Epifloresan deneyleri, kaplı lipozomların, biyofilmlerin lipozomlarla 2 saatlik inkübasyonundan sonra biyofilm boyama kapasitesine sahip olduğunu, biyofilm ile temas ettiğinde floroforların salınımını desteklediğini göstermiştir. Sonuçlar, CaP kaplı lipozomların, *S. aureus* biyofilmleri varlığında ilaç salımını aktive edebildiğini göstermektedir. CaP kaplı lipozomların, *S. aureus* biyofilmlerine ilaçların seçici olarak verilmesi için uygun olduğunu ortaya koymaktadır.

Zahra ve ark., lipozomal meropenemin antibakteriyel aktivitesini, biyofilm oluşumunu önleme yeteneğini ve meropenem dirençli *P. aeruginosa*

suşlarının hareketliliğini araştırmışlardır.⁷⁰ *P. aeruginosa* izolatları, serbest ve lipozomal meropenemin MİK ve MBK'sini belirlemek için kullanılmıştır. Meropenem yüklü lipozomal formülasyonlar, modifiye etanol enjeksiyon yöntemine göre hazırlanmıştır. Formülasyonların partikül büyüklüğü dağılımı ve zeta potansiyeli dinamik ışık saçılımı sistemi kullanılarak analiz edilmiştir. Tutma kapasitesi ve yükleme verimliliği santrifüjleme yöntemiyle belirlenmiştir. Serbest ve lipozom enkapsüllenmiş meropenemin MİK'lerini belirlemek için broth mikro seyreltme yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada, lipozomal meropenemin MİK ve MBK'sinin tüm klinik ve laboratuvar suşlarına karşı daha etkili olduğu ve serbest meropenemden anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur. Tüm *P. aeruginosa* izolatlarında, serbest ilaç formu 6,25 µg/mL konsantrasyonunda biyofilm oluşumunu ortadan kaldıracak şekilde; lipozomal meropenem >1,5 µg/mL'de biyofilmi ortadan kaldırmıştır. Ek olarak, daha düşük konsantrasyonlarda lipozomal meropenem, bakteriyel motiliteyi inhibe edebilmektedir. Sonuçlar, ilacın lipozomal formülasyonunun antibiyotik dirençli *P. aeruginosa* izolatlarına karşı tek başına meropenemden daha etkili olduğunu göstermektedir.

Dias-Souza ve ark., Brezilya endüstrisinin soğutma kulelerinden izole edilen 10 farklı bakteri türüne karşı lipozomla enkapsüllenmiş kloramfenikolün etkinliğini değerlendirmişlerdir.⁷¹ Dehidrasyon rehidrasyon yöntemiyle 100 ve 200 nm boyutlarında lipozomlar geliştirilmiş ve in vitro modelde her izolataın gece boyunca oluşan biyofilmlerine karşı test edilmiştir. Kloramfenikol yüklü lipozomlar, dinamik ışık saçılımı ile değerlendirilmiştir. 131 nm (100 nm membran ekstrüzyon) ve 182 nm (200 nm membran ekstrüzyon) vezikül çapları ile dehidrasyon-rehidrasyon yöntemi kullanılarak üretilmiştir. 100 nm membran ekstrüzyon ile elde edilen lipozomlar, biyofilmlere karşı 200 nm membran ekstrüzyon ile elde edilene göre daha etkilidir ve serbest ilacın antibiyofilm etkisi bulunmamıştır. Bu stratejiyle ilacın sürekli salımı ve soğutma kulesi ortamındaki koşullara daha fazla uyum sağlayabilmesi nedeni ile uzun etki süresi gibi avantajlar sunmaktadır. Lipozom enkapsüllenmiş antimikrobiyal moleküllerin kullanılması, biyofilm oluşumunu engellemek için serbest

moleküller üzerinde avantajlı olabilmektedir.

Alhariri ve ark., *P. aeruginosa* ve *Klebsiella oxytoca*'ya karşı, farklı yüzey yüklerine sahip lipozomal gentamisin formülasyonlarının etkinliğini araştırmışlardır.⁷² Lipozomal gentamisin formülasyonları dehidrasyon-rehidrasyon yöntemi ile hazırlanmıştır, boyutları ve zeta potansiyeli ölçülmüştür. Lipozomal formülasyonlar içindeki gentamisinin enkapsülleme etkinliği mikrobiyolojik analiz ile belirlenmiştir. Biyolojik sıvıdaki formülasyonların stabilitesi 48 saat süreyle değerlendirilmiştir. MİK, MBK belirlenmiş ve serbest formdaki gentamisin ve lipozomal gentamisin formülasyonlarının in vitro zaman ölüm kinetiği çalışmaları yapılmıştır. Lipozomal gentamisinin, biyofilm oluşturucu *P. aeruginosa* ve *K. oxytoca*'yı önleme ve azaltmadaki aktiviteleri, serbest antibiyotiklerle karşılaştırılmıştır. Lipozomal formülasyonların boyutları 625-806,6 nm arasında değişmiştir, zeta potansiyeli -0,22 ile -31,7 mV arasındadır. Lipozomal formülasyon içinde gentamisinin enkapsülleme etkinliği %1,8-43,6 arasındadır. Lipozomlar 48 saatlik süre boyunca gentamisin içeriğinin %60'ını korumuştur. Nötr formülasyonun MİK değeri, serbest gentamisinden daha düşüktür (*P. aeruginosa* için 0,25'e karşı 1 mg/L ve *K. oxytoca* için 0,5'e karşı 1 mg/L). Negatif yüklü formülasyon, serbest gentamisin ile aynı bakteriyostatik konsantrasyonu sergilemiştir. Planktonik *P. aeruginosa* ve *K. oxytoca*'ya karşı nötr ve negatif yüklü formülasyon için öldürme zaman eğrisi değerleri serbest gentamisininkinden daha iyi olmuştur. Sonuç olarak, nötr lipozomlar gentamisinin antimikrobiyal aktivitesini planktonik bakterilere karşı artırmıştır. Negatif yüklü lipozomlar ise gentamisin enkapsüllemesini artırmıştır ve biyofilm topluluğuna karşı gentamisin aktivitesini önemli ölçüde artırdığını göstermektedir.

TOB ve KLA, kistik fibrozis hastalarında *P. aeruginosa*'nın neden olduğu solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisi için potansiyel sinerjistik olarak kullanılmaktadır. Ye ve ark. çekirdek taşıyıcı bir yaklaşımla hem hidrofilik TOB hem de hidrofobik KLA içeren yeni bir kombinasyon prolipozom formülasyonu (TOB/KLA-KPROLips) geliştirmeyi amaçlamışlardır.⁷³ Kombinasyon prolipozomları, bir KLA etanolik lipid çözeltisi (%0,05) içinde süspanse edilmiş, püskürtülerek kurutulmuş mannitol (SD-MAN,

%0,45) ve püskürtülerek kurutulmuş tobramisin (SDTOB, %0,05) içermektedir. Kuru prolipozom partiküllerinin yüzeyinde kaplanan lipid tabakası, saf ilaçlara kıyasla nemden koruma ve sürekli salım özellikleri sağlamıştır. Optimize edilmiş TOB/KLA-KPROLips formülasyonu, %60 bağıl nemde ve 25°C'de 3 ay saklandıktan sonra stabil bulunmuştur. %89 enkapsülasyon verimi içeren hidrofobik KLA'nın lipid çift katmanlara yüklendiği farz edilirken, %47 enkapsülasyon verimi içeren TOB'nin lipozomların iç sulu fazında enkapsülasyonu beklenir. TOB ve KLA'nın birlikte uygulanması, in vitro *P. aeruginosa* biyofilmlerine, tek başına TOB ve KLA'ya kıyasla sinerjistik olarak etki eder. Bu nedenle, oluşturulan prolipozomal formülasyon kombinasyonundaki yeni TOB ve KLA, kistik fibrozis hastalarında *P. aeruginosa* akciğer enfeksiyonlarıyla savaşmak için potansiyel olarak iyi bir adaydır.

Vanić ve ark., yaptıkları bir çalışmada, servikovajinal enfeksiyonların tedavisi için azitromisin lipozomları geliştirmişlerdir.⁷⁴ İki tabakalı elastikiyet/sertlik bakımından farklı olan azitromisin lipozomları, biyofilm oluşturan çeşitli *E. coli* suşları ve hücre içi *Chlamydia trachomatis* karşı antibakteriyel aktivite simüle servikovajinal şartlar altında değerlendirilmiştir. Çift tabakalı (CL-3), propilen glikol lipozomlu (PGL-2) ve deforme olabilen propilen glikol lipozomlu (DPGL-2) negatif yüklü lipozomlar, planktonik *E. coli* ATCC 700928 ve K-12'ye karşı etkili olmuştur. CL-3, *E. coli* ATCC 700928 ve K-12 biyofilmlerinin oluşumunu önlemek için üstündür, IC50 değerleri (biyofilm canlılığını %50 inhibe eden konsantrasyonlar) kontrol grubundan 8 kat daha düşüktür (serbest azitromisin). DPGL-2, önceden oluşturulmuş *E. coli* biyofilmlerinin yok edilmesi ve *C. trachomatis* enfeksiyonlarının tedavisi için en umut verici olandır. Tüm azitromisin lipozomları, servikal hücreler ile biyouyumludur ve ilacın vajinal doku içinde lokalizasyonu kontrol grubuna kıyasla artmıştır.

Li ve ark., bir çalışmada sefkinom sülfat katyonik prolipozomları (SSKP) hazırlamış, *S. aureus* ve bakteriyel biyofilm üzerindeki inhibe edici ve eradikasyon etkilerini incelemişlerdir.⁷⁵ SSKP'ler bakteriyel biyofilmi yok etmek ve ilacın antibakteriyel etkisini artırmak için efervesan hidrasyon ile birlikte

katı dispersiyon yöntemiyle hazırlanmıştır. SSKP'ler suda kolayca dağılmış, böylece beyaz, homojen bir süspansiyon olarak SS katyonik lipozomları (SSKL'ler) oluşturulmuştur. SSKL'ler %63,21'lik bir enkapsülasyon verimliliğine, %4,04'lük bir ilaç yüklemesine, 201,5 nm ortalama partikül büyüklüğüne ve 65,29 mV'lik bir pozitif zeta potansiyeline sahiptir. *S. aureus* tipi kültür suşunun SS ve SSKL MİK değerleri sırasıyla 1 ve 0,48 g/mL'dir. Sefkinom sülfatın bakteriyel biyofilm üzerindeki yok edici etkisi, 8-24 saat boyunca ilaç içeren ortamda kültür sırasında nispeten zayıftır. Bununla birlikte, SSKL'nin bakteriyel biyofilmi inhibe edici etkisi SS'nin yaklaşık 2 katı olmuştur. Tüm bu sonuçlar, sefkinomun biyofilm üzerindeki yok edici etkisini, SSKL'lerin önemli ölçüde iyileşebileceğini göstermiştir.

SONUÇ

Bu derlemede sunulan bilimsel araştırmalara göre, antibiyofilm aktivitesi sergileyen lipozomlar geliştirmek için farklı stratejiler kullanılmıştır. Lipozomal formülasyonlar, minimum biyofilm inhibitör konsantrasyonlarını ve geleneksel tedaviye kıyasla virülans faktörlerini azaltma yetenekleri nedeni ile kronik ve biyofilme ilişkili enfeksiyonların tedavisinde antimikrobiyallerin verilmesinde umut verici görünmektedir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Aslınur Albayrak; **Denetleme/Danışmanlık:** Füsun Acartürk; **Analiz ve/veya Yorum:** Aslınur Albayrak; **Kaynak Taraması:** Aslınur Albayrak; **Makalenin Yazımı:** Aslınur Albayrak; **Eleştirel İnceleme:** Füsun Acartürk.

KAYNAKLAR

1. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2(2):114-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
2. Hall-Stoodley L, Stoodley P, Kathju S, Hoiby N, Moser C, Costerton JW, et al. Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;65(2):127-45. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
3. D'Acunto B, Frunzo L, Klapper I, Mattei M. Modeling multispecies biofilms including new bacterial species invasion. *Math Biosci.* 2015;259:20-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Liu Y, Tay JH. Detachment forces and their influence on the structure and metabolic behaviour of biofilms. *World J Microbiol Biotechnol.* 2001;17(2):111-7. [[Crossref](#)]
5. Vinh DC, Embil JM. Device-related infections: a review. *J Long Term Effects Med Implants.* 2005;15(5):467-88. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
6. Götz F. Staphylococcus and biofilms. *Mol Microbiol.* 2002;43(6):1367-78. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
7. Karchmer AW, Longworth DL. Infections of intracardiac devices. *Infect Dis Clin North Am.* 2002;16(2):477-505. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
8. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung infections associated with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(2):194-222. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
9. Gjødtsbøl K, Christensen JJ, Karlsmark T, Jørgensen B, Klein BM, Krogfelt KA. Multiple bacterial species reside in chronic wounds: a longitudinal study. *Int Wound J.* 2006;3(3):225-31. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
10. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med.* 2002;113(Suppl 1A):5S-13S. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
11. Nicolle LE. Urinary tract infection in long-term care facility residents. *Clin Infect Dis.* 2000;31(3):757-61. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
12. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284(5418):1318-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
13. Tabibian JH, Gornbein J, Heidari A, Dien SL, Lau VH, Chahal P, et al. Uropathogens and host characteristics. *J Clin Microbiol.* 2008;46(12):3980-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
14. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am.* 1997;11(3):609-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Warren JW. Catheter-associated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents.* 2001;17(4):299-303. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
16. Carron MA, Tran VR, Sugawa C, Cotichia JM. Identification of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa. *J Gastrointest Surg.* 2006;10(5):712-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Biofilm formation by *Helicobacter pylori* and its involvement for antibiotic resistance. *Biomed Res Int.* 2015;2015:914791. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
18. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(4):499-515. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
19. Acuin J, World Health Organization. Chronic Suppurative Otitis Media: Burden of Illness and Management Options. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004. p.71.
20. Verhoef M, van der Veen EL, Rovers MM, Sanders EA, Schilder AG. Chronic suppurative otitis media: a review. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006;70(1):1-12. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, Nistico L, Nguyen D, Hayes J, et al. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *JAMA.* 2006;296(2):202-11. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
22. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Ladhoff A, Swidsinski S, Hale LP, et al. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2005;106(5 Pt 1):1013-23. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
23. Antas PR, Brito MM, Peixoto É, Ponte CG, Borba CM. Neglected and emerging fungal infections: review of hyalohyphomycosis by *Paecilomyces lilacinus* focusing in disease burden, in vitro antifungal susceptibility and management. *Microbes Infect.* 2012;14(1):1-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Kumamoto CA, Vines MD. Alternative *Candida albicans* lifestyles: growth on surfaces. *Annu Rev Microbiol.* 2005;59:113-33. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
25. Ramage G, Jose A, Coco B, Rajendran R, Rautemaa R, Murray C, et al. Commercial mouthwashes are more effective than azole antifungals against *Candida albicans* biofilms in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;111(4):456-60. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Coco B, Bagg J, Cross L, Jose A, Cross J, Ramage G. Mixed *Candida albicans* and *Candida glabrata* populations associated with the pathogenesis of denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(5):377-83. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
27. Ariani N, Vissink A, van Oort RP, Kusdiany L, Djais A, Rahardjo TB, et al. Microbial biofilms on facial prostheses. *Biofouling.* 2012;28(6):583-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
28. Martin-Garrido I, Carmona EM, Specks U, Limper AH. *Pneumocystis pneumonia* in patients treated with rituximab. *Chest.* 2013;144(1):258-65. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
29. Lanjewar DN. The spectrum of clinical and pathological manifestations of AIDS in a consecutive series of 236 autopsied cases in Mumbai, India. *Patholog Res Int.* 2011;2011:547618. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
30. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2010;50(3):291-322. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
31. Martinez LR, Fries BC. Fungal biofilms: relevance in the setting of human disease. *Curr Fungal Infect Rep.* 2010;4(4):266-75. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
32. Damman CJ, Miller SI, Surawicz CM, Zisman TL. The microbiome and inflammatory bowel disease: is there a therapeutic role for fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol.* 2012;107(10):1452-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Kumamoto CA. Inflammation and gastrointestinal *Candida* colonization. *Curr Opin Microbiol.* 2011;14(4):386-91. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
34. Wolcott R, Rumbaugh K, James G, Schultz G, Phillips P, Yang Q, et al. Biofilm maturity studies indicate sharp debridement opens a time-dependent therapeutic window. *J Wound Care.* 2010;19(8):320-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
35. de la Fuente-Núñez C, Reffuveille F, Fernández L, Hancock RE. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Curr Opin Microbiol.* 2013;16(5):580-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
36. Stewart PS. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40(11):2517-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
37. Shigeta M, Tanaka G, Komatsuzawa H, Sugai M, Suginaka H, Usui T. Permeation of antimicrobial agents through *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: a simple method. *Chemotherapy.* 1997;43(5):340-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]

38. Nichols WW, Dorrington S, Slack M, Walmsley H. Inhibition of tobramycin diffusion by binding to alginate. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988;32(4):518-23. [Crossref] [PubMed] [PMC]
39. Lebeaux D, Ghigo JM, Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2014;78(3):510-43. [Crossref] [PubMed] [PMC]
40. Zhang TC, Bishop PL. Evaluation of substrate and pH effects in a nitrifying biofilm. *Water Environ Res.* 1996;68(7):1107-15. [Crossref]
41. Tack KJ, Sabath LD. Increased minimum inhibitory concentrations with anaerobiosis for tobramycin, gentamicin, and amikacin, compared to latamoxef, piperacillin, chloramphenicol, and clindamycin. *Chemotherapy.* 1985;31(3):204-10. [Crossref] [PubMed]
42. Tuomanen E, Cozens R, Tosch W, Zak O, Tomasz A. The rate of killing of *Escherichia coli* by beta-lactam antibiotics is strictly proportional to the rate of bacterial growth. *J Gen Microbiol.* 1986;132(5):1297-304. [Crossref] [PubMed]
43. Mah TF. Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiol.* 2012;7(9):1061-72. [Crossref] [PubMed]
44. Podnecky NL, Rhodes KA, Schweizer HP. Efflux pump-mediated drug resistance in *Burkholderia*. *Front Microbiol.* 2015;6:305. [Crossref] [PubMed] [PMC]
45. Lister PD, Wolter DJ, Hanson ND. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(4):582-610. [Crossref] [PubMed] [PMC]
46. Livermore DM. Interplay of impermeability and chromosomal beta-lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36(9):2046-8. [Crossref] [PubMed] [PMC]
47. Li XZ, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(2):337-418. [Crossref] [PubMed] [PMC]
48. Schlisselberg DB, Kler E, Kisluk G, Shachar D, Yaron S. Biofilm formation ability of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium *acrAB* mutants. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;46(4):456-9. [Crossref] [PubMed]
49. Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, Wickes BL, López-Ribot JL. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother.* 2002;49(6):973-80. [Crossref] [PubMed]
50. Fenske DB, Cullis PR. Liposomal nanomedicines. *Expert Opin Drug Deliv.* 2008;5(1):25-44. [Crossref] [PubMed]
51. Vanić Z, Holoater AM, Skalko-Basnet N. (Phospho)lipid-based nanosystems for skin administration. *Curr Pharm Des.* 2015;21(29):4174-92. [Crossref] [PubMed]
52. Rukavina Z, Vanić Ž. Current trends in development of liposomes for targeting bacterial biofilms. *Pharmaceutics.* 2016;8(2). pii: E18. [Crossref] [PubMed] [PMC]
53. Riaz MK, Riaz MA, Zhang X, Lin C, Wong KH, Chen X, et al. Surface functionalization and targeting strategies of liposomes in solid tumor therapy: a review. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1). pii: E195. [Crossref] [PubMed] [PMC]
54. Torchilin V, Klibanov A, Huang L, O'Donnell S, Nossiff N, Khaw B. Targeted accumulation of polyethylene glycol-coated immunoliposomes in infarcted rabbit myocardium. *FASEB J.* 1992;6(9):2716-9. [Crossref] [PubMed]
55. Northfelt DW, Martin FJ, Working P, Volberding PA, Russell J, Newman M, et al. Doxorubicin encapsulated in liposomes containing surface-bound polyethylene glycol: pharmacokinetics, tumor localization, and safety in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J Clin Pharmacol.* 1996;36(1):55-63. [Crossref] [PubMed]
56. Willis M, Forssen E. Ligand-targeted liposomes. *Adv Drug Deliv Rev.* 1998;29(3):249-71. [Crossref] [PubMed]
57. Catuogno C, Jones MN. The antibacterial properties of solid supported liposomes on *Streptococcus oralis* biofilms. *Int J Pharm.* 2003;257(1-2):125-40. [Crossref] [PubMed]
58. Mugabe C, Azghani AO, Omri A. Liposome-mediated gentamicin delivery: development and activity against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients. *J Antimicrob Chemother.* 2005;55(2):269-71. [Crossref] [PubMed]
59. Drulis-Kawa Z, Gubernator J, Dorotkiewicz-Jach A, Doroszkiewicz W, Kozubek A. In vitro antimicrobial activity of liposomal meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Int J Pharm.* 2006;315(1-2):59-66. [Crossref] [PubMed]
60. Meers P, Neville M, Malinin V, Scotto A, Sardaryan G, Kurumunda R, et al. Biofilm penetration, triggered release and in vivo activity of inhaled liposomal amikacin in chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infections. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(4):859-68. [Crossref] [PubMed]
61. Halwani M, Yebio B, Suntres Z, Alipour M, Azghani A, Omri A. Co-encapsulation of gallium with gentamicin in liposomes enhances antimicrobial activity of gentamicin against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62(6):1291-7. [Crossref] [PubMed]
62. Alipour M, Suntres ZE, Omri A. Importance of DNase and alginate lyase for enhancing free and liposome encapsulated aminoglycoside activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(2):317-25. [Crossref] [PubMed]
63. Zhou TH, Su M, Shang BC, Ma T, Xu GL, Li HL, et al. Nano-hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ceramics scaffolds loaded with cationic liposomal ceftazidime: preparation, release characteristics in vitro and inhibition to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Drug Dev Ind Pharm.* 2012;38(11):1298-304. [Crossref] [PubMed]
64. Alhajjan M, Alhariri M, Omri A. Efficacy and safety of liposomal clarithromycin and its effect on *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(6):2694-704. [Crossref] [PubMed] [PMC]
65. Kawai A, Yamagishi Y, Mikamo H. In vitro efficacy of liposomal amphoterin B, micafungin and fluconazole against non-albicans *Candida* species biofilms. *J Infect Chemother.* 2015;21(9):647-53. [Crossref] [PubMed]
66. Dong D, Thomas N, Thierry B, Vreugde S, Prestidge CA, Wormald PJ. Distribution and inhibition of liposomes on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *PLoS One.* 2015;10(6):e0131806. [Crossref] [PubMed] [PMC]
67. Meng Y, Hou X, Lei J, Chen M, Cong S, Zhang Y, et al. Multi-functional liposomes enhancing target and antibacterial immunity for antimicrobial and anti-biofilm against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharm Res.* 2016;33(3):763-75. [Crossref] [PubMed]
68. Sugano M, Morisaki H, Negishi Y, Endo-Takahashi Y, Kuwata H, Miyazaki T, et al. Potential effect of cationic liposomes on interactions with oral bacterial cells and biofilms. *J Liposome Res.* 2016;26(2):156-62. [PubMed]
69. Rivero Berti I, Dell'Arciprete ML, Dittler ML, Miñan A, Fernández Lorenzo de Mele M, Gonzalez M. Delivery of fluorophores by calcium phosphate-coated nanoliposomes and interaction with *Staphylococcus aureus* biofilms. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2016;142:214-22. [Crossref] [PubMed]
70. Zahra MJ, Hamed H, Mohammad RY, Nosratollah Z, Akbarzadeh A, Morteza M. Evaluation and study of antimicrobial activity of nanoliposomal meropenem against *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2017;45(5):975-80. [Crossref] [PubMed]
71. Dias-Souza MV, Soares DL, Dos Santos VL. Comparative study of free and liposome-entrapped chloramphenicol against biofilms of potentially pathogenic bacteria isolated from cooling towers. *Saudi Pharm J.* 2017;25(7):999-1004. [Crossref] [PubMed] [PMC]

72. Alhariri M, Majrashi MA, Bahkali AH, Almajed FS, Azghani AO, Khiyami MA, et al. Efficacy of neutral and negatively charged liposome-loaded gentamicin on planktonic bacteria and biofilm communities. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:6949-61. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
73. Ye T, Sun S, Sugianto TD, Tang P, Parumasivam T, Chang YK, et al. Novel combination proliposomes containing tobramycin and clarithromycin effective against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int J Pharm*. 2018;552(1-2):130-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
74. Vanič Ž, Rukavina Z, Manner S, Fallarero A, Uzelac L, Kralj M, et al. Azithromycin-liposomes as a novel approach for localized therapy of cervicovaginal bacterial infections. *Int J Nanomedicine*. 2019;14:5957-76. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
75. Li D, Chen S, Dou H, Wu W, Liu Q, Zhang L, et al. Preparation of cefquinome sulfate cationic proliposome and evaluation of its efficacy on *Staphylococcus aureus* biofilm. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2019;182:110323. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]