



# TIP TEKNO'17

TIP TEKNOLOJİLERİ KONGRESİ

12-14 Ekim 2017 / TRABZON

Karadeniz Teknik Üniversitesi, Prof.Dr. Osman Turan Kongre Merkezi



Biyomedikal ve Klinik  
Mühendisliği Derneği



Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü  
Bilgisayar Mühendisliği Bölümü

Biyomedikal Optik

13 Ekim 2017 - 11.00-12.30 - Salon A

# Yeni Porfirin Türevleri İle Fotoinaktivasyon: Çoklu İlaç Dirençli *Escherichia coli* Üzerinde In Vitro Çalışma

## Photoinactivation with Novel Porphyrin Derivatives: An in Vitro Study on Multi-drug Resistant *Escherichia coli*

Ayşe Akbıyık<sup>1</sup>, Hüseyin Taşlı<sup>1</sup>, Nermin Topaloğlu<sup>2</sup>, Vildan Alptüzün<sup>3</sup>, Sülünay Parlar<sup>3</sup>

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye

[ayseakbyk@hotmail.com](mailto:ayseakbyk@hotmail.com), [huseyintasli@gmail.com](mailto:huseyintasli@gmail.com)

Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi,

İzmir, Türkiye

[nermin.topaloglu@ikc.edu.tr](mailto:nermin.topaloglu@ikc.edu.tr)

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye

[vildan.alptuzun@ege.edu.tr](mailto:vildan.alptuzun@ege.edu.tr), [sulunay.parlar@ege.edu.tr](mailto:sulunay.parlar@ege.edu.tr)

**Özetçe**—Bu çalışmada, sentezini gerçekleştirdiğimiz dört katyonik porfirin türevleri (KPT) ile in vitro koşullarda gerçekleştirilen antimikrobiyal fotodinamik tedavi (aPDT)'nin çoklu ilaç direnç (ÇİD)'li *Escherichia coli* üzerindeki bakterisidal etkinliğin incelenmesi amaçlanmıştır. Farklı fotosensitizan konsantrasyonları ve farklı enerji yoğunlukları kullanılarak gerçekleştirilen aPDT deneylerinde bakteriyel sağkalımda %99,9999'un üzerinde azalmalar saptandı. MIC değerlerinin altındaki konsantrasyonlarda KPT ile gerçekleştirilen aPDT ÇİD *E.coli* klinik izolatlarına karşı güçlü bir antimikrobiyal etkinlik gösterme potansiyelindedir.

**Anahtar Kelimeler** — antimikrobiyal fotodinamik tedavi; porfirin; çoklu ilaç direnci; *Escherichia coli*.

**Abstract**— In the study, it was aimed to investigate the bactericidal activity of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) performed on *in-vitro* conditions with novel cationic-porphyrin derivatives (CPDs) on multidrug resistant *E. coli*. In aPDT experiments performed with different concentrations of photosensitizer and different energy densities, 99.9999% or more decrease in bacterial survival was detected. aPDT carried out with CPDs at concentrations below the MIC values has the potential to display a strong antimicrobial activity against the MDR *E.coli* clinical isolates.

**Keywords** — antimicrobial photodynamic therapy; porphyrin; multiple drug resistance; *Escherichia coli*.

### I. GİRİŞ

Günümüzde, çok sayıda mikroorganizma türünde gelişen yaygın antibiyotik direnci küresel çapta tehdit haline gelmiş olup, bu durum alternatif antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesi arayışını doğurmuştur. Başlangıçta yalnızca tümörlerin tedavisine için onaylanan fotodinamik tedavi, antibiyotiğe dirençli enfeksiyonların tedavisinde alternatif olma potansiyeli nedeniyle ilgi çekmeye başlamıştır (Thomas vd., 2015). Antimikrobiyal fotodinamik tedavi (antimicrobial photodynamic therapy-aPDT) toksik olmayan boya veya fotosensitizan ve fotosensitizanı uyaran düşük yoğunlukta zararsız görülebilir ışık kombinasyonu kullanılarak, mikrobiyal hücreleri öldürme prensibine dayanan bir tedavi metodudur (Vera vd., 2012). aPDT gram pozitif bakterilere göre gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisinin sınırlı olduğu bilinen bir gerçektir. Bu antimikrobiyal sınırlılık gram negatif bakterilerdeki dış membran yapısı özelliğinden kaynaklanmaktadır. Gram negatif bakterilerin lipopolisakarit yapıdaki hücre duvarı, yalnızca hidrofilik parçacıkların hücre içerisine geçişine izin vermektedir. Gram negatif bakteriler üzerinde güçlü bir antimikrobiyal etki sağlayabilecek aPDT'de, bakterinin içerisine rahatlıkla girebilen uygun özellikte fotosensitizanın kullanılması kilit



## Biyomedikal Optik

13 Ekim 2017 - 11.00-12.30 - Salon A

öneme sahiptir. Katyonik özellikteki porfirinlerin, ilave permeabilizasyon ajan olmadan gram-negatif bakterilerde fotoinaktivasyon sağladığı bildirilmektedir (Nitzan ve Ashkenazi, 2001).

Porfirinler, dört pirol halkasının metilen (-HC=) köprüleri ile bir birine bağlanmasıyla oluşan makrohalkalı aromatik moleküllerdir. Hayvanların vücut sıvıları ve dışkıları, yumurta kabukları, kuşların tüyleri gibi doğal ortamlardan sıklıkla izole edilebilen porfirinler, protoporfirin IX (PPIX)'dan köken almışlardır. Porfirinlerin, bakteriler de dahil canlılar için yaşamsal önemi büyüktür. Hemoglobinin ve miyoglobinin yapısında bulunan demir-PPIX veya "hem (Fe<sup>2+</sup> PPIX )/hemin (Fe<sup>3+</sup> PPIX)" bileşiği oksijenazların, peroksitlerin ve katalazların ko-faktörü rollünün yanısıra oksijen bağlanması, nitrik oksit sentetazlar ve sitokromlarda elektronların transferi gibi önemli biyolojik süreçlere katılmaktadır. *E.coli* de dahil çoğu bakteri demir ihtiyacını Fe<sup>2+</sup>PPIX'dan karşılamaktadırlar. Dolayısı ile gram pozitif ve gram negatif bakteriler, hücre içine Fe<sup>2+</sup>PPIX alım mekanizmalarına sahiptir. Araştırmacılar, gram negatif bakterilerde Fe<sup>2+</sup>PPIX alımı hem reseptörü kompleksi ve TonB ve ExbBD proteinleriyle gerçekleştiğini tespit etmişlerdir (Stojiljkovic vd., 2001). Araştırmalarda, doğal yada porfirin-selüloz-nanokristaller veya antibiyotik gibi konjugatların kullanıldığı porfirin analoglarının Fe<sup>2+</sup>PPXI-alım mekanizmaları ile bakteri içerisine rahatlıkla nüfus ettiği; elektronları aktarma, peroksidad ve oksidad reaksiyonlarını katalizleme, fotonları absorbe etme, reaktif oksijen türlerinin üretimi gibi bir takım biyokimyasal süreçlere bağlı olarak antimikrobiyal etkinlik gerçekleştiği belirlenmiştir (Carpenter vd., 2012; Lippert vd., 2017; Stojiljkovic vd., 2001). Bu çalışmada, sentezini gerçekleştirildiğimiz KPT bileşikleri ile gerçekleştirilen aPDT'nin ÇİD pateni gösteren *E.coli* klinik izolatları üzerindeki antimikrobiyal aktivitenin incelenmesi amaçlanmıştır.

## II. YÖNTEM

### A. Porfirin Türevlerinin Sentezi

Bu çalışmada fotosensitizan olarak, literatürde yer almayan yeni KPT sentezlendi. P-M, P-E, P-PN, P-PL olmak üzere dört yeni KPT'nin sentezi literatürdeki yonteme göre yapıldı (Gomes vd., 2011).Çalışmada kullanılacak KPT'lerin 30 ml'lik fosfat tampon salin (Phosphate-buffered saline-PBS) içerisinde çözünmesi sağlandı. Hazırlanan KPT çözeltileri ışık geçirmeyen alüminyum folyo ile sarılarak +4 °C sıcaklıkta muhafaza edildi. Her bir aPDT deneyi öncesinde bu çözeltilerden belirli konsantrasyonlarda (µM/ml) taze stok solüsyonları hazırlandı. PBS ile hazırlanan stok solüsyonlar deney sürecinde karanlık alanda muhafaza edildi.

### B. Bakteri Suşu

Araştırmada, antibiyotik direnç profilli yönünden farklılık gösteren ampisilin, amoksisilin klavulanat, ciprofloksasin, gentamisin, sülfametoksazol, ertapenem,

sefepim, seftriakson, seftazidim, aztreonam, sefuroksim, piperacillin/tazobactam, netilmisin, amikasinine karşı dirençli olan 2 ÇİD *E.coli* klinik izolatu kullanıldı. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanmasında, -80 °C'de muhafaza edilen stok kültürlerden alınan bakteri suşları triptik soy agar (TSA) besiyerine ekimi yapılarak 37°C'de bir gecelik inkübasyona bırakıldı. Sonrasında, kültürden tek koloni alınıp triptik soy broth (TSB) sıvı besiyerine ekimi yapılarak, 37°C'de bir gecelik inkübasyona bırakıldı. Bakteri hücreleri santrifüjlendikten (4°C'de 10 dakika 3000 rpm) sonra oluşan pelet PBS'de süspansiyon edildi ve ~10<sup>9</sup> cfu/ml (600 nm: 0.6-0.8 optik yoğunluk) olacak şekilde bakteri süspansiyonu hazırlandı.

### C. Lazer Cihazı ve Optik Düzenek

Çalışmada ışık kaynağı olarak bilgisayar kontrollü 655-nm diyot lazer kullanıldı (PSU III.LED; Changchen New Industries optoelectronics Tech Ltd.). Optik fiberlerden çıkan ışığın çıkış gücü 41.5 milliwatt (mW)'tır.

### D. Fotoinaktivasyon

Farklı konsantrasyonlarda fotosensitizanlar ve farklı enerji yoğunluklarında lazer ışığı kombinasyonları kullanılan her bir aPDT deneyinde çalışma grupları yalnızca lazerin uygulandığı "Lazer [L] Grubu", yalnızca fotosensitizanın uygulandığı "Fotosensitizan [PS] Grubu" her ikisinin birlikte uygulandığı "Antimikrobiyal Fotodinamik Terapi [aPDT] Grubu" ve PBS dışında herhangi bir uygulamanın yapılmadığı "Kontrol Grubu [K]" olmak üzere dört gruba ayrıştırıldı.

aPDT deneyleri genel hatları ile şu şekildedir: [PS], [aPDT], [L] ve [K] grubu olarak belirlenen 96 kuyucuklu plaklarının her birinin belirli kuyucuklarına bakteri süspansiyonundan 50 µl transfer edildi. [PS] ve [aPDT] grubu plaklarının bakteri bulunan kuyucuklarına spesifik konsantrasyonlarda 50 µl'lik stok süspansiyonlardan fotosensitizan eklendi. [L] ve [K] grubu plaklarının bakteri bulunan kuyucuklarına ise 50 µl PBS eklendi. Her dört grup karanlık alanda 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. [L] ve [aPDT] grubu plakaları lazer ışığına maruz bırakıldı. Işık uygulaması sonrasında tüm gruplardaki bakteri süspansiyonları, seri dilüsyon metodu ile PBS'de seyreltildi. Seyreltilenlerden 100 µl alikot alınıp TSA üzerine ekilip ve 37°C'de karanlık alanda bir gecelik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında cfu/ml'de bakteri sağkalımı hesaplandı. Her bir deney 3'lü kopyalar halinde üç kere tekrarlandı (Topaloglu vd., 2013).

## III. BULGULAR VE TARTIŞMA

### A. Katyonik Yeni Porfirin Türevlerinin Antimikrobiyal Etkinlikleri

Araştırmada, minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) metodu kullanılarak yeni KPT'nin ÇİD *E.coli*-1 klinik izolatu ve standart *E.coli* suşu üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri değerlendirildi. ÇİD *E.coli*-1'in standart suşa göre sentezi gerçekleştirilen yeni KPT'lere

## Biyomedikal Optik

13 Ekim 2017 - 11.00-12.30 - Salon A

olan duyarlılıkları daha düşük olduğu saptandı. KPT'nin ÇİD *E.coli* üzerindeki MİK, sırasıyla P-M'de 1250 µg/ml (1841.38 µM/ml), P-E'de 625 µg/ml (850.40 µM/ml), P-PN'de 1250 µg/ml (1580.16 µM/ml), P-PL'de 5000 µg/ml (5847.61 µM/ml)'dir (Tablo 1).

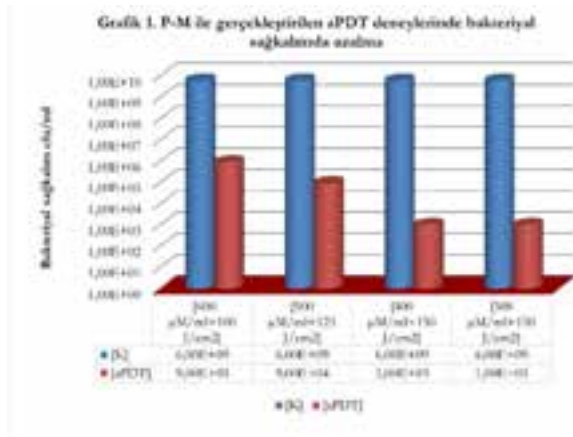
KPT <sup>1</sup>	Klinik İzolat	
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	ÇİD <sup>2</sup> <i>Escherichia coli</i> -1
P-M	312.5	1250
P-E	312.5	625
P-PN	78.13	1250
P-PL	1250	5000
CIP (0.004-0.015) <sup>2</sup>	<0.016	2

<sup>1</sup>Katyonik Porfirin Türleri: başlangıç konsantrasyonu 5.000 µg/ml. <sup>2</sup>Siprofloksasin (CIP) başlangıç konsantrasyonu 16 µg/ml. Çoklu İlaç Dirençli

### B. Fotoinaktivasyonun Klinik İzolatlar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinliği

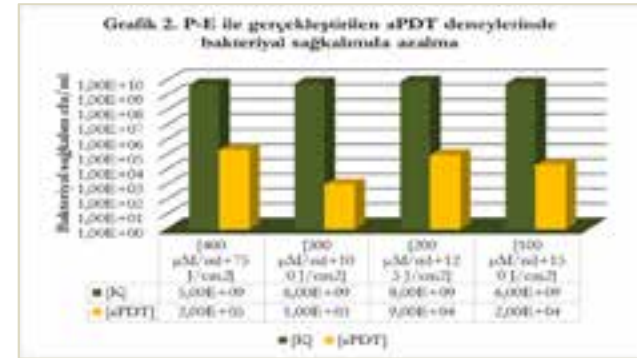
Araştırmada, öncelikle ÇİD *E.coli*-1 suşu üzerinde farklı konsantrasyonlarda KPT ve farklı enerji yoğunluklarında lazer ışığı kombinasyonları ile gerçekleştirilen aPDT deneylerinde antimikrobiyal etkinlik belirlendi. Sonrasında, öncü deneylerden elde edilen parametreler doğrultusunda aPDT'nin diğer klinik izolat olan ÇİD *E.coli*-2 üzerindeki antimikrobiyal etkinliği test edildi.

Fotosensitizan olarak P-M'in kullanıldığı aPDT deneylerinde  $\leq 75 \text{ J/cm}^2 + \leq 600 \text{ µM/ml}$  kombinasyonları ile gerçekleştirilen aPDT'lerde bakteriyel sağkalımda önemli ölçüde bir düşüş görülmedi. Deneylerde  $[600 \text{ µM/ml} + 100 \text{ J/cm}^2]$ ,  $[500 \text{ µM/ml} + 125 \text{ J/cm}^2]$  ve  $[300 + 150 \text{ J/cm}^2]$  ve  $[400 \text{ µM/ml} + 150 \text{ J/cm}^2]$  aPDT kombinasyonlarında ÇİD *E.coli*-1 sağkalımındaki azalmalar sırasıyla 4 log, 5 log, >6 log ve >6 log'dur (Grafik 1).

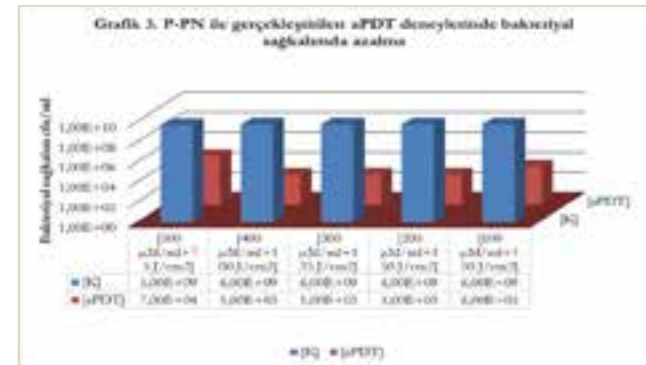


P-E ile gerçekleştirilen aPDT deneylerinde,  $[100-500 \text{ µM/ml} + \leq 75 \text{ J/cm}^2]$  lazer dozu kombinasyonlarının ÇİD *E.coli* 1 üzerindeki antimikrobiyal etkinliğin düşük olduğu görüldü.  $[400 \text{ µM/ml} + 75 \text{ J/cm}^2]$ ,  $[300 \text{ µM/ml} + 100 \text{ J/cm}^2]$ ,

$[200 \text{ µM/ml} + 125 \text{ J/cm}^2]$  ve  $[100 \text{ µM/ml} + 150 \text{ J/cm}^2]$  aPDT kombinasyonlarında sırasıyla 4 log, 6 log, 5'er log'luk ÇİD *E.coli*-1 sağkalımında azalmalar gerçekleşti (Grafik 2).  $125 \text{ J/cm}^2$  lazer dozunun kullanıldığı aPDT deneylerinde bakteriyel sağkalımında azalma fotosensitizan konsantrasyonunun artışına paralellik göstermiş olup,  $200 \text{ µM/ml}$ 'de 5 log, 300 ve  $400 \text{ µM/ml}$  konsantrasyonlarında ise 6 log'un üzerinde azalmalar görüldü.



P-PN'nin fotosensitizan olarak kullanıldığı aPDT deneylerinde  $[500 \text{ µM/ml} + 75 \text{ J/cm}^2]$  aPDT kombinasyonu *E.coli*-1 sağkalımında 5 log'luk azalma sağlarken,  $[400 \text{ µM/ml} + 100 \text{ J/cm}^2]$ ,  $[300 \text{ µM/ml} + 125 \text{ J/cm}^2]$  ve  $[200 \text{ µM/ml} + 150 \text{ J/cm}^2]$  kombinasyonlarının her biri 6 log'un üzerinde azalmalar sağladı.  $100 \text{ µM/ml}$  P-PN konsantrasyonu ve  $150 \text{ J/cm}^2$  enerji dozunun çalışıldığı deneylerde ise bakteriyel sağkalımda azalma 6 log'dur (Grafik 3).



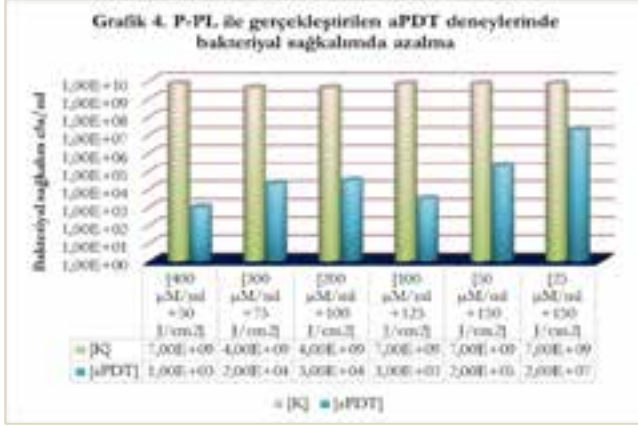
PL ile yapılan deneylerde,  $[400 \text{ µM/ml} + 50 \text{ J/cm}^2]$  aPDT kombinasyonu ÇİD *E.coli* 1'de 6 log'un üzerinde bir azalma sağladı.  $[300 \text{ µM/ml} + 75 \text{ J/cm}^2]$  ve  $[200 \text{ µM/ml} + 100 \text{ J/cm}^2]$  kombinasyonlarının her birinde bakteriyel sağkalımında 5'er log'luk düşüşler görülürken,  $[100 \text{ µM/ml} + 100 \text{ J/cm}^2]$  kombinasyonunun da ise bakteriyel azalma 6 log'dur.  $150 \text{ J/cm}^2$  ile gerçekleştirilen aPDT deneylerinde bakteriyel sağkalımdaki düşüş  $50 \text{ µM/ml}$ 'de 4 log,  $25 \text{ µM/ml}$ 'de 2 log'dur (Grafik 4).

ÇİD *E.coli*-1 üzerinde önemli ölçüde antimikrobiyal etki gösteren aPDT parametrelerinin ÇİD *E.coli*-2 üzerindeki antimikrobiyal etkisi şu şekildedir:  $650 \text{ µM/ml}$

## Biyomedikal Optik

13 Ekim 2017 - 11.00-12.30 - Salon A

P-M ve 125 J/cm<sup>2</sup> lazer dozu kombinasyonu ÇİD *E.coli-2*'de 6 log'luk bir azalma sağladı. 200 µM/ml P-E ve 125 J/cm<sup>2</sup> lazer dozu ile gerçekleştirilen aPDT deneylerinde ÇİD *E.coli-2* sağkalımında 4 log'luk azalma görüldü. [500 µM/ml P-PN+ 125 J/cm<sup>2</sup>], [200 µM/ml+100 J/cm<sup>2</sup>] kombinasyonları ÇİD *E.coli-2* klinik izolatında >6 log'un üzerinde azalmalar sağladı.



Çalışmamızda, *E.coli* klinik izolatlarının üzerinde KPT ile gerçekleştirilen aPDT'lerde antimikrobiyal etkinliğin fotosensitizan konsantrasyonu ve lazer enerji dozuna bağlı olarak değişim gösterdiği, yüksek enerji dozlarında düşük konsantrasyonlardaki fotosensitizanların güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği saptandı. Dosselli ve vd. (2014)'nin porfirin-katyonik antimikrobiyal peptid (KAP), magainin ve buforin konjugatları ile 390-460 nm dalga boyunda mavi ışık kullanılarak gerçekleştirildikleri aPDT deneylerinde 13.5 J/cm<sup>2</sup>'de *E.coli* sağkalımında 7 log'luk azalmalar saptamışlardır. Çalışmamızda benzer antimikrobiyal etkinlik, Dosselli vd. (2014)'nin çalışmasındaki aPDT parametrelerine göre yüksek parametreler kullanılarak elde edilmiştir. Diğer yandan Dosselli vd. (2014)'nin çalışmasında gerek dirençli olmayan *E.coli* suşu üzerinde çalışılması gerekse de bakterinin fotosensitizanın absorpsiyonunda kullandıkları inkübasyon süresinin 60 dk olması gibi aPDT parametrelerinde çalışmamıza göre belirgin farklılıklar söz konusudur. Benzer şekilde aPDT parametreleri noktasında farklılıklar gösteren Almeida vd. (2014)'nin çalışmasında 40 Wm<sup>-2</sup> 380-700 nm dalga boyunda beyaz ışık ve katyonik yapıda bir porfirin olan tetra-Py+-Me kullanılmıştır. Bu çalışmada, 5.0 µM /ml fotosensitizan konsantrasyonunda 270 dk'luk lazer maruziyetinin ÇİD *E.coli* suşu üzerinde 6 log'luk bir azalma sağladığı tespit edilmiştir. Gerçekleştirdiğimiz aPDT deneylerinde güçlü bir antimikrobiyal etki yaratan aPDT parametrelerinin diğer çalışmalara göre yüksek olması dikkat çekmektedir. Ancak, sentezlediğimiz KPT ile >6 log'un üzerinde azalmalar sağlayabilen aPDT parametrelerinin işlevselliğinin anlaşılması, bu parametrelerin fibroblast vb. canlı hücreleri üzerindeki toksisitenin araştırılmasını gerektirmektedir.

## IV. SONUÇ

Farklı enerji yoğunlukları kullanılarak gerçekleştirilen aPDT deneylerinde bakteriyel sağkalımda %99,9999'lara varan azalmalar saptandı. MIC değerlerinin altındaki konsantrasyonlarda KPT ile gerçekleştirilen aPDT ÇİD *E. coli* klinik izolatlarına karşı güçlü bir antimikrobiyal etkinlik gösterme potansiyelindedir. Tek başına olan antimikrobiyal etkinlikleri gözardı edilecek düzeyde olan KPT'nin antimikrobiyal etkisini maksimum düzeyde gösterdiği konsantrasyonların canlı hücreleri üzerindeki toksisitenin araştırılması önerilmektedir.

## TEŞEKKÜR

Deneyler sırasında desteklerini esirgemeyen Araş. Gör. Abdurrahman Aygül'e, Nur Çobanoğlu'na ve "hayatlarımızın kesişmesi noktasında şükrettiğim", hevesli ve başarılı Esmâ Yıldız'a çok teşekkür ederiz.

## KAYNAKÇA

- [1] Almeida, J., Tomé, J. P. C., Neves, M. G. P. M. S., Tomé, A. C., Cavaleiro, J. a S., Cunha, Â., ... Almeida, A., "Photodynamic inactivation of multidrug-resistant bacteria in hospital wastewaters: influence of residual antibiotics", *Photochemical & Photobiological Sciences*, 13(4), 626-33, 2014.
- [2] Carpenter, BL., Feese, E., Sadeghifar, H., Argyropoulos, D.S. and Ghiladi, R.A., "Porphyrin-Cellulose Nanocrystals: A Photobactericidal Material That Exhibits Broad Spectrum Antimicrobial Activity" *Photochemistry and Photobiology* 88(3): 527-36, 2012.
- [3] Dosselli, R., Ruiz-González, R., Moret, F., Agnolon, V., Compagnin, C., Mognato, M., ... Reddi, E., "Synthesis, Spectroscopic, and Photophysical Characterization and Photosensitizing Activity toward Prokaryotic and Eukaryotic Cells of Porphyrin-Magainin and -Bofurin Conjugates", *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(4), 1403-1415, 2014.
- [4] Lippert, R., Shubina, T. E., Vojnovic, S., Pavic, A., Veselinovic, J., Nikodinovic-Runic, J., Stankovic, N., Ivanović-Burmazović, I, "Redox Behavior and Biological Properties of Ferrocene Bearing Porphyrins", *Journal of Inorganic Biochemistry* 171: 76-89, 2017.
- [5] Nitzan, Y., and Ashkenazi, H., "Photoinactivation of *Acinetobacter baumannii* and *Escherichia coli* B by a cationic hydrophilic porphyrin at various light wavelengths", *Current Microbiology*, 42(6):408-414, 2001.
- [6] Stojiljkovic, I., Evavold, B. D. and Kumar V., "Antimicrobial Properties of Porphyrins", *Exp. Opin. Invest. Drugs* 10(2): 309-20, 2001.
- [7] Thomas, M., Craik, J. D., Tovmasyan, A., Batinic-Haberle, I. and Benov, L. T., "Amphiphilic cationic Zn-porphyrins with high photodynamic antimicrobial activity", *Future Microbiology*, 10(5), 709-24, 2015.
- [8] Topaloglu, N., Gulsoy, M. And Yuksel, S. 2013. "Antimicrobial Photodynamic Therapy of Resistant Bacterial Strains by Indocyanine Green and 809-nm Diode Laser", *Photomed Laser Surg*, 31(4), 155-162, 2013.
- [9] Vera, D.M., Haynes, M.H., Ball, A.R., Dai, T., Astrakas, C., Kelso, M.J., Hamblin, M.R., Tegos, G.P., "Strategies to potentiate antimicrobial photoinactivation by overcoming resistant phenotypes", *Photochem Photobiol*, 88(3), 499-511, 2012.