

PSEUDOMONAS AERUGINOSA SUŞLARININ ANTİKANDİDAL AKTİVİTELERİ

THE ANTICANDIDAL ACTIVITY OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS

Nimet YİĞİT¹ ve A. Esin AKTAŞ²

Atatürk Üniversitesi, Erzurum

¹ Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Bölümü

² Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Anahtar Sözcükler: *Pseudomonas aeruginosa*, antikandidal aktivite, *Candida* türleri

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, anticandidal activity, *Candida* spp.

Geliş: 12 Şubat 2008

Kabul: 27 Ekim 2008

ÖZET

Bu çalışmada, değişik klinik örneklerden soyutlanan 120 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun *Candida* türlerine karşı *in vitro* antikandidal aktivitesinin saptanması amaçlanmıştır. *Candida* suşları olarak *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 90018 ve *Candida glabrata* ATCC 90030 kullanılmış ve *P. aeruginosa* suşlarının antikandidal aktivitesi kanlı agar ve Sabouraud-dekstroz-agar (SDA) besiyerlerinde Kerr'in yöntemi kullanılarak incelenmiştir. *Candida* suşlarında üremenin olmaması tam inhibisyon, kontrole göre daha az olması ise kısmi inhibisyon olarak değerlendirilmiştir. Suşların kanlı agar kullanıldığında *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*'ya karşı gösterdikleri tam inhibisyon oranları sırasıyla %54.1, %51.6 ve %50 şeklindedir. Bu sayılar SDA kullanıldığında ise %52.5, %49.1 ve %48.3 olarak belirlenmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının çoğunda antikandidal aktivite bulunduğu saptanmış ve bu durumun klinik önemi irdelenmiştir.

SUMMARY

The purpose of this study was to investigate the anticandidal activity of *Pseudomonas aeruginosa* strains. The *in vitro* anticandidal activity of 120 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from various clinical specimens against *Candida* species was investigated. *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 90018 and *Candida glabrata* ATCC 90030 were used as *Candida* strains and anticandidal activity of *P. aeruginosa* strains was examined by using Kerr's method on blood agar and Sabouraud-dextrose-agar (SDA). Having no growth of *Candida* strains was considered as total inhibition and the decrease of growth compared to the control was accepted as partial inhibition. Total inhibition rates against *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. glabrata* obtained by using blood agar were 54.1%, 51.6% and 50%, respectively. When SDA was used, the rates were detected as 52.5%, 49.1% and 48.3%, respectively. In conclusion, in most strains of *P. aeruginosa* an anticandidal activity was detected. The clinical implications of this activity was discussed.

GİRİŞ

Pseudomonas'lar piyosyanin, pirolnitrit ve psödomonik asit gibi antibiyotik molekülleri üreten geniş ve farklı grup mikro-organizmalardır. *Pseudomonas*'ların salgıladığı fitotoksin, slime ve antifungal maddeler gibi bazı sekonder metabolitler bu mikro-organizmalara doğal yaşam ortamlarında bazı avantajlar kazandırmaktadır.

Pseudomonas aeruginosa'nın slime üretimi özellikle kistik fibrozis hastalarında, fitotoksinler bitkiler üzerinde, *P. cepacia*'nın ürettiği antifungal bileşikler ise yine farklı canlılar üzerindeki kolonizasyonu sağlamaktadır (1-3).

Pseudomonas aeruginosa suşları piyosyanin, fenazin-1-karboksilik asit, 1-hidroksil fenazin ve fenazin-1-karboksiamit gibi redoks aktif fenazin bileşikleri

üretmektedir (1). *Pseudomonas aeruginosa*'nın antifungal etkili bir madde ürettiği ilk defa 1994 yılında Kerr (2) tarafından klinik bir gözlemede, daha sonra ise *in vitro* olarak gösterilmiştir.

Bu çalışmada değişik klinik örneklerden soyutlanan *P. aeruginosa* suşlarının *in vitro* antikandidal aktivitesi araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bakteri suşları. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde değişik servislerde yatan hastaların klinik örneklerinden soyutlanan 120 *P. aeruginosa* suşu çalışma kapsamına alınmıştır. Suşların 40 (%33.3)'i trakeal aspirat, 32 (%26.6)'si idrar, 26 (%21.6)'i yara sürüntüsü ve 22 (%18.3)'si kan kültürlerinden izole edilerek klasik mikrobiyolojik yöntemler ile tanınmıştır.

Candida suşları. *Candida* suşları olarak *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 90018 ve *C. glabrata* ATCC 90030 kullanılmıştır.

Antikandidal aktivitenin araştırılması. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antikandidal aktivitesi Kerr'in (2) önerdiği yöntem kullanılarak incelenmiştir. Çalışma kapsamına alınan bakterilerin 24 saatlik kültürlerinden %0.09'luk NaCl kullanılarak 10^8 Koloni Oluşturan Ünite (KOÜ) süspansiyonları hazırlanmış ve bu süspansiyonlardan 30 µl alınarak petriyelerdeki kanlı ve Sabouraud-dekstroz-agar (SDA) besiyerlerine çap boyunca eni 1 cm olacak şekilde yayılmıştır. Besiyerleri 30⁰ C'de 24 saat inkübe edildikten sonra makroskopik üreme lam ile kazınmış kalan mikroskopik artıkların yok edilmesi için kloroform emdirilmiş 5 cm çapındaki filtre kağıtları besiyeri yüzeyine konularak 30 dakika süre ile bekletilmiştir. Filtre kağıtları kaldırıldıktan sonra kloroformun uçması için 1-2 dakika beklenildikten sonra aynı besiyerlerine *Candida* suşlarının 10^6 KOÜ süspansiyonlarından ilk inokulum bölgesine dik açı oluşturacak şekilde ekim yapılmış ve plaklar 30⁰ C'de 24 saat inkübe edilmiştir.

Sonuçları değerlendirilmesi. İnkübasyon süresinin bitiminde bakteri ekimi ile kesişen yerde *Candida* suşlarının ürememesi tam inhibisyon, kontrole göre daha az üreme olması ise kısmi inhibisyon olarak değerlendirilirken, üremenin kontrol ile aynı şekilde olması ise inhibisyon olmaması olarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel analiz. Kanlı ve SDA besiyerlerindeki sonuçlar arasında fark olup olmadığı ki-kare testi ile değerlendirilmiştir (1).

BULGULAR

Çalışmada kullanılan *P. aeruginosa* suşlarının kanlı agar kullanıldığında *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*'ya karşı gösterdikleri tam inhibisyon oranları sırasıyla %54.1, %51.6 ve %50 olarak bulunmuş; bu oranlar SDA kullanıldığında ise sırasıyla %52.5, %49.1 ve %48.3 olarak belirlenmiştir. Kısmi inhibisyon oranlarının ise, yine sırasıyla, kanlı agar besiyerinde %16.6, %18.3, %18.3 ve SDA'da %17.5, %18.3, %17.5 olduğu saptanmıştır. Kanlı agar ve SDA besiyerlerindeki sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Pseudomonas türlerinden *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. multivorans*, *P. aureofaciens* ve *P. pyrocinia* tıbbi literatürde antibiyotik üreten bakteriler olarak bilinmektedir. Piyosiyanın, pirolnitrit ve psödomonik asit bu antibiyotiklerin en iyi bilinenleridir. *Pseudomonas aeruginosa*'nın ürettiği piyosiyanın özellikle *C. albicans* ve *Aspergillus fumigatus* üzerinde etkili antifungal aktiviteye sahiptir (1, 2, 4-6). Piyosiyanın insan epitel hücrelerinde cAMP ve ATP düzeyinin azalmasına neden olmaktadır. Bu maddenin *C. albicans*'lar üzerindeki olası etkisinin *C. albicans*'ın hif oluşturmasını cAMP'ye bağlı bir şekilde azaltması olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda patojen olan *P. aeruginosa* suşlarının ürettiği Tip IV pili, fosfolipaz C ve fenaziner gibi bazı virulans faktörler *C.*

Tablo1. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının kanlı agar ve Sabouraud-dekstroz-agar (SDA) besiyerlerinde *Candida* türlerine karşı gösterdikleri antikandidal aktivite oranları

<i>Candida</i> suşları	Kanlı agar				SDA			
	Tam inhibisyon n	(%)	Kısmi inhibisyon n	(%)	Tam inhibisyon n	(%)	Kısmi inhibisyon n	(%)
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	65	54.1	20	16.6	63	52.5	21	17.5
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 90018	62	51.6	22	18.3	59	49.1	22	18.3
<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	60	50	22	18.3	58	48.3	21	17.5

albicans üzerinde öldürücü etkiye sahiptir. Hogan ve ark. (7) *P. aeruginosa* tarafından üretilen 3-okso-C12 homoserin lakton adlı maddenin *C. albicans*'in üremesini zorlaştırdığını belirlemiştir.

Araştırmamızda iki farklı besiyeri kullanarak uyguladığımız *in vitro* testlerde, değişik klinik örneklerden soyutladığımız 120 *P. aeruginosa* suşunun kanlı agar besiyerinde *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*'ya karşı gösterdiği tam inhibisyon oranları, sırasıyla, %54.1, %51.6 ve %50 olarak bulunmuş, bu oranlar SDA kullanıldığında ise %52.5, %49.1 ve %48.3 olarak belirlenmiştir. Konu ile ilgili yapılan diğer çalışmaları incelediğimizde, Kerr iki değişik çalışmasından ilkinde (8), kistik fibrozisli hasta grubundan soyutladığı 10 *P. aeruginosa* ve dokuz *B. cepacia* suşundan hepsinin *C. albicans*, dokuzunun *C. krusei* ve *C. parapsilosis* üzerinde tam inhibisyon sağlarken diğer *Candida* türleri için de değişen oranlarda inhibisyon gösterdiğini belirlemiştir. Kerr diğer çalışmasında (2), balgam kültürlerinden soyutladığı 10 *P. aeruginosa* suşunun hepsinin *C. albicans*, *C. kefir* ve *C. lusitanae* suşlarını, sekizinin *C. krusei*'yi tam olarak, yine sekizinin *C. parapsilosis*'i tam, ikisinin ise kısmen inhibe ettiğini belirlerken aynı *P. aeruginosa* suşlarının değişen sayılarda *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Aspergillus fumigatus*'a tam ve kısmi inhibitör etki gösterdiğini saptamıştır.

Erturan ve ark. (9) kistik fibrozisli hastaların balgamlarından soyutladıkları 49 *P. aeruginosa* suşunun 27'sinde (%55) tam, yedisinde (%14) kısmi; transplantasyon yapılan olguların idrarlarından soyutladıkları 48 *P. aeruginosa* suşunun 36'sında (%75) tam, dördünde (%8) kısmi olarak *C. albicans*'a karşı aktivite saptamışlardır. Yücesoy ve ark. (3) 50 *P. aeruginosa* suşunun *Candida* türleri üzerinde antifungal aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında; *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* türleri üzerinde kanlı agar ve SDA besiyerlerinde tam inhibisyon oranları sırasıyla %14-%18; %4-%8; %6-%2 olarak; kısmi inhibisyon oranları ise yine sırasıyla %12-%12; %28-%22; %20-%4 olarak saptamışlardır. Kaleli ve ark. (1) çalışmalarında; toplam 44 *P. aeruginosa* suşunun *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* ve *C. tropicalis* suşları üzerinde kanlı agar ve

SDA'daki tam inhibisyon oranlarını, sırasıyla, %41-%45; %34-%39; %34-%48; %25-%25; kısmi inhibisyon oranlarını ise %7-%11; %14-%9; %18-%5; %16-%16 olarak bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarının *C. albicans*, *C. parapsilosis* ve *C. glabrata*'ya karşı gösterdikleri kısmi inhibisyon oranları kanlı agar besiyerinde sırasıyla %16.6, %18.3 ve %18.3 olarak bulunmuş, bu oranlar SDA kullanıldığında ise %17.5, %18.3 ve %17.5 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımızı diğer çalışma sonuçları ile karşılaştırarak değerlendirdiğimizde, tam ve kısmi inhibisyon oranlarının diğer çalışmalarda sunulan oranlar ile uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda, her iki besiyerinde saptanan tam ve kısmi inhibisyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. *Pseudomonas aeruginosa*'nın *Candida* türleri üzerindeki antikandidal aktivitesinin *in vitro* olarak araştırılması için her iki besiyeride kullanılabilir. Bu bulgu diğer çalışmalarla da uyumludur (1-3).

Pseudomonas aeruginosa'nın ürettiği piyosiyanın *C. albicans*'a karşı doza bağımlı olarak inhibitör etki göstermekte, aynı şekilde *P. aeruginosa*'nın ürettiği piyoverdinin 1/16 dilüsyonunun *C. albicans*'in üremesinde inhibitör etki yapmaktadır. Bununla birlikte, *C. krusei*, *C. kefir*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis* ve *Saccharomyces cerevisiae* kökenlerinin de piyosiyanın ve 1-hidroksifenazinin ile inhibe edildiği belirlenmiştir (8, 10). Çalışmamızda *P. aeruginosa* suşlarının *C. albicans* üzerinde daha etkili antikandidal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer çalışmalarda da aynı bulguya rastlanılmıştır (1-3).

Sonuç olarak, çalışma kapsamında incelediğimiz *P. aeruginosa* suşlarının çoğu incelediğimiz *Candida* türleri üzerine antikandidal aktivite göstermiştir. *Pseudomonas* infeksiyonlarının tedavisi sonrasında olası antifungal etkinin ortadan kalkması ile oluşabilecek, özellikle *Candida* ve diğer mantar infeksiyonlarına karşı dikkatli olunması gerektiği, ayrıca *Pseudomonas*'ların ürettiği maddelerden yeni antifungallerin geliştirilmesinin mümkün olabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Kaleli İ, Cevahir N, Demir M, Yıldırım U, Şahin R. Anticandidal activity of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens. *Mycoses* **2007**; 50: 74-8.
2. Kerr JR. Suppression of fungal growth exhibited by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* **1994**; 2: 525-7.
3. Yücesoy M, Mutlu E, Yuluğ N. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antikandidal aktivitesi. *İnfek Derg* **2002**; 16: 483-6.
4. Kerr JR, Taylor GW, Rutman A, Hoiby N, Cole PJ, Wilson R. *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin and 1-hydroxy-phenazine inhibit fungal growth. *J Clin Pathol* **1999**; 5: 385-7.
5. Kerr JR. Inhibition of growth of fungi pathogenic to man by *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Med Microbiol* **1996**; 5: 380-2.
6. Grillot R, Portmann-Coffin V, Ambroise-Thomas P. Growth inhibition of pathogenic yeasts by *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro*, clinical implications in blood cultures. *Mycoses* **1994**; 37: 343-7.
7. Hogan DA, Vik A, Kolter R. A *pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule influences *Candida albicans* morphology. *Mol Microbiol* **2004**; 54: 1212-23.
8. Kerr JR. Inhibition of fungal growth by *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cepacia* isolated from patients with cystic fibrosis. *J Infect* **1994**; 28: 305-10.
9. Erturan Z, Kiraz N, Anğ Ö. *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antifungal aktivitelerinin araştırılması. *KLİMİK Derg* **1997**; 10: 125-6.
10. Zarghami N, Diba K. Identifying growth inhibitory effect of *Pseudomonas aeruginosa*-produced pyoverdin on *Candida albicans*. 9. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi (3-8 Ekim 1999, Antalya) Program ve Özet Kitabı*'nda. İstanbul: KLİMİK Derneği, **1999**: 175 (Bildiri no: P041).

İLETİŞİM

Yrd. Doç. Dr. Nimet YİĞİT
Atatürk Üniversitesi
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu
Tıbbi Laboratuvar Bölümü
Aziziye Araştırma Hastanesi
Yenişehir, ERZURUM
e-posta: nimyigit@hotmail.com