

Pseudomonas aeruginosa Suşlarının Antifungal Aktivitelerinin Araştırılması

Zayre Erturan¹, Nuri Kiraz², Özdem Anđ¹

Özet: 1994 yılından bu yana ortaya konan *Pseudomonas aeruginosa*'nın antifungal aktivitesine yönelik çalışmalar artmaktadır. Yurdumuzda ilk kez bu etkiyi göstermek amacıyla kistik fibrozlu hastaların balgamlarından izole edilen 49, böbrek transplantasyonlu hastaların idrarlarından izole edilen 48 *Pseudomonas aeruginosa* suşunun antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Her iki gruptan izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının, sırasıyla, 34 (% 69)'ünün ve 40 (% 83)'ünün antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: *Pseudomonas aeruginosa*, antifungal aktivite.

Summary: Investigation of the antifungal activity of *Pseudomonas aeruginosa* strains. Studies concerning the antifungal activity of *Pseudomonas aeruginosa*, which was first assessed in 1994, have been steadily increasing. 49 isolates of *P. aeruginosa* from sputa of cystic fibrosis patients and 48 from urine specimens of renal transplant patients were investigated to detect this activity. The number of *P. aeruginosa* strains showing antifungal activity were found as 34 (69%) and 40 (83%), respectively.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, antifungal activity.

Giriş

Pseudomonas cinsi bakterilerin antimikrobiyal özellik gösteren maddeler oluşturdukları eskiden beri bilinmektedir. Bu maddelerden pyosyanin, pirolnitritin ve psödomonik asid (mupirosin)'in ticari preparatları günümüzde kullanılmaktadır (1). *Pseudomonas aeruginosa*'nın antifungal aktiviteye sahip bir madde ürettiği ise ilk kez 1994 yılında Kerr (1) tarafından klinik bir gözlemede, daha sonra ise in vitro olarak gösterilmiştir.

Çalışmamızda kistik fibrozlu hastaların solunum yollarından ve böbrek aktarılan hastaların idrarlarından izole edilen *P.aeruginosa* suşlarının antifungal aktivitesini araştırdık.

Yöntemler

Antifungal aktivitelerini araştırmak amacıyla kullandığımız *P.aeruginosa* suşlarının 49'u kistik fibrozlu hastaların balgamından ve 48'i böbrek aktarımı yapılan hastaların idrarlarından izole edildi. Antifungal aktivite tayininde Kerr (1)'in önerdiği yöntem uygulandı. Standard maya suşu olarak *Candida albicans* ATCC 10231 kullanıldı.

Antifungal aktivitesi araştırılan *P. aeruginosa* suşlarının 24 saatlik taze pasajlarından tuzlu suda 10^8 CFU/ml olacak şekilde süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyondan 30 mikrolitre alınarak Petri kutusunun çapı boyunca genişliği yaklaşık 1 cm olacak şekilde Sabouraud dekstroz agarına çizildi. Besiyerleri 30°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra makroskopik üreme lam ile kazınarak uzaklaştırıldı. Filtre kağıdından 5 cm çapında diskler hazırlandı ve kloroform ile iyice ıslatılarak emniyet kabini içerisinde metalik zemine konuldu. İşlemden geçirilen Petri kutularının her biri diskin üzerine kapaksız olarak ve besiyeri olan yüzü yukarıda olacak şekilde kapatılıp 30 dakika bırakıldı. Bu şekilde kültürlerin mikroskopik artıkları öldürüldü. Süre so-

nunda Petri kutuları kabinden çıkarılarak birkaç dakika açık olarak bırakılıp kloroformun uçması sağlandı. 24 saatlik *C. albicans* kültüründen 10^6 CFU/ml şekilde süspansiyon hazırlandı. Bu süspansiyon kloroform ile muamele edilen besiyeri üzerine ilk inokulumun çizildiği çizgi ile dik açı oluşturacak şekilde çizildi ve 30 °C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında deney sonuçlarının yorumlanması şu şekilde yapıldı: *P. aeruginosa* suşunun *C. albicans* ile kesiştiği yerde üreme olmadıysa (+), kısmi inhibisyon (-, +) ve inhibisyonun olmaması (-) olarak değerlendirildi. Çalışmamızda kullanılan *P. aeruginosa* suşlarının tanımlanması klasik yöntemlerle yapıldı (2,3).

Sonuçlar

Kistik fibrozlu hastaların balgamlarından izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antifungal aktivite durumları Tablo 1'de gösterilmiştir. İncelenen 49 *P.aeruginosa* suşunun 27 (% 55)'sinde (+), 7 (% 14)'sinde (-, +) antifungal aktivite gözlemlenirken; 15 (% 29) suş antifungal aktivite göstermemiştir.

Böbrek aktarımı yapılan hastaların idrarlarından izole edilen 48 *P.aeruginosa* suşunun antifungal aktivite durumları Tablo 1'de gösterilmiştir. İncelenen 48 *P. aeruginosa* suşunun 36 (% 75)'sı (+), 4 (% 8)'ü (-,+) antifungal aktivite gösterirken; 8 (% 17) suş antifungal aktivite göstermemiştir.

İrdeleme

P.aeruginosa'nın antifungal aktivitesi ilk defa Kerr tarafından 1994 yılında bildirilmiştir (1,4). Kerr (4) kistik fibrozlu hastalardan izole ettiği 10 *P. aeruginosa* suşunun tamamının *C. albicans*'a karşı antifungal etkisi olduğunu sentetik besiyeri ortamında göstermiştir.

Tekrarlayıcı veya kronik akciğer infeksiyonları, kistik fibrozda en fazla morbidite ve mortalite nedenidir (5). *P. aeruginosa* kistik fibrozlu hastaların solunum yolundan sık izole edilen bir mikroorganizmadır (6). Güçlü kemoterapötiklerle yoğun bir tedaviye karşın, bu hastalarda kronik *P.aeruginosa* kolonizasyonu ender olarak ortadan kaldırılabilir (5,7). *C.albicans*'ın kistik fibrozlu hastalarda geniş spektrumlu antibiyotiklerin kul-

(1) İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa-İstanbul

(2) Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

Tablo 1. Kistik Fibrozlu Hastaların Balgamlarından ve Böbrek Aktarımı Yapılan Hastaların İdrarlarından İzole Edilen *P. aeruginosa* Suşlarının Antifungal Etkinlikleri

<i>P. aeruginosa</i> Suşlarının Üretildiği Klinik Örnek	Antifungal etkinlik			Toplam
	+	-	-	
Balgam	27*	7	15	49
İdrar	36	4	8	48
Toplam	63	11	23	97

* Suş sayısı

lanılması ile birlikte sıklıkla izole edilmesine karşın, derin enfeksiyonlara yol açmaması sevindirici bir durumdur (8-11). Kerr (4) bu olayı; "kistik fibrozlu hastalardaki kronik *P. aeruginosa* kolonizasyonun *C. albicans*'ın üremesini inhibe etmesi" ile açıklamıştır. Erturan (12), uzmanlık tezi çalışmasında kistik fibrozlu hastaların hiçbirinde kandidiyaz gözlememiş ve bu hastaların balgamlarında üreyen mayaların koloni sayısının 10⁴ CFU/ml'yi geçmediğini bildirmiştir.

Transplantasyon hastalarından üretilen *P. aeruginosa* suşlarının antifungal aktivitesini araştıran bir çalışmaya rastlanmıştır. Çalışmamızda bu grup hastaların idrarlarından üretilen *P. aeruginosa* suşlarının antifungal aktivitesi araştırılmış ve % 83 oranında bulunmuştur.

P. aeruginosa suşlarının ürettiği antifungal aktiviteyi oluşturan ürün veya ürünlerin yapısının ne olduğu henüz bildirilmemiştir. Bu ürünlerin bir gen tarafından mı kodlandığı ya da sekonder bir metabolitin oluşmasıyla indirekt olarak mı oluştuğu bilinmemektedir (13). Jayaswal ve arkadaşları (13), *Pseudomonas* cinsinin ürettiği antifungal etkili maddenin, proteaz, ısı, alkali ve asid ile yapısının bozulmadığı ve bu nedenle bir protein molekülü olamayacağını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, [1] çalışmamızda, kistik fibrozlu hastaların balgamlarından, böbrek aktarımı yapılan hastaların idrarlarından izole edilen *P. aeruginosa* suşlarının antifungal madde ürettiklerini gösterilmiştir. Bu nedenle *Pseudomonas* enfeksiyonlarının tedavisi sonrasında olası antifungal etkinin ortadan kalkması ile oluşabilecek, özellikle *Candida* ve diğer mantar enfeksiyonlarına karşı dikkatli olunmalıdır. [2] *P. aeruginosa* suşları-

nın ürettiği antifungal ürünün yapısının ne olduğu henüz bildirilmemiştir. *P. aeruginosa* suşlarının ürettiği pyosyanin, fluoro-sein gibi antimikrobiyal aktivite gösteren maddelerin belki de antifungal etki ile ilişkileri vardır. Bir başka olasılıkla fluoro-sein ve pyosyanin dışında bu ürünler ile ilişkili madde veya maddeler söz konusudur. Bunu ortaya çıkarmak için araştırmalar sürdürülmelidir. Böylece yeni bir antifungal madde veya maddelerin bulunması mümkün olabilecektir.

Kaynaklar

1. Kerr JR. Suppression of fungal growth exhibited by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 525-7
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger AC. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1992: 185-242
3. Difco Laboratories. *Difco Manual. Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology*. 10th ed. Detroit, Michigan: Difco Laboratories, 1984: 709-11
4. Kerr J. Inhibition of fungal growth by *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas cepacia* isolated from patients with cystic fibrosis. *J Infect* 1994; 28:305-310
5. WHO Memoranda. Therapeutic approaches to cystic fibrosis. Memorandum from a joint WHO/ICF (M) A Meetings. *Bull WHO* 1994; 72:341-52
6. Moorcroft J, Webb AK. Cystic fibrosis, pulmonary infection and host response. *Curr Opin Infect Dis* 1994; 162-7
7. Grimwood K. The pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections in cystic fibrosis. *J Pediatr Child Health* 1992; 28:4-11
8. Fitz-Simmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1993; 122:1-9
9. Pryzklenk B, Baueinfeind A, Hore G, Emminger G. Serologic response to *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis. *Infection* 1987; 15:308-10
10. Govan JR, Nelson JW. Microbiology of lung infection in cystic fibrosis. *Br Med Bull* 1992; 48: 912-30
11. Gilligan PH. Microbiology of airway disease in patients with cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 35-51
12. Erturan Z. Kistik fibrozlu hastaların solunum sistemi örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar. Uzmanlık Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 1995
13. Jayaswal RK, Fernandez MA, Schroeder RG III. Isolation and characterisation of a *Pseudomonas* strain that restricts growth of various phytopathogenic fungi. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56:1053-8