

Kateter kaynaklı *Bacillus cereus* bakteriyemisi olgusu ve izolatlar arasındaki klonal ilişkinin PFGE ile araştırılması

A case report with catheter caused Bacillus cereus bacteremia and investigating the clonal relatedness between the isolates by PFGE

Fırat Zafer Mengeloğlu¹, H. Agah Terzi², Muammer Bilici³

¹ Siirt Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Bölümü, Siirt, Türkiye

² Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD.

³ Siirt Devlet Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, Siirt, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 28.04.2011, Kabul Tarihi / Accepted: 04.06.2011

ÖZET

Bacillus cereus, hareketli, endospor oluşturabilen Gram pozitif fakültatif aerob basil olup, besin zehirlenmesi, endokardit, bakteriyemi ve sepsis gibi enfeksiyonlara neden olmaktadır.

Olgumuzda, 57 yaşında akut myeloid lösemi tanılı, kemik iliği nakli olmuş, kemoterapi almakta olan bayan hasta yüksek ateş şikayetiyle başvurduğu dahiliye kliniğinde nötropenik ateş ve pnömoni öntanılarlarıyla yatırıldı. Periferik kan kültürlerinde *Bacillus cereus* üremesi üzerine kateterle eş zamanlı kan kültürleri yapıldı. Kültürlerde *B.cereus* üremesi tekrar eden hastada kateter kaynaklı bakteriyemi tanısı konularak antibiyotik tedavisi genişletildi. Tedavi sonrasında kateter kan kültürleri dışında üremesi görülmeyen hastanın genel durumunun düzeldiği ve ateşinin düştüğü gözlemlendi.

Üç ayrı zamanda alınan kültürlerde üreyen *B.cereus* izolatları arasında klonal ilişkinin araştırılması amacıyla Pulsed-field jel elektroforezi yapıldı ve izolatların aynı klon olduğu görüldü.

Kan kültürlerinde *Bacillus* türlerinin üremesi genellikle kontaminasyon olasılığını düşündürmekte olduğundan bazı klinik laboratuvarlar tür düzeyinde identifikasyon yapmamaktadır. Fakat izole edilen tür enfeksiyon etkeni olabileceğinden, bu yaklaşım hasta için zaman kaybına ve gerekli tedavinin gecikmesine neden olabilir. Bu durumlarda kan kültürü tekrarının istenmesi, hastanın immün sistem durumu ve klinik tablosu göz önünde bulundurularak tür tayininin yapılıp yapılmamasına karar vermek gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: *Bacillus cereus*, cereus, kateter, bakteriyemi, PFGE

ABSTRACT

Bacillus cereus is a motile and spore-forming Gram positive rod and is a microorganism species which cause infections such as food poisoning, endocarditis, bacteremia sepsis.

In our case; 57 years old, acute myeloid leukemia diagnosed female patient who had bone marrow transplantation and getting chemotherapy was interned with prediagnosis of neutropenic fever and pneumonia in internal medicine clinics which she admitted with high fever. Since *B.cereus* growth in peripheral vein blood cultures, catheter blood cultures was performed simultaneously. *B.cereus* growth repeated in the cultures so catheter caused bacteremia was considered as the diagnosis and antibiotherapy was expanded. After treatment, no growth was observed except catheter blood cultures, general condition of the patient improved and her fever disappeared.

Pulsed-field gel electrophoresis was performed in order to investigate the clonal relatedness between *B.cereus* isolates which were grown in three cultures of separate times and isolates were observed as the same clone.

Blood cultures yielded *B.cereus* are usually considered the possibility of contamination so some clinical laboratories do not perform identification at species level. But the species which is isolated may be the cause of infection, so this approach may be time-consuming for the patient and cause a delay in necessary treatment. In such cases; repeat blood culture should be requested and a decision should be done whether to perform species identification according to the patient's immune system condition and clinical presentation.

Key words: *Bacillus cereus*, cereus, catheter, bacteremia, PFGE.

Yazışma Adresi /Correspondence: Dr. Fırat Zafer Mengeloğlu

Siirt Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Siirt, Türkiye Email: mengeloglu@gmail.com
Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2011, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

GİRİŞ

Bacillus cereus Bacillaceae ailesinden, hareketli, endospor oluşturabilen, 1,2-1,5 mikron çapında ve yaklaşık 5 mikron uzunluğunda, Gram pozitif fakültatif aerob basildir. Toprak ve bitki örtüsü üzerinde yaygın olarak bulunur.¹

B.cereus'un virulans faktörleri arasında nekrotizan ekzotoksin, emetik toksin, hemolizin, lesitinaz ve proteaz gibi enzimler bulunur.¹

Neden olduğu enfeksiyöz hastalıklar arasında en sık emetik ve diareli olarak iki ayrı tipte ortaya çıkan besin zehirlenmesi görülür. Ayrıca posttravmatik endoftalmit, keratit, panoftalmit gibi göz enfeksiyonları; yanık, yara ve cilt enfeksiyonları, menenjit, alt solunum yolu enfeksiyonları, endokardit, bakteriyemi ve sepsise neden olabilmektedir.¹

Bu bildiride kalıcı kateter kaynaklı bir bakteriyemi olgusu rapor edilmiştir.

OLGU

Elli yedi yaşında, 15 yıllık akut myeloid lösemi tanısıyla takip edilen, kemik iliği nakli yapılmış ve kemoterapi tedavileri almakta olan ve kalıcı kateteri bulunan bayan hasta yüksek ateş şikayeti ile hastanemiz dahiliye bölümüne başvurdu ve nötropenik ateş ve pnömoni öntanısı ile yatırıldı. Hastanın ateşi 38,5°C, lökosit 1200 / milimetreküp, tansiyonu 90/50 mm Hg idi. Piperasilin-tazobaktam tedavisine başlandı. Boğaz ve idrar kültürlerinde patojen bakteri üremesi görülmeyen hastanın ilk başvuruda iki ayrı venden BACTEC plus aerobik/F şişelerine alınan kan kültürleri BACTEC 9120 kan kültür sisteminde (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) takip edildi. Kültürü takiben ikinci günde üreme olduğu tespit edildi. Pozitif kültür şişelerinden %5 koyun kanlı agar, eozin metilen blue (EMB) ve çukulata agar besiyerlerine ekim yapıldı. Normal atmosferde 35-37°C 'de 24 saatlik inkübasyon sonunda kanlı agar besiyerinde üremiş olan mat yeşil pigmentli, beta hemoliz yapmış 3-5 mm çapında kolonilerden yapılan boyalı mikroskopik incelemede Gram pozitif sporsuz basiller görüldü. Katalaz testi pozitif olan bakterinin hareketli olduğu gözlemlendi. Yapılan testlerde bakterinin %7 tuzlu Mueller Hinton besiyerinde üreyebildiği, anaerob ortamda üremesinin devam ettiği görüldü. Bakterinin beta laktamaz testi pozitif olarak sonuçlandı.

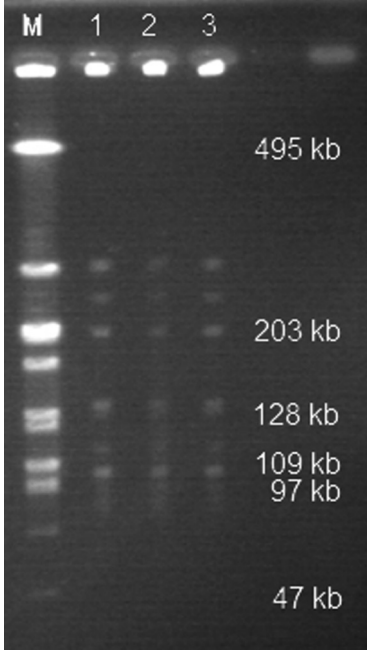
Bakterinin tiplendirilmesi için ticari BBL Crystal Gram-Positive ID identifikasyon kiti (Becton Dickinson, New Jersey, ABD) kullanıldı. Sonuç %99,9 olasılıkla *B.cereus* olarak belirlendi. Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi için Kirby-Bauer yöntemiyle Mueller Hinton besiyeri kullanılarak yapılan disk difüzyon testinde vankomisin, tetrasiklin, klindamisin, streptomisin, kloramfenikol, eritromisin ve gentamisin diskleri etrafındaki üreme inhibisyon zon çaplarının 25 mm.'nin üzerinde olduğu, penisilin ve ampisilin etrafında ise 10 mm.'nin altında çaplar olduğu gözlemlendi. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) kriterlerinde² *B.cereus* için duyarlılık sınır değerleri belirlenmemiş olduğundan zon çapları sadece milimetre olarak ifade edildi, duyarlı-dirençli ayrımı yapılmadı. E-test (Oxoid, Basingstoke, İngiltere) ile belirlenen MİK değerlerinin ampisilin için 12 µg/ml, siprofloksasin için 0,25 µg/ml ve seftriakson için 1,5 µg/ml olduğu görüldü.

Bu rapor üzerine hastadan iki gün arayla iki ayrı ven ve kalıcı kateterden toplam 6 adet kan kültürü alınarak BACTEC 9120 kan kültür sisteminde takip edildi. Bu kültürlerde aynı duyarlılık profiline sahip *B.cereus* üremesi oldu.

Bakteriyeminin kateter kaynaklı olduğu düşünüldü ve tekrar kültürler alınarak tedaviye amikasin eklendi. Kateter ve venlerden alınan kan kültürlerinde *B.cereus* üremesinin devam ettiği görüldü. Amikasin tedavisinin ikinci gününde alınan örneklerden sadece kateterden alınan kan kültüründe *B.cereus* üremesi gözlemlendi, venlerden alınan kan kültürlerinde üreme olmadı. Ateşleri düşen ve genel durumu düzelen hasta, kalıcı kateterinin çekilmesi için başka bir merkeze başvurmak üzere kendi isteğiyle taburcu edildi. Daha sonra yapılan araştırmaya göre, kateteri değiştirilen hastanın ateş şikayetinin tekrarlamadığı öğrenildi.

Üreyen izolatlar arasındaki klonal ilişkinin belirlenmesi amacıyla eş zamanlı olmayan üç izolat için (Biri kateterden alınan kan kültürü izolatu, ikisi periferik venden alınan kan kültürü izolatları) daha önce stafilokok ve streptokoklar için çalışılmış olan yöntemler modifiye edilerek Pulsed-field jel elektroforezi (PFGE) yapıldı.³⁻⁴ PFGE için hazırlanan izolatlar hücre lizis işlemine alındı, daha sonra elde edilen DNA'lar SmaI (Takara, Japonya) restriksiyon enzimi ile kesilip CHEF-DR II sisteminde (Bio-Rad, Belçika) elektroforeze tabi tutuldu. Olu-

şan DNA bantları Gel Doc UV görüntüleme sistemi (Bio-Rad, Belçika) kullanılarak analiz edildi. PFGE görüntülerinde (Resim 1) bu üç izolatın aynı klon olduğu saptandı.



Resim 1. Üç *Bacillus cereus* izolatının PFGE görüntüsü.

M: Bant büyüklükleri bilinen bir MRSA suşu.

1-2-3: *B. cereus* izolatları.

TARTIŞMA

B. cereus, toprakta ve çevrede yaygın bulunan, düşük patojenik potansiyeline rağmen, toksinleri ya da doku invazyonu ile lokal veya sistemik çeşitli enfeksiyöz hastalıklara neden olan bir mikroorganizma türüdür.¹ Yol açtığı bakteriyemilerin çoğunlukla geçici olduğu belirtilen *B. cereus*'un¹, Hernaiz ve ark.'nın⁵ olgu raporundaki ve Banerjee ve ark.'nın⁶ çalışmalarındaki gibi immün yetmezliği veya altta yatan hastalığı bulunan hastalarda kateter kaynaklı bakteriyemiye neden olduğu bildirilmiştir. Özellikle bu olgudakine benzer şekilde, lösemi tanılı hastalarda fulminan septisemik sendrom gibi ağır seyredabilen hatta fatal olabilen enfeksiyonlara yol açtığı Akiyama ve ark.⁷ tarafından rapor edilmiştir. Bu olguda *Bacillus*, toprak veya tozla kalıcı kateteri kontamine etmiş olabileceği gibi⁸, sporları sık kullanılan bazı dezenfektanlara dirençli olduğundan cilt veya kıyafet kaynaklı bir kontaminasyon olduğu da düşünülebilir.⁹

Kan kültürlerinde *Bacillus* türlerinin üremesi genellikle kontaminasyon olasılığını düşündürmekte olduğundan bazı klinik laboratuvarlar tür düzeyinde identifikasyon yapmamaktadır.¹⁰ Fakat izole edilen tür, özellikle immün sistemi etkileyen bir hastalık varlığında enfeksiyon etkeni olabileceğinden, bu yaklaşım hasta için zaman kaybına ve gerekli tedavinin gecikmesine yol açabilir. Bu durumlarda kan kültürü tekrarının istenmesi, hastanın immün sistem durumu ve klinik tablosu göz önünde bulundurularak tür tayini ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılıp yapılmamasına karar vermek gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Drobniowski FA. *Bacillus cereus* and related species. Clin Microbiol Rev 1993; 6(4):324-38.
2. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 20th Informational Supplement. CLSI document M100-S20. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2010.
3. Hastane enfeksiyonu etkeni olan *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Staphyococcus* spp. ve *Acinetobacter baumannii* izolatlarının moleküler tiplemesinde kullanılacak "Pulsed Field Gel Electrophoresis" (PFGE) yöntemlerinin standardizasyonu ve kit formatı haline getirilmesi-PulseNet-TÜRKİYE için hazırlık, TÜBİTAK Projesi, 106S211 (SBAG-3459).
4. Mengeloğlu FZ. Hasta ve taşıyıcılardan izole edilen grup A streptokoklarda emm geni tiplerinin, toksin gen profilinin ve klonal ilişkinin araştırılması. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Uzmanlık Tezi. Zonguldak, 2010.
5. Hernaiz C, Picardo A, Alos JI, Gomez-Garcés JL. Nosocomial bacteremia and catheter infection by *Bacillus cereus* in an immunocompetent patient. Clin Microbiol Infect 2003; 9(9): 973-5.
6. Banerjee C, Bustamante CI, Wharton R, Talley E, Wade JC. *Bacillus* infections in patients with cancer. Arch Intern Med 1988; 148(8): 1769-74.
7. Akiyama N, Mitani K, Tanaka Y, Hanazono Y, Motoi N, Zarkovic M, et al. Fulminant septicemic syndrome of *Bacillus cereus* in a leukemic patient. Intern Med 1997; 36(3): 221-6.
8. Miller JM, Hair JG, Hebert M, Hebert L, Roberts FK Jr, Weyant RS. Fulminating bacteremia and pneumonia due to *Bacillus cereus*. J Clin Microbiol 1997; 35(2): 504-7.
9. Turnbull PCB, French TA, Dowsett EG. Severe systemic and pyogenic infections with *Bacillus cereus*. Br Med J 1977; 1: 1628-9.
10. Cotton DJ, Gill VJ, Marshall DJ, Gress J, Thaler M, Pizzo PA. Clinical features and therapeutic interventions in 17 cases of *Bacillus* bacteremia in an immunosuppressed patient population. J Clin Microbiol 1987; 25(4): 672-4.