

Kahverengi Pigment Üreten *Acinetobacter baumannii* ile Enfekte Bir Hastanın Olgu Sunumu[§]

Sebile HARMANKAYA[®], Seval ÖĞÜT[®], Özgen Alpay ÖZBEK[®]

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

ÖZ

Acinetobacter baumannii özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda hastane kaynaklı bakteriyemi, pnömoni, menenjit ve idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan Gram negatif nonfermentatif bir bakteridir. *Acinetobacter* cinsi bakterilerin pigmente suşlarına çevresel örneklerde rastlanabilmekte, ancak klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olarak ender olarak izole edilmektedir. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji Servisi'ne fournier gangreni ön tanısı ile yatırılan 66 yaşındaki erkek hastanın parsiyel penektomi, uretrektomi, yara yeri debridmanı ile alınan üç örneğinden izole edilen *A. baumannii* izolatının Mueller Hinton agarda yayılabilen kahverengi pigment ürettiği gözlemlendi. Tanımlama konvansiyonel yöntemlerle birlikte iki ayrı otomatize tanımlama sistemleri ile yapıldı. *A. baumannii* suşunun ürettiği kahverengi pigmentin biyokimyasal özellikleri karakterize edilmedi. Klinik izolatlarda ender olarak saptanan bu kahverengi pigmentin *A. baumannii* patojenitesine katkısının araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, kahverengi pigment, otomatize tanımlama sistemleri

ABSTRACT

A Case Report of a Patient Infected with Brown Pigment Producing *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii is a gram-negative nonfermentative bacteria that cause hospital-acquired bacteremia, pneumonia, meningitis and urinary tract infections, especially in intensive care units. The pigmented strains of *Acinetobacter* bacteria can be found in environmental specimens but are rarely isolated in clinical specimens as an etiologic agent of infection. A 66-year-old male patient was admitted to Urology Department of Dokuz Eylül University Medical Faculty Hospital, with the initial diagnosis of Fournier gangrene. We observed that *A. baumannii* isolated from three specimens obtained by partial penectomy, urethrectomy and wound site debridement, produced a brown pigment that spread on Mueller Hinton agar. Identification was done with conventional methods and with two different automated identification systems. The biochemical characteristics of the brown pigment produced by *A. baumannii* strain could not be characterized. We think that the contribution of this brown pigment to *A. baumannii* pathogenicity should be investigated which is rarely found in clinical isolates.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, brown pigment, automated identification systems

GİRİŞ

Acinetobacter baumannii özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda hastane kaynaklı bakteriyemi, pnömoni, menenjit ve idrar yolları enfeksiyonlarına neden olan zorunlu aerob, Gram negatif kokobasil görünümünde, oksidaz negatif, hareketsiz ve nonfermentatif bir bakteridir⁽¹⁻⁴⁾. Glukozu okside eden bazı *Acinetobacter* türlerinin tirozin içeren kalp infüzyon agarda, glukoz eklenmiş kanlı agarda,

MacConkey ve Mueller-Hinton'da kahverengi renk değişikliği yapabildikleri referans kaynaklarda belirtilmiştir⁽⁴⁾. *Acinetobacter* cinsi bakterilerin pigmente suşlarına çevresel örneklerde rastlanabilmekte, ancak klinik örneklerde enfeksiyon etkeni olarak ender olarak izole edilmektedir⁽⁵⁻⁷⁾. Bu olgu sunumunun amacı, Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi'nde klinik örneklerden izole edilmiş yayılabilen kahverengi pigment üreten *A. baumannii* suşu ile enfekte bir olgunun sunulmasıdır.

Alındığı tarih: 14.09.2018

Kabul tarihi: 13.10.2018

[§] Uluslararası XXXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (4-8 Kasım 2018, Manavgat-Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

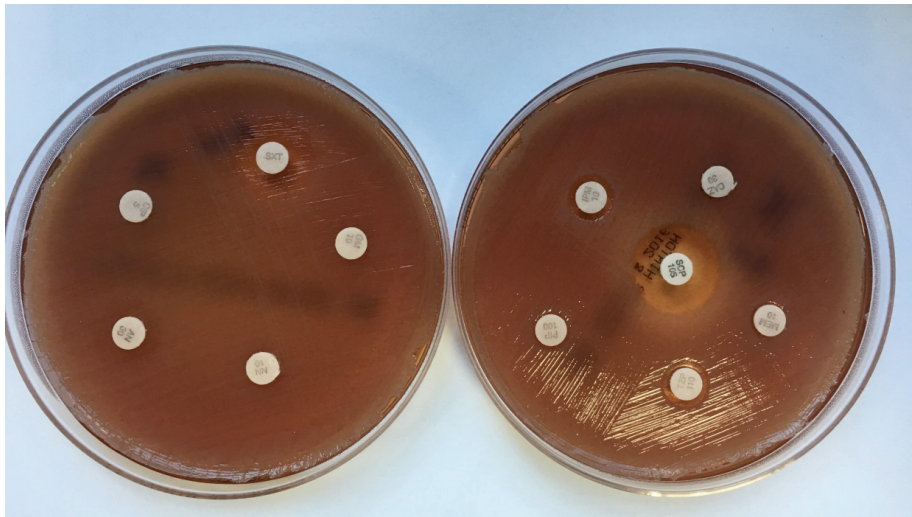
Yazarların ORCID bilgileri:

Sebile Harmankaya ✉ 0000-0002-0613-2966, Seval Öğüt 0000-0003-0368-9205, Özgen Alpay Özbek 0000-0003-4415-7205

OLGU

Alt üriner sistem semptomları öyküsü olan 66 yaşındaki erkek hasta pnömoni nedeniyle bir başka hastanede yoğun bakım ünitesinde tedavi edildikten sonra idrar sondası çekilerek taburcu edildi. Hastanın penisinde morluk gelişmesi üzerine Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvurdu. Fizik muayenesinde penisinde nekrotik doku belirlenmesinin dışında diğer bulguları normaldi. Hastanın özgeçmişinde hipertansiyon, diyabet ve böbrek yetmezliği olduğu belirlendi. Üroloji Servisi'ne fournier gangreni ön tanısı ile yatırıldı. Hastaya cerrahi operasyon öncesinde piperasilin/tazobaktam IV 4x2, 25 g ile tedavisine başlandı. Hastadan parsiyel penektomi ve üretraktomi ile alınan materyal kültür ve antibiyogram isteği ile bakteriyoloji laboratuvarına gönderildi. Hastadan gönderilen örneğin Gram boyalı mikroskopik değerlendirmesinde, bol polimorf nüveli lökosit, Gram negatif basil ve Gram labil kok görüldü. Örnek %5 koyun kanlı agar (Becton Dickinson, Almanya), Eozin-metilen blue agar (Becton Dickinson, Almanya), çikolatamsı agara (Becton Dickinson, Almanya) tek koloni ekim yöntemi ile ekildi. Plaklar 37°C'de 48 saatlik inkübasyon

sonrasında değerlendirildi. Üreyen mikroorganizmaların konvansiyonel yöntemlerle tanımlama ve CLSI standartlarına uygun disk difüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık testleri çalışıldı^(8,12). Hastanın örneğinde üreyen mikroorganizmalar *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, D grubu *Streptococcus* olarak tanımlandı. *Acinetobacter* spp. olarak tanımlanan izolatin Mueller Hinton Agar'da yayılan kahverengi pigment ürettiği belirlendi (Resim 1). Konvansiyonel yöntemlerle *Acinetobacter* spp olarak tanımlanan izolatin "VITEK 2 system (bioMérieux, Fransa)" ve "MALDI-TOF mass spectrometry" tanımlama testleri çalışıldı. Her iki sistemle de izolat *A. baumannii* olarak tanımlandı. Üreyen *A. baumannii* izolatinin duyarlılık sonucu; piperasilin, piperasilin-tazobaktam, imipenem, meropenem, amikasin, gentamisin, tobramisin, seftazidim ve siprofloksasin için dirençli, trimetoprim-sulfametaksazol için orta duyarlı, sulbaktam-sefaperazon duyarlı olarak saptandı. İlk gönderilen örnekten 5 gün sonra hastanın cerrahi operasyon bölgesinde kalan nekrotik dokunun debridmanı da yapılarak 2 ayrı örnek daha bakteriyoloji laboratuvarına gönderildi. Bu örneklerde de ilk örnekle uyumlu olarak kahverengi pigment üreten *A. baumannii* üredi.



Resim 1. Hastadan izole edilen *Acinetobacter baumannii* kökenine ait Mueller Hinton besiyerinde yapılan antibiyogram.

Hastanın sütür hattında akıntı, C-reaktif protein değerinde yükselme ve ateş yüksekliği mevcuttu. Hastanın mevcut tedaviye yanıtı zayıf ile birlikte kültür sonuçları değerlendirildikten sonra antibiyotik tedavisi yeniden planlandı. Hastaya kolistin IV, 5 mg/kg yükleme, 2x2.5 mg/kg idame, sulbaktam/sefaperazon IV 3x2 g, tigesiklin IV 1x100 mg yükleme, 2x50 mg idame başlandı. Tedavisinin 8. gününde klinik tablonun gerilemesi üzerine kolistin tedavisi kesilerek sulbaktam/sefaperazon ve tigesiklin tedavisinin 14 güne tamamlanması planlanarak hasta taburcu edildi.

TARTIŞMA

Çalışmada ender karşılaşılan bir bakteri izolatının tanımlanması konvansiyonel ve ticari testlerle yapılmıştır. Tanımlamanın doğruluğu kullanılan yöntemlerin nonfermentatif bakterileri doğru tanımlayabilme performansları ile ilişkilidir.

Klinik örnek kültürlerinde; koyun kanlı agar ve EMB besiyerinde üremiş Gram-negatif, nonfermentatif, oksidaz negatif, polimiksin B duyarlı, katalaz pozitif ve hareketsiz kokobasillerin *Acinetobacter* olarak tanımlanması önerilmektedir⁽⁸⁾.

Otomatize ticari fenotipik tanımlama sistemlerinin Gram negatif nonfermentatif bakterileri doğru tanımlayabilme becerilerinin değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir⁽⁹⁾. Zbinden ve ark.⁽¹¹⁾ Vitek 2 GN kartının *Pseudomonas aeruginosa* dışındaki nonfermentatif bakterileri tanımlamada gösterdiği performansı 16S rRNA gen sekanslama ile karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada, Vitek 2 GN kartı izolatların %59'unu tür düzeyinde ve %10'unu cins düzeyinde doğru, %31'ini yanlış tanımlamıştır. Sonuçlar ayrıntılı olarak incelendiğinde, Vitek 2 GN kartının *Acinetobacter* spp. olarak tanımladığı 16 izolatın yalnızca 1 tanesini (%6.1) yanlış tanımladığı görülmektedir.

Gram negatif nonfermentatif bakterileri tanımlamada MALDI-TOF MS sistemlerinin gösterdiği performans Mellmann ve ark.⁽¹⁰⁾ tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmada, 16S rRNA gen sekanslama yöntemi ve MALDI-TOF MS sisteminin sonuçları arasında tür düzeyinde %82.5 cins düzeyinde %95.2 oranında uyum olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, 16S rRNA gen sekanslama yöntemi ile tanımlanamayan 2 örneğin MALDI-TOF MS ile *Acinetobacter* spp. suşu DSM 30009 olarak tanımlanmış olması dikkat çekicidir. Yazarlar, MALDI-TOF MS veritabanlarının genişlemesi ile tanımlamada karşılaşılan sorunların üstesinden gelinebileceğini belirtmişlerdir⁽¹⁰⁾.

Bu olgu sunumunun en önemli kısıtlılığı izolatın tanımlanmasında sekanslama yöntemlerinin kullanılmamasıdır. Ancak her iki ticari test yöntemi ile aynı tanımlama sonucu alınmış olması izolatın büyük olasılıkla *A. baumannii* olduğunu düşündürmektedir.

Coelho-Souza ve ark.⁽⁷⁾, üç hastaya ait beş klinik örnekte izole ettikleri yayılabilen kahverengi pigment üreten *A. baumannii* suşlarını rapor etmişlerdir. Yazarlar, önce biyokimyasal testler ve *rpoB* gen sekanslama yöntemi söz konusu izolatları *A. baumannii* olarak tanımlamışlardır. Daha sonra yaptıkları çalışmalar sonrasında bu izolatlarda görülen pigmentin tirozin kullanımı ile ilişkili bir ürün olan melanin olduğu sonucuna varmışlardır.

Hastanemizde izole edilen *A. baumannii* suşunun ürettiği kahverengi pigmentin biyokimyasal özellikleri karakterize edilmemiştir. Bu nedenle, pigmentin melanin olduğu söylenemez. Yalnızca Coelho-Souza ve ark.⁽⁷⁾ yayınlarda gösterdikleri resimlerle izolatımızın oluşturduğu pigment rengi arasındaki benzerlik olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada, penil doku enfeksiyonundan izole edilen ve Mueller-Hinton agarda yayılan kahverengi pigment üreten bir *A. baumannii* izolatı

bildirilmektedir. Klinik izolatlarda ender olarak saptanan bu kahverengi pigmentin *A. baumannii* patojenitesine katkısının araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Chang HL, Tang CH, Hsu YM, et al. Nosocomial outbreak of infection with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a medical center in Taiwan. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009;30(1):34-8. <https://doi.org/10.1086/592704>
2. Maragakis LL, Perl TM. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clin Infect Dis.* 2008;46(8):1254-63. <https://doi.org/10.1086/529198>
3. Fournier PE, Richet H. The epidemiology and control of *Acinetobacter baumannii* in health care facilities. *Clin Infect Dis.* 2006;42(5):692-9. <https://doi.org/10.1086/500202>
4. Schreckenberger PC, Daneshvar MI, Hollis DG. *Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella* and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Patrick R. Murray (ed). *Manual of Clinical Microbiology*, 9th edition. Washington: ASM. 2007;49:770-802.
5. Pagel JE, Seyfried PL. Numerical taxonomy of aquatic *Acinetobacter* isolates. *J Gen Microbiol.*1976;96(2): 220-32. <https://doi.org/10.1099/00221287-95-2-220>
6. Siau H, Yuen KY, Ho PL, et al. Identification of acinetobacters on blood agar in presence of D-glucose by unique browning effect. *J Clin Microbiol.* 1998;36(5):1404-7.
7. Coelho-Souza T, Martins N, Maia F, et al. Pyomelanin production: a rare phenotype in *Acinetobacter baumannii*. *J Med Microbiol.* 2014;63(1):152-4. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.064089-0>
8. Identification of Gram Negatif Bacteria. In: Amy L. Leber (ed.), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 4th ed. Washington: ASM.2016;683-704. <https://doi.org/10.1128/9781555818814.ch3.18.2>
9. Vaneechoutte M, Nemec A, Kämpfer P, Cools P, Wauters G. *Acinetobacter, Chryseobacterium, Moraxella* and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: Jorgensen JH, Pfaller MA (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*, 11th ed. Washington: ASM. 2015;44:813-37.
10. Mellmann A, Cloud J, Maier T, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6): 1946-54. <https://doi.org/10.1128/JCM.00157-08>
11. Zbinden A, Böttger EC, Bosshard PP, Zbinden R. Evaluation of the colorimetric Vitek 2 card for identification of Gram-negative nonfermentative rods: Comparison to 16S rRNA gene sequencing. *J Clin Microbiol.* 2007;45(7):2270-3. <https://doi.org/10.1128/JCM.02604-06>
12. CLSI. *Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twenty-Fifth Informational Supplement. M100-S25, CLSI, Wayne; ABD:2015.*