***Bacillus Cereus*'un Etken Olduğu Travma İlişkili Yara Enfeksiyonu**

Traumatic Wound Infection Caused By *Bacillus Cereus*

Elif Oğuzman¹, Hikmet Çetin², Mahmut Kalem², Zeynep Ceren Karahan¹, Ebru Evren¹, Ebru Uş¹

¹Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Öz

Bacillus cereus, toprak, toz ve çamur, çürüyen organik madde, tatlı ve tuzlu sular, sebzeler ve fomitler de dahil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunan, aerobik, endospor oluşturan Gram-pozitif çomaktır. Klinik örneklerden izole edildiğinde genellikle "kontaminant" olarak yorumlanır. Ancak hem gastrointestinal hem de ekstraintestinal enfeksiyonlarda etken olarak da bulunabilmektedir. Bu olgu sunumunda, ateşli silah yaralanması sonucu gelişen tibia ve fibula kırığı nedeniyle opere edilen 35 yaşında diyabetik erkek hastada gelişen ve *B. cereus*'un etken olduğu post-travmatik yara enfeksiyonu sunulmuştur. *B. cereus* laboratuvarında her zaman kontaminant olarak kabul edilmemeli ve post-operatif ve post-travmatik yara enfeksiyonlarında etken olarak akılda bulundurulmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus cereus*, Yara Enfeksiyonu, Travma

Abstract

Bacillus cereus is an aerobic, endospore-forming Gram-positive rod found widely in nature, including soil, dust and mud, rotting organic matter, fresh and salt water, vegetables and fomites. When isolated from clinical specimens it is often interpreted as a "contaminant". However, it may present as an etiological agent in both gastrointestinal and extraintestinal infections. In this case report, we have presented a post-traumatic wound infection due to *B. cereus* in a 35 year-old, diabetic patient who have applied to hospital with gunshot injury and operated due to tibia and fibula fractures. *B. cereus* should not always be considered as a contaminant when cultured in the laboratory and should be kept in mind as a pathogen especially post-operative and post-traumatic wound infections.

Key Words: *Bacillus cereus*, Wound Infection, Trauma

Giriş

Bacillus cereus, doğada yaygın olarak bulunan, aerobik, sporlu, Gram-pozitif çomaktır (1). Virülansı genellikle düşüktür ve klinik örneklerden izole edildiğinde genellikle "kontaminant" olarak yorumlanır (2). Ancak, salgıladığı toksinlerle veya doku invazyonu yaparak besin zehirlenmesi yanı sıra, post-travmatik kutanöz ve subkutöz enfeksiyonlar, nekrotizan fasiit, selülit, miyonekroz, akut ve kronik osteomyelit gibi lokal ve sistemik enfeksiyonlara da neden olmaktadır (1,3).

Bu yazıda *B. cereus*'un sebep olduğu post-travmatik bir yara enfeksiyonu olgusu sunularak konuyla ilgili literatür özetlenecektir.

Olgu Sunumu

35 yaşında, Diabetes Mellitus'u olan erkek hasta, ateşli silah yaralanması sonrası sol ayak bileğinde tibia ve fibula kırığı nedeniyle acil servise getirildi. Muayenesinde; genel durumu orta, bilinci açık olan hastanın vital bulguları; nabız: 129/dak, solunum: 18/dak, kan basıncı: 83/65 mmHg olarak tespit edildi. Sol ayak bileğinde, geniş doku hasarı ve kemiğin ekspoz olduğu parçalı kırık mevcuttu. Yara distalinde nabızlar zayıf palpe edilmekteydi ve kapiller dolum mevcuttu.

Yara yeri 3000 cc serum fizyolojikle (SF) yıkandıktan sonra kısa bacak atele alınarak hastaya kristalize insülin ve intravenöz hidrasyon başlandı. Ayak/ayak bileği grafisinde sol distal

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Elif Oğuzman,
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
E-posta: elifuzman@gmail.com ORCID: orcid.org/0000-0002-9385-8473
Geliş/Received: 10.12.2019 Kabul/Accepted: 30.12.2019

©Telif Hakkı 2020 Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.
Yayınlanan tüm içerik CC BY-NC-ND lisansı altındadır.

tibia ve fibulada defektif cisim kırığı (Şekil 1, 2); bilgisayarlı tomografisinde sol tibia ve fibulada parçalı kırıklar, kırıklar düzeyinde peroneal arter ve tibialis anteriorda devamsızlık; Doppler ultrasonografisinde sol tibialis posterior arterinde artefakt saptandı.

Acil serviste ortopedi servisi tarafından değerlendirilen hasta Gustilo-Anderson Tip-3C açık tibia kırığı ön tanısıyla ameliyata alındı. Öncelikle sol kruris anterolateral ve medialdeki yaklaşık 10x5 cm boyutundaki yaralar SF'yle yıkanarak her iki yaradaki yabancı cisimler, nekrotik dokular debride edildi. Canlılığını kaybetmiş kas ve kemik dokuları temizlendi. İnstabil olan distal kısım için, skopi kontrolünde "A" frame tübüler eksternal fiksatör uygulandı. Açıkta kalan yaralara vakum yardımcı kapama (VAC) pansuman uygulanarak yaralar geçici olarak kapatıldı. Kısa bacak atel yapılarak işlem sonlandırıldı. Operasyon sonrasında hastaya üç günde bir yıkama ve VAC pansumanı uygulandı. Pansuman sonrasında yara yeri görüntüsü Şekil 3 ve 4'te verilmiştir.

Şekil 1: Hastanın iki yönlü ayak/ayak bileği grafisinde görülen sol distal tibia ve fibulada defektif cisim kırığı

Şekil 2: Hastanın iki yönlü ayak/ayak bileği grafisinde görülen sol distal tibia ve fibulada defektif cisim kırığı

Postoperatif değerlendirmesinde parmaklarda dolaşımı iyi olan hastanın laboratuvar tetkikleri klinikle uyumlu olarak değerlendirildi. (Hb: 8 g/dL, Lökosit: 15.990, Nötrofil: 9.720/mm³, Lenfosit: 4.140/mm³, Glikolize Hb: %10,6, karaciğer fonksiyon testleri: normal, böbrek fonksiyon testleri: normal). Hastaya clexan, sefazolin ve insülin tedavisi başlandı. Postoperatif 15. günde, sol alt ekstremité Doppler ultrasonografide dorsalis pedis arterinde ve kruris distalinde tibialis posterior arterinde akım saptanmaması ve laboratuvar tetkiklerinde sedimantasyon hızı:79 mm/saat, CRP: 15 mg/L, lökosit: 10.600/mm³ olması üzerine, enfeksiyon şüphesiyle hastanın yara yerinden bir adet doku biyopsi kültürü alınarak klinik mikrobiyoloji laboratuvarına gönderildi.

Doku biyopsi örneğinden Gram boyalı preparatlar hazırlandı ve homojenizasyonun ardından kültür işlemleri gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlar, Previ Color Gram (BioMérieux, Fransa)

Şekil 3: Pansuman sonrası hastanın yara yeri görüntüsü

Şekil 4: Pansuman sonrası hastanın yara yeri görüntüsü

boyama cihazında boyanarak incelendi, 100x büyütmeyle her alanda bir-dokuz adet polimorf nüveli lökosit görüldü, epitel hücresi görülmedi (Q skoru=3), 1000x büyütmeyle; Gram-pozitif basiller saptandı. Örnek %5 koyun kanlı agar (KKA) ve çikolata agar (ÇA) besiyerlerine ekilerek, KKA plakları 37 °C'de aerobik şartlarda ÇA plakları ise 37 °C'de %5 karbondioksitli ortamda inkübe edildi. Ayrıca örneklerden Brucella kanlı agar plaklarına yapılan ekimler anaerobik şartlarda 72 saat inkübe edildi. Aerobik kültür plaklarının 24 saat sonundaki üreme kontrolünde KKA plaklarında beta hemoliz zonlarıyla çevrili, mat-gri renkli ve düzensiz sınırları olan koloniler (Şekil 5), ÇA plaklarında 3-5 mm çapında, gri renkli koloniler tespit edildi (Şekil 6). Kolonilerden yapılan Gram boyalı preparatlarda Gram-pozitif basiller görüldü (Şekil 7). Yetmiş iki saat sonunda anerobik bakteri üremesi gözlenmedi. Kültür plaklarında üreyen mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanma işlemi matriksi ile desteklenmiş lazer desorpsiyon/ionizasyon-uçuş zamanı

Şekil 5: Klinik örnekten yapılan aerobik kültürlerde *B. cereus* üremesi (KKA)

KKA: Koyun kanlı agar

Şekil 6: Klinik örnekten yapılan aerobik kültürlerde *B. cereus* üremesi (ÇA)

ÇA: Çikolata agar

kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ile gerçekleştirilerek üreyen bakteri *B. cereus* olarak tanımlandı.

Hastanın klinik özelliklerinin değerlendirilmesi ve literatür taraması sonucunda *B. cereus*'un ateşli silah yaralanmalarında enfeksiyon etkeni olarak bulunabileceği ve doku yıkımıyla seyreden ağır enfeksiyonlar oluşturabileceğinin ortaya konması üzerine üreyen bakteriye antimikrobiyal duyarlılık testi uygulandı. Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; EUCAST) tarafından yayımlanan 2018 rehberinde (4) *B. cereus* için klinik eşik değerlerinin bulunmaması nedeniyle, *B. cereus* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılabilecek antimikrobiyaller literatür verisi ışığında belirlendi ve bunlar arasından laboratuvar da gradyent test şeritleri (GST; ETest, BioMerieux, Fransa) bulunan antimikrobiyaller seçilerek çalışıldı. Değerlendirilen antimikrobiyaller için tespit edilen minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri, EUCAST tarafından klinik eşik değeri bulunmayan izolatlar için kullanımı önerilen farmakokinetik/farmakodinamik (FK/FD) eşik değerler dikkate alınarak yorumlandı. Buna göre, MİK değerleri ampisilin ve penisilin: 32 µg/mL (dirençli), sefotaksim: 0,75 µg/mL (duyarlı), imipenem: 0,047 µg/mL (duyarlı), vankomisin: 2 µg/mL (FK/FD eşik değeri bulunmadığından duyarlılık kategorisi bildirilmedi), linezolid: 1 µg/mL (duyarlı), siprofloksasin: 0,75 µg/mL (dirençli) ve levofloksasin: 0,25 µg/mL (duyarlı) olarak tespit edilerek raporlandı. Literatürde klinik yararı bildirilmesine rağmen, GST'si bulunmaması nedeniyle klindamisin test edilemedi.

Üreme bildirimi üzerine hastanın sefozolin tedavisi kesilerek, ampirik olarak 4x600 mg klindamisin başlandı. Klindamisin tedavisi altında enfeksiyon parametreleri ve genel durumu düzelen hastada, antibiyogram sonuç raporuna göre tedavi

Şekil 7: Kolonilerden yapılan Gram boyalı preparatta izlenen gram-pozitif basiller (x1000 büyütme)

değişikliği yapılmadı. Klindamisin tedavisinin 12. gününde yara yerinin yeniden enfekte görünüm alması nedeniyle gönderilen yara kültüründe *Acinetobacter baumannii* üremesi saptanması üzerine, tedaviye Tigesiklin 1x150 mg yükleme, 2x750 mg idame olacak şekilde devam edildi. İki hafta sonra tekrar edilen yara yeri kültüründe üreme saptanmadı.

Başvurunun 45. gününde, granülasyon dokusu oluşan lateraldeki yaraya inguinal bölgeden alınan "tam kalınlıkta deri grefti" uygulandı. Medialdeki yara sekonder iyileşmeye bırakıldı, genel durumu iyi olan hasta yatışının 52. gününde taburcu edilerek ayaktan poliklinik kontrollerine çağırıldı. Poliklinik kontrolleri sırasında medialdeki yaranın iyileşmediği görüldü. Bu bölgeye taburculuğunun dördüncü ayında rotasyonel flep uygulaması yapılarak açık yaralar kapatıldı. Flep dokusu olgunlaştıncaya; tübüler eksternal fiksator çıkarılarak, sirküler eksternal fiksatorle (ilizarov) uzatma operasyonu yapılması planlandı.

Tartışma

B. cereus, doğada yaygın olarak bulunan, sporlu, aerobik-fakültatif anaerobik, Gram-pozitif, hareketli, 3-5 µm uzunluğunda, 1,0-1,2 µm genişliğinde, çomak formunda bakteridir. Santral-subterminal yerleşen *B. cereus* endosporları eliptik formdadır ve bakterinin olumsuz koşullara dayanıklı olmasını sağlamaktadır (5). Enterotoksinler, emetik toksin "cereulide", hemolizinler ve fosfolipaz-C'nin yanı sıra beta-laktamazlar, proteazlar ve kollajenazlar gibi ürettiği enzimler, *B. cereus*'un virülans faktörleri olarak bilinir (1). *B. cereus*'un neden olduğu enfeksiyonlar altı gruba ayrılmaktadır: 1) Lokal enfeksiyonlar; yanık, travma veya cerrahi sonrası gelişen yaralar ve göz enfeksiyonları, 2) Bakteriemi-sepsis, 3) Merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, 4) Respiratuvar enfeksiyonlar, 5) Endokardit-perikardit, 6) Gıda zehirlenmeleri (6).

B. cereus'un çevrede yaygın olarak bulunabilmesi, hastanelerde ve kliniklerde kontaminasyonun her zaman meydana gelebileceği anlamına gelir. Dışkı veya kusmuktan başka klinik materyallerden izole edilen *B. cereus* genellikle bir kontaminant olarak göz ardı edilmektedir, ancak literatürde giderek artan bir şekilde "etken" olarak bildirilmesi bu organizmaların patojenik potansiyeli olan bir tür olarak kabul edilmesi gerektiğini göstermektedir. Özellikle ilaç bağımlılarında, immünsupreselerde, yenidoğanlarda, protez implantları bulunanlarda, operasyon geçirenlerde, yanık ve travma sonrası gelişen yara enfeksiyonlarında ekstraintestinal enfeksiyonun nadir ancak ciddi bir nedeni olarak kabul edilmektedir (2).

Sporlarının geniş dağılımı nedeniyle açık yaraların sporlarla kontaminasyonu sonucunda yara enfeksiyonları oluşmaktadır (5). Yara kontaminasyonu, ortamdaki sporlarının mevcudiyetine bağlı olarak ilk travma esnasında olabileceği gibi özellikle silahlı

yaralanmalar, IV ilaç kullanımı, açık kırıklar, savaş yaraları, toprak ve su ile kontamine ilaç ve uyuşturucuların kullanımı, kontamine gazlı bez/hastane çarşafı/alçılar/implantlarla temas veya kontamine klorheksidin/povidon iyodin/alkol uygulamaları sonucunda sekonder olarak da enfeksiyon nedeni olabilmektedir (6). Travma geçiren bireylerde altta yatan hastalıkların varlığı bireyleri (örn. lösemi, orak hücre hastalığı, miyelodisplastik sendrom), nekrotizan fasiit ve miyonekrozu da içeren daha komplike *B. cereus* enfeksiyonlarına ve süperenfeksiyonlarına yatkın hale getirmektedir (3). Bu nedenle *B. cereus*, postoperatif ve posttravmatik yara enfeksiyonlarından üretildiğinde, etken olduğundan şüphelenilmesi gereken önemli bir patojendir. Özellikle yukarıda tanımladığımız olgudakine de benzer bir şekilde, İsveç'te bir hastanenin ortopedi servisinde 19 aylık bir sürede, 24 hastada postoperatif ve post-travmatik yaralardan izole edildiği bildirilmiştir (7). Krause ve ark. (8) tarafından da yakın mesafe ateşli silah yaralanmaları sonrası *B. cereus* ile enfekte üç olgu rapor edilmiştir. Başvuru sırasında tüm hastalara streptokoksik ve anaerobik enfeksiyonu önlemek için antibiyotik (sefuroksim ve metronidazol) başlanılmasına rağmen hastaların tümünde, başvuruyu takip eden günlerde *B. cereus* ile ciddi doku enfeksiyonu geliştiği belirtilmiştir (8). *B. cereus*'un beta-laktamaz üretiminin penisilinleri ve sefalosporinleri etkisiz kılması nedeniyle, travmatik yaralardan izole edildiği durumlarda, beta-laktam olmayan bir ilacın (örneğin; siprofloksasin) erken uygulanması gerektiği vurgulanmaktadır (8). Başka bir çalışmada, ortopedi servisinde açık kırık nedeniyle yatan 41 hastadan *B. cereus* izole edilmiş ve başvuru sırasında açık kırığı olan hastalarda *B. cereus* için sistemik bir tarama yapılması ve bakteri izole edildiğinde beta-laktam olmayan bir antibiyotik kullanılması gerektiği belirtilmiştir (9). Kosta Rika'da enfekte travmatik yaralar üzerinde yapılan bir araştırmada, kültür sonuçlarında yaralardan *B. cereus*'un yüksek oranda izole edildiği (28/36) ve izolatların çoğunun nekrotik bir ekzotoksin ürettiği görülmüştür (10). Ağaç dalından kaynaklanan delici yumuşak doku yaralanması sonrası *B. cereus*'a bağlı ciddi yumuşak doku enfeksiyonu olguları da bildirilmiştir (11). Bu olgu *B. cereus*'un sebep olduğu yara enfeksiyonunun doku için oldukça tahrip edici olduğunu ve enfeksiyonun yayılımını önlemek için geniş eksizyonel debridman yapılmasını veya etkilenen ekstremitenin amputasyonunu gerektirebileceğini göstermiştir (11). Başka bir çalışmada kaza sonrası kolunda kırık oluşan bir hastanın yara yerinde Gram-pozitif basil görülmesi üzerine klostridyal miyonekroz düşünülen bir hastaya amputasyon yapılarak, penisilin ve hiperbarik oksijen tedavisine başlanılmış ancak kültürde *B. cereus* üremesi üzerine oksijen tedavisi kesilerek antimikrobiyal tedavi değiştirilmiştir (12). Bu raporda klinik, klostridyal gazlı gangrene benzetilmiş ve *B. cereus*'un, fulminan seyirli yumuşak doku enfeksiyonuna yol açabileceği gösterilmiştir (12).

B. cereus'un antimikrobiyal duyarlılığına ilişkin çok az çalışma yapılmıştır. Geniş spektrumlu beta-laktamaz üreterek penisilinler, sefalosporinler ve beta-laktamaz inhibitör kombinasyonlarına dirençlidir (13). Aminoglikozidler, klindamisin, vankomisin, kloramfenikol, imipenem, florokinolonlar, eritromisin, rifampin, linezolid ve daptomisin *B. cereus*'a etki edebilmektedir (13). Bizim olgumuz da yapılan çalışmalara paralel olarak, levofloksasin, imipenem ve linezolidde duyarlı olup tüm beta-laktam grubu antibiyotiklere dirençliydi ve vankomisin için MİK değeri 2 µg/mL olarak saptanmıştı. Ampirik olarak başlanan klindamisin tedavisinden klinik olarak fayda görmesi nedeniyle tedavi protokolünde değişiklik yapılmayan hastamızda etken başarılı bir şekilde ortadan kaldırılmıştı. Bununla birlikte gelişen enfeksiyon nedeniyle hastaneden yatış süresi uzayan hastada *A. baumannii* ile yaranın enfekte olması, yeni ve daha pahalı tedavilerin uygulanmasının gerekmesi ve hastanede yatış süresinin daha da uzaması, bu hastada *B. cereus* enfeksiyonunun yol açtığı komplikasyonlar olarak da değerlendirilebilir.

Bu olgu ile, *B. cereus*'un, laboratuvarında her zaman kontaminant olarak kabul edilmemesi, klinik açıdan uygun örneklerde üretildiğinde, hastanın klinik durumuna göre gerçek bir patojen de olabileceğinin akılda bulundurulması gerekliliği vurgulanmıştır. Beta-laktamaz üretimi nedeniyle beta-laktam grubu antibiyotiklere doğal dirençli olduğundan özellikle postoperatif ve post-travmatik yara enfeksiyonlarında *B. cereus*'dan şüphelenilmesi durumunda tedavi protokolüne duyarlı olduğu antimikrobiyallerin eklenmesinin klinik önemi unutulmamalıdır.

Etik

Hasta Onayı: Geriye dönük bir çalışma olduğundan dolayı çalışma için onam alınmamıştır.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: H.Ç., M.K., Konsept: E.O., H.Ç., M.K., Z.C.K., E.E., E.U., Dizayn: E.O., H.Ç., M.K., Z.C.K., E.E., E.U., Veri Toplama veya İşleme: E.O., H.Ç., M.K., Z.C.K., E.E., E.U., Analiz veya Yorumlama: E.O., H.Ç., M.K., Z.C.K., E.E., E.U., Literatür Arama: E.O., Z.C.K., Yazan: E.O., H.Ç., M.K., Z.C.K.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek: Çalışmamız için hiçbir kurum ya da kişiden finansal destek alınmamıştır.

Kaynaklar

1. Ehling-Schulz M, Koehler TM, Lereclus D. The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. *Microbiology spectrum*. 2019;7.
2. Drobniewski FA. *Bacillus cereus* and related species. *Clinical microbiology reviews*. 1993;6:324-338.
3. Procop GW, Church D, Hall G, Janda W. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic*. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2017.
4. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, 2018. <http://www.eucast.org>.
5. Kotiranta A, Lounatmaa K, Haapasalo M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and infection*. 2000;2:189-198.
6. Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical microbiology reviews*. 2010;23:382-398.
7. Åkesson A, Hedström SÅ, Ripa T. *Bacillus cereus*: a significant pathogen in postoperative and post-traumatic wounds on orthopaedic wards. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1991;23:71-77.
8. Krause A, Freeman R, Sisson P, Murphy O. Infection with *Bacillus cereus* after close-range gunshot injuries. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 1996;41:546-548.
9. Dubouix A, Bonnet E, Alvarez M, Bensafi H, Archambaud M, Chaminade B, et al. *Bacillus cereus* infections in traumatology-orthopaedics department: retrospective investigation and improvement of healthcare practices. *Journal of infection*. 2005;50:22-30.
10. Dryden M. Pathogenic role of *Bacillus cereus* in wound infections in the tropics. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1987;80:480-481.
11. Darbar A, Harris IA, Gosbell IB. Necrotizing infection due to *Bacillus cereus* mimicking gas gangrene following penetrating trauma. *Journal of orthopaedic trauma*. 2005;19:353-355.
12. Johnson DA, Aulicino P, Newby JG. *Bacillus cereus*-induced myonecrosis. *The Journal of trauma*. 1984;24:267-270.
13. Ikeda M, Yagihara Y, Tatsuno K, Okazaki M, Okugawa S, Moriya K. Clinical characteristics and antimicrobial susceptibility of *Bacillus cereus* blood stream infections. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*. 2015;14:43.