BORDETELLA TREMATUM'UN ETKEN OLDUĞU BİR KRONİK ORTA KULAK İNFEKSİYONU OLGUSU

Nurullah ÇİFTÇİ¹, Zeynep KOÇ¹, Hatice TÜRK DAĞI¹, Nazlım AKTUĞ DEMİR², İnci TUNCER¹

¹Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

²Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

ÖZET

Bordetella trematum, kapsüllü, spor oluşturmeyen, glikozu fermente etmeyen, katalaz pozitif, hareketli ve aerobik koşullarda 25-42°C'de üreyen Gram negatif bir bakteridir. Optimal üreme sıcaklığı 35-37°C olup, bu sıcaklıkta mikroaerofil olarak üreyebilir. *B. trematum*'un insanlarda kulak, yara, diyabetik ülser ve kan akımı enfeksiyonu etkeni olduğu gösterilmiştir. İlk izole edildiği 1996 yılından bugüne kadar 15 *B. trematum* enfeksiyonu rapor edilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla ülkemizde bildirilmiş *B. trematum* enfeksiyonu olgusu bulunmamaktadır. Bu çalışmada *B. trematum*'un etken olduğu bir kronik orta kulak enfeksiyonu olgusu sunulmuştur.

Yirmibeş-otuz yıldır kulak akıntısı şikayeti olan 40 yaşındaki erkek hasta kulak burun boğaz (KBB) polikliniğine başvurmuştur. Fiziki muayenesinde sol kulaktan sarı renkli ve kötü kokulu akıntısı mevcut olan hastanın diğer sistem muayeneleri normal olarak değerlendirilmiştir. Hasta kronik otitis media tanısı ile yatırılıp alınan sol kulak akıntı örneği Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Hastaya ampirik tedavi olarak piperasilin-tazobaktam (3x4.5 g) başlanmıştır. Örnekten hazırlanan yaymanın Gram boyamasında her alanda birkaç lökosit ve Gram negatif çomaklar görülmüştür. Akıntı örneği % 5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue agar (EMB) besiyerlerine ekilmiştir. Kırksekiz saat inkübasyondan sonra kanlı agarda parlak, grimsi S koloniler; EMB besiyerinde ise laktoz negatif koloniler üremiştir. Koloniden yapılan Gram boyamada Gram negatif çomaklar görülmüştür. Bakteri VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) ve Matrics Yardımlı Lazer İyonizasyon Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) (Bruker Daltonik GmbH, Almanya) otomatize sistemlerinde *B. trematum* olarak tanımlanmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi E-test yöntemi ile yapılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre piperasilin-tazobaktam, seftazidim, meropenem, kolistin ve amikasin duyarlı, sefepim ve sefotaksim orta duyarlı, siprofloksasine dirençli bulunmuştur. Antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre piperasilin-tazobaktam tedavisine devam edilmiştir. Akıntısı azalan hasta tedavisi 14 güne tamamlanıp şifa ile taburcu edilmiştir.

Sonuç olarak, özellikle diyabetik hastalarda derin yumuşak doku enfeksiyonlarında ve kronik orta kulak iltihabı olgularında *B. trematum* akla gelmelidir. *B. trematum* prevalansını, antibiyotik direnç oranlarını ve özellikle patojenitesini anlayabilmek için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: *Bordetella trematum*, MALDI-TOF MS, orta kulak enfeksiyonu, tanımlama

SUMMARY

A Case of Chronic Otitis Media Infection Caused by *Bordetella trematum*

Bordetella trematum is a capsulated, non-sporulating, glucose-non-fermenting, catalase positive, motile Gram negative rod that grows aerobically at 25-42°C. Optimal growth temperature is 35-37°C, and can grow under microaerophilic conditions at this temperature. *B. trematum* has been shown as a causative agent in wound, otitis media, diabetic ulcer, and bloodstream infections in humans. Fifteen strains of *B. trematum* have been isolated from human clinical material since its first description in 1996. To our knowledge, no case has been reported from our country. In this study, we report a case of chronic otitis media infection caused by *B. trematum*.

A 40-year-old man, who has been complaining of ear discharge for 25-30 years, admitted to the Department of Otorhinolaryngology in our hospital. Physical examination of patient revealed smelly yellow ear discharge from the left ear. The examinations of other systems were normal. Patient was hospitalized with a diagnosis of chronic otitis media and a sample obtained from the left ear was sent to the Medical Microbiology Laboratory. Patient was empirically treated with piperacillin-tazobactam (3x4.5 g). A few leukocytes and Gram negative bacilli were seen in each area on Gram stain of the sample. The sample was inoculated to 5 % sheep blood and Eosin Methylene Blue (EMB) agar plates. After 48 hours of incubation, shiny, grayish S colonies in 5 % sheep blood agar and lactose negative colonies in EMB agar were observed. Gram negative bacilli were seen in the Gram stain of the colonies. The isolate was identified as *B. trematum* using VITEK 2 automated system (bioMérieux, France) and Matrix Assisted Laser Ionization Mass Spectrometer (Bruker Daltonik GmbH, Germany). E-test method was used for antibiotic susceptibility testing. *B. trematum* was susceptible to piperacillin-tazobactam, ceftazidime, meropenem, colistin and amikacin. The isolate was intermediate for cefepime, cefotaxime and resistant to ciprofloxacin. Piperacillin-tazobactam therapy was continued according to the antibiotic susceptibility test results. Ear discharge decreased, and the patient was discharged with healing after 14 days of treatment.

B. trematum might be the cause of soft tissue infections in patients with diabetes mellitus and in cases of chronic otitis media. Further studies are needed to improve knowledge about the prevalence, antibiotic resistance rates, particularly pathogenicity of the bacterium.

Keywords: *Bordetella trematum*, identification, MALDI-TOF MS, otitis media

İletişim adresi: Nurullah Çiftçi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, KONYA

GSM: (0506) 295 27 20

e-posta: ciftcinurullah72@gmail.com

Alındığı tarih: 06.07.2015, Yayına kabul: 10.09.2015

GİRİŞ

Bordetella türleri Gram negatif, spor oluşturmeyen ve glikozu fermente etmeyen bakterilerdir. Şimdiye kadar dokuz türü tanımlanmış olup; insan, hayvan ve ekolojik çevreden izole edilebilmektedirler⁽²⁾. Bunlardan *Bordetella pertussis* ve *Bordetella parapertussis* boğmaca etkenidir. *Bordetella bronchiseptica* insanlar da dahil olmak üzere birçok memelide solunum sistemi infeksiyonlarına neden olmaktadır⁽⁸⁾. *Bordetella hinzii*, *Bordetella avium*, *Bordetella holmesii*'nin insan, koyun ve kümes hayvanlarında solunum yolu infeksiyonları yaptığı bildirilmiştir⁽⁹⁾. *Bordetella petrii*'nin nadir olarak bakteriyemiye neden olduğu bildirilmiştir. *Bordetella ansorpii* sadece doğal çevreden izole edilmiştir⁽⁹⁾. *Bordetella trematum* Gram negatif, kapsüllü, aerob, spor oluşturmeyen çubuk şeklinde bir bakteridir⁽⁸⁾. *B. trematum* sadece insanda kulak, kan, yara ve diyabetik ülser örneklerinden izole edilmiş, bu güne kadar solunum yolu infeksiyonu yaptığı tespit edilmemiştir^(8,9).

Günümüze kadar tüm dünyada insanlarda *B. trematum*'un infeksiyon etkeni olduğu 16 olgu bildirilmiştir^(1,4-8). Bildiğimiz kadarıyla ülkemizde bildirilmiş *B. trematum* olgusu bulunmamaktadır. Bu çalışmada *B. trematum*'un etken olduğu bir kronik orta kulak infeksiyonu olgusu sunulmuştur.

OLGU SUNUMU

Kırk yaşındaki erkek hasta sol kulağından bol miktarda, kötü kokulu, yeşil renkli akıntısı şikayeti ile kulak burun boğaz (KBB) polikliniğine başvurmuştur. Hastanın hikayesinde 25-30 yıldır her iki kulağında akıntı mevcut olduğu sağ kulağından bir kez, sol kulağından iki kez opere edildiği ve sekiz ay önce sol kulağına stent takıldığı öğrenilmiştir. Hastanın fiziki muayenesinde sol kulaktan sarı renkli kötü kokulu akıntısı mevcut olan hastanın, diğer sistemlerinde fizik muayene normal olarak değerlendirilmiştir. Laboratuvar testlerinde CRP 6 mg/L, ESR 22 mm/saat, WBC 6580 mm³, kreatin 0.98 mg/dl, ALT 16 U/L, AST 22 U/L olarak saptanmıştır.

Hasta kronik otitis media tanısı ile yatırılıp alınan sol kulak akıntı örneği Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na gönderilmiştir. Hastaya ampirik tedavi olarak piperasilin-tazobaktam (3x4.5 g) başlanmıştır. Hastanın sol kulak akıntı kültüründe Gram negatif çomak üremesi üzerine hasta tedavi için İnfeksiyon Hastalıkları Kliniği'ne yatırılmıştır.

Örnekten hazırlanan yaymanın Gram boyamasında her alanda 1-2 lökosit ve Gram negatif bakteriler görülmüştür. Hasta örneği kültür yapılmak üzere % 5 koyun kanlı agar ve Eosin Methylene Blue agar (EMB) besiyerlerine ekilmiş; 48 saat inkübasyondan sonra kanlı agarda çapı 2 mm'den küçük, parlak, grimsi S koloniler; EMB besiyerinde ise laktoz negatif koloniler üremiştir. Koloniden yapılan Gram boyamada Gram negatif çomaklar görülmüştür. Yapılan biyokimyasal testlerde katalaz pozitif, oksidaz, TSI agarda H₂S üretimi ve şeker fermentasyonu, hareket, üre, sitrat ve indol testleri negatif olarak bulunmuştur. Yapılan bu testlerle tanımlanamayan bakteri VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) ve Matriks Yardımlı Lazer İyonizasyon Kütle Spektrometre (MALDI-TOF MS) (Bruker Daltonik GmbH, Almanya) otomatize sistemlerinde *B. trematum* olarak tanımlanmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testi E-test yöntemi ile yapılmış ve Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) önerileri doğrultusunda other non-Enterobacteriaceae kriterlerine göre değerlendirilmiştir⁽³⁾. Bakteriler 48 saat inkübe edilmiş, üreyen kolonilerden 0.5 MacFarland bulanıkta süspansiyon hazırlanmış ve Mueller-Hinton agar besiyerine yayılmıştır. Antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre siprofloksasin (MİK >12 µg/ml) dirençli, sefepim (MİK=16 µg/ml) ve sefotaksim (MİK=16 µg/ml) orta duyarlı, piperasilin-tazobaktam (MİK=2 µg/ml), seftazidim (MİK=8 µg/ml), meropenem (MİK=0.32 µg/ml), kolistin (MİK=0.5 µg/ml) ve amikasin (MİK=2 µg/ml) duyarlı bulunmuştur.

Antibiyotik duyarlılık testi sonucuna göre piperasilin-tazobaktam tedavisine devam edilmiştir. Tedavi altında iken hastanın sağ kulağında da akıntı şikayeti başlamış ve hasta KBB kliniği ile konsülte edilmiştir. Sağ kulak ve sol kulaktan tekrar kültür alınmıştır. Her iki kulak

kültüründe *B.trematum* üremiştir. Antibiyogramda piperasilin-tazobaktam duyarlı olması nedeni ile tedaviye devam edilmiştir. Tedavi ile akıntısı azalan hastanın tedavisi 14 güne tamamlanmış, hasta şifa ile taburcu edilmiştir.

TARTIŞMA

B.trematum Gram negatif, sporsuz, kapsüllü, hareketli, katalaz pozitif, 0.5 µm genişliğinde, 1.0-1.8 µm uzunluğunda bir bakteridir. 25-42°C'de aerob şartlarda ürer. Optimal üreme sıcaklığı 35-37°C olup, bu sıcaklıkta mikroaerofil olarak da üreyebilmektedir. "Trema" terimi demek, penetre etmek anlamına gelir ki bakteri ilk kez yaralardan izole edilmiştir⁽⁸⁾.

B.trematum şimdiye kadar klinik örneklerden nadiren izole edilmiştir. Bakterinin virülansı, patojenitesi, yaşam döngüsü, rezervuarı hakkında bilgiler sınırlıdır. 1996'da Almanya'da genotipik ve fenotipik olarak yapılan retrospektif bir çalışmada yara örneklerinden ve kulak infeksiyonundan toplam 10 adet *B.trematum* saptanmıştır. Bu suşların ikisi kronik orta kulak iltihabı olan hastalardan, diğer altı suş ayak ve bilek yara örneklerinden izole edilmiştir⁽⁸⁾. Bu olgudan sonra, bildiğimiz kadarıyla altı olguda *B.trematum* raporlanmıştır. Raporlanan bu altı olguda *B.trematum* saptanan hastaların biri yedi aylık bir bebek ve diğerlerinin yaş ortalaması 71 (65-82 yaş arası) olarak bildirilmiştir^(1,4-7). Halim ve ark.⁽⁵⁾ raporladıkları olguda ciddi göğüs yanığı bulunan hastanın alınan kan örneğinde *B.trematum* izole edildiği bildirmişlerdir. Bildirilen diğer dört olguda hastalarda diabetes mellitus (DM) ve ona bağlı gelişen ayak ülseri raporlanmıştır^(1,4,6). Son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada ise yedi aylık bir bebekte bakteriyemi olgusu bildirilmiştir⁽⁷⁾. Bizim olgumuz olan 40 yaşındaki erkek hasta, kronik orta kulak iltihabı öyküsü ve bol miktarda yeşil, kötü kokulu kulak akıntısı şikayeti ile hastanemize başvurmuştur.

Birçok bakteri, normal kültür standartlarında 37°C'de 18-24 saat inkübasyon sonrasında koloni oluştururken, *B.trematum* kolonileri 48-72 saatte zayıf üreme göstermektedir. Bu durum, özellikle çoğunlukla polimikrobiyal olan kronik

ülser infeksiyonlarında, *B.trematum* başka bakterilerle birlikteyse gözden kaçmaması için önem arz etmektedir. Bu zamana kadar bildirilen sepsis ve ayak ülseri olgularında *B.trematum* başka bakterilerle beraber bulunmuştur^(1,4-6). Bizim olgumuzda, etken her iki kulaktan tek olarak izole edilmiştir.

Rutin klinik mikrobiyoloji laboratuvarında klasik ve biyokimyasal identifikasyon yöntemlerini kullanarak *B.trematum*'un tanımlanması zordur⁽⁶⁾. *B.trematum* ile ilgili veriler şu an için oldukça kısıtlıdır. Bu nedenle tanımlanması da zahmetli ve zaman alıcıdır. Vandamme ve ark.⁽⁸⁾ ile Daxboeck ve ark.⁽⁴⁾ yaptıkları çalışmalarda bizim çalışmamızla uyumlu olarak *B.trematum*'u oksidaz testi negatif olarak saptamışlardır. Ancak Almagro-Molto ve ark.⁽¹⁾ çalışmalarında bu bakterinin oksidaz pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar oksidaz testinin *B.trematum*'un tür düzeyinde tanımlanması için yardımcı bir test olamayacağını göstermiştir. Daxboeck ve ark.⁽⁴⁾'nın API 20NE™ (bioMérieux, Fransa) yöntemi ile yaptıkları identifikasyonda arabinoz, maltoz, sitrat ve fenil-asetat metabolizmalarının birbirine benzerliğinden dolayı bakteri *Bordetella avium* olarak isimlendirilmiştir. 16S rDNA sekanslama yöntemi ile *B.trematum* olarak tanımlanmıştır⁽¹⁾. Hernández-Porto ve ark.⁽⁶⁾'nın bildirdikleri olguda tür tanımlaması için VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi kullanılmıştır. Almagro-Molto ve ark.⁽¹⁾ bildirdikleri iki olguda tür tanımlaması için MALDI-TOF MS yöntemini kullanmışlar ve bu yöntemin *B.trematum* türlerinin identifikasyonu için güvenilir ve hızlı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda etken VITEK 2 (bioMérieux, Fransa) otomatize sistemi ve MALDI-TOF MS ile tanımlanmış ve aynı sonuç elde edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda *B.trematum* antibiyotik duyarlılık test sonuçları değişmektedir. Antimikrobiyal duyarlılık testi rapor edilen altı suşun dördü amoksisilin-klavulanik asite, ikisi seftazidime ve yalnızca biri siprofloksasine duyarlı bulunmuştur. İmipenem ve piperasilin-tazobaktam çalışılan tüm izolatlarda etkili bulunmuştur^(1,4-7). Meropenem sadece bir olguda dirençli olarak raporlanmıştır⁽⁷⁾. Bizim olgumuzda ise etken bakteri siprofloksasine dirençli seftazidim, kolistin,

amikasin, meropenem ve piperasilin-tazobaktam duyarlı olarak saptanmıştır.

Günümüze kadar bildirilen ayak ülseri olgularında, *B.trematum* tek başına izole edilmiş, polimikrobiyal infeksiyonlarda saptanmıştır. Almagro Molto ve ark.⁽¹⁾ olgularının birinde ayak parmaklarının amputasyonu ve antibiyotik tedavi kombinasyonunun klinik iyileşme sağladığını bildirmişlerdir. Diğer olgularında ise polimikrobiyal infeksiyon gelişen ülerde debridman ve siprofloksasin tedavisinden sonra kısmi klinik iyileşme olmuştur. Tedavi sonrasında siprofloksasine dirençli olan *B.trematum* tekrar izole edilmiştir. Daxboeck ve ark.⁽⁴⁾'nın bildirdikleri olguda ise ayak ülseri olan 82 yaşında hastaya ampirik olarak 10 gün amoksisilin-klavulanik asit ve siprofloksasin tedavisi verilmiştir. İnfeksiyonun gerilememesi üzerine alınan kültürde *Pseudomonas aeruginosa* ve *B.trematum* saptanmıştır. Antibiyotik tedavisi olmaksızın izlenen hastanın iki yıl sonra infeksiyonu iyileşmiştir. Halim ve ark.⁽⁵⁾'nın çalışmasında ciddi göğüs yanığı olan 60 yaşındaki hastaya profilaktik olarak imipenem, netilmisin, kolistin başlanmış, hastanın kanında *B.trematum* ve *Enterobacter cloacae* saptanmış ve hasta bir süre sonra ölmüştür. Bizim çalışmamızda *B.trematum* kulak akıntısı örneğinden tek olarak izole edilmiş ve hasta piperasilin-tazobaktam tedavisi ile iyileşmiştir.

Sonuç olarak, özellikle diyabetik hastalarda derin yumuşak doku infeksiyonlarında ve kronik orta kulak iltihabı olgularında *B.trematum* akla gelmelidir. *B.trematum* prevalansını, antibiyotik direnç mekanizmalarını, yumuşak dokulardaki patojenitesini anlayabilmek için daha çok olgunun incelenmesine ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Almagro-Molto M, Eder W, Schubert S. Bordetella trematum in chronic ulcers: report on two cases and review of the literature, *Infection* 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-014-0717-y>
2. Chang DH, Jin TE, Rhee MS, Jeong H, Kim S, Kim BC. Draft genome sequence of Bordetella trematum strain HR18, *Genome Announc* 2015;3(1): e01357-14. <http://dx.doi.org/10.1128/genomeA.01357-14>
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania, USA (2013).
4. Daxboeck F, Goerzer E, Apfalter P, Nehr M, Krause R. Isolation of Bordetella trematum from diabetic leg ulcer, *Diabetic Medicine* 2004;21(11): 1247-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1464-5491.2004.01310.x>
5. Halim I, Ihibane F, Belabbes H, Zerouali K, El Mdaghri N. Isolation of Bordetella trematum from bacteremia, *Ann Biol Clin* 2014;72(5):612-4.
6. Hernández-Porto M, Cuervo M, Miguel-Gómez MA, Delgado T, Lecuona M. Diabetic leg ulcer colonized by Bordetella trematum, *Rev Esp Quimioter* 2013;26(1):72-3.
7. Saksena R, Manchanda V, Mittal M. Bordetella trematum bacteremia in an infant: a cause to look for, *Indian J Med Microbiol* 2015;33(2):305-7. <http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.154891>
8. Vandamme P, Heyndrickx M, Vancanneyt M et al. Bordetella trematum sp. nov. isolated from wounds and ear infections in humans and reassessment of Alcaligenes denitrificans Ruger and Tan 1983, *Int J Syst Bacteriol* 1996;46(4):849-58. <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-46-4-849>
9. Von König CHW, Mann MR, Coenye T. Bordetella and related genera, "Verlasovic J, Carroll KC, Funke G (eds). Manual of Clinical Microbiology, 10. baskı" kitabında s.739-50, ASM Press, Washington (2011).