

# Nadir Görülen Fırsatçı Patojen *Bacillus pumilus*'un Neden Olduğu Bir Sepsis Olgusu

## A Sepsis Case Caused by a Rare Opportunistic Pathogen: *Bacillus pumilus*

Barış Ata BORSA<sup>1</sup>, Mehmet Ersoy ALDAĞ<sup>2</sup>, Birsen TUNALI<sup>3</sup>, Uğur DİNÇ<sup>2</sup>, Zeynep GÜNGÖRDÜ DALAR<sup>1</sup>, Veli Cengiz ÖZALP<sup>4</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>1</sup> Istanbul Kemerburgaz University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup> Çorlu Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Tekirdağ.

<sup>2</sup> Çorlu State Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Tekirdag, Turkey.

<sup>3</sup> Çorlu Devlet Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Tekirdağ.

<sup>3</sup> Çorlu State Hospital, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology, Tekirdag, Turkey.

<sup>4</sup> İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

<sup>4</sup> Istanbul Kemerburgaz University Faculty of Medicine, Department of Medical Biology, Istanbul, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 12.02.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 01.06.2016

### ÖZ

*Bacillus* türlerinin doğada yaygın olarak bulunması ve kültürlerde sıklıkla kontaminant olarak görülebilmesi, bu türlerin etken olup olmadığı konusunda tereddüt yaratmakla beraber, özellikle risk faktörlerine sahip bireylerde tekrar eden pozitiflikler söz konusu olduğunda etken olabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. *Bacillus pumilus*, nadiren de olsa çeşitli raporlarda sepsis, endokardit, cilt enfeksiyonları ve besin zehirlenmeleri gibi farklı klinik tablolarda etken olarak bildirilmiş bir bakteridir. Bu raporda, immün kompetan bir hastada *B.pumilus*'un neden olduğu sepsis olgusu sunulmaktadır. Hastanemizin acil servisine baş ağrısı, baş dönmesi ve ishal şikayetleriyle başvuran 38 yaşında kadın hastanın, iki yıl önce geçirdiği kalp kapağı replasmanı dışında herhangi bir risk faktörü yoktur. Başvuru sırasında genel durumu kötü olan hastanın yapılan muayenesinde batında hassasiyet, yüksek ateş ve hipotansiyon tespit edilmiş; sedimantasyon (ESR) ve C-reaktif protein (CRP) değerleri de yüksek bulunan hasta sepsis şüphesiyle yatırılmıştır. Hastadan farklı zamanlarda iki kez olmak üzere üç set kan kültürü alınmış ve BD BACTEC™ 9050 sisteminde ikinci günde üreme sinyali alınması üzerine koyun kanlı agar, çikolatamsı agar ve MacConkey agar besiyerlerine pasaj yapılarak aerop ve anaerop koşullarda inkübe edilmiştir. Aerobik kültürde 18-24 saatlik inkübasyon sonunda oluşan beta-hemolitik, gri renkli geniş kolonilerden yapılan Gram boyamada gram-pozitif çomaklar görülmüş; bakteri, BD Phoenix™ 100 sistemi kullanılarak %99 doğruluk oranı ile *Bacillus pumilus* olarak tanımlanmıştır. Bu sonuç, MALDI-TOF temelli

**İletişim (Correspondence):** Yrd. Doç. Dr. Barış Ata Borsa, İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 34217 Bağcılar, İstanbul, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 539 671 9543, **E-posta (E-mail):** baris.borsa@kemerburgaz.edu.tr

VITEK® MS sistemi ve Illumina MiSeq® platformu kullanılarak 16S rRNA dizi analizi ile de doğrulanmıştır. Phoenix™ 100 cihazında çalışılan antibiyotik duyarlılık testi sonunda, izolatin penisiline dirençli; vankomisin, eritromisin, klindamisin, levofloksasin ve trimetoprim-sülfametoksazole duyarlı olduğu bulunmuştur. Hastaya destek tedavisinin yanı sıra ampirik olarak intravenöz seftriakson ve metronidazol başlanmıştır; tedavinin ikinci gününde tansiyon, üçüncü gününde ise ateş normale dönmüştür. Tedavinin yedinci gününde metronidazol kesilerek tedaviye seftriakson ile devam edilmiş; 14 güne tamamlanan tedavi sonunda ESR ve CRP değerleri normal sınırlara gerilemiş ve hastanın genel durumu düzelmiştir. Sonuç olarak, *B.pumilus*'un etken olduğu dolaşım yolu enfeksiyonlarının çoğunun kateter ile ilişkili olduğu bildirilmekle birlikte, yapay kalp kapaklarının da, her ne kadar hastamızda vejetasyon saptanmamış olsa da, risk faktörü olabileceği akılda tutulmalıdır.

**Anahtar sözcükler:** *Bacillus pumilus*; sepsis; kalp kapağı replasmanı.

## ABSTRACT

The high prevalence of *Bacillus* species in nature and the detection of these bacteria as contaminant in cultures may lead diagnostic dilemma, however they should still be considered as a pathogen particularly in case of repeated positive cultures from patients with risk factors. *Bacillus pumilus* is a bacteria, though rarely, been reported as the causative agent of various infections such as sepsis, endocarditis, skin infections and food poisoning in human. In this report, a sepsis case in an immunocompetent patient caused by *B.pumilus* was presented. A 38-year-old female patient was admitted to emergency service of our hospital with the complaints of headache, dizziness and diarrhea. She had not any risk factors except a history of heart valve replacement operation two years ago. In physical examination, she had abdominal retention, high fever and hypotension, together with the high levels of sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP). The patient was hospitalized with the preliminary diagnosis of sepsis. Three sets of blood samples at two different periods were taken for the culture. All blood culture vials had a positive signal at the second day of incubation in BD BACTEC™ 9050 system, therefore subcultures were performed in sheep blood agar, chocolate agar and MacConkey agar, and incubated in aerobic and anaerobic conditions. Beta-haemolytic, gray-colored large colonies were isolated from anaerobic culture at the end of 18-24 hours incubation, and Gram staining from colonies showed gram-positive rods. The isolate was identified as *B.pumilus* with 99% accuracy rate by using BD Phoenix™ 100 identification system. This result was also confirmed by MALDI-TOF based VITEK® MS system and 16S rRNA sequencing by Illumina MiSeq® platform. Antibiotic susceptibility test performed by BD Phoenix™ 100 system and the isolate was found to be resistant against penicillin, while it was susceptible to vancomycin, erythromycin, clindamycin, levofloxacin, and trimethoprim-sulfamethoxazole. Initial treatment of patient was started with intravenous ceftriaxone and metronidazole empirically. Hypotension and fever returned to normal levels at the second and third days of the treatment, respectively. Metronidazole treatment was stopped at seventh day, and treatment was completed to 14 day with ceftriaxone alone. At the end of the treatment course, general condition of the patient was completely good, ESR and CRP were also decreased to normal levels. In conclusion, although most of the reported bloodstream infections that are caused by *B.pumilus* are intravascular catheter-related, artificial heart valves should also be considered as a risk factor even though vegetation was not detected in our patient.

**Keywords:** *Bacillus pumilus*; sepsis; heart valve replacement.

## GİRİŞ

*Bacillus* türleri, doğada yaygın olarak bulunan gram-pozitif, sporlu, fakültatif anaerob basillerdir. İnsanda enfeksiyon etkeni olarak en iyi bilinen tür, şarbon hastalığı etkeni olan *B.anthraxis* olmakla beraber, diğer türler de nadiren sepsis, endokardit ve besin

zehirlenmesi gibi enfeksiyonlara yol açabilirler<sup>1-5</sup>. *Bacillus* türleri, kan kültürlerinde sıklıkla kontaminant olarak görülebildiğinden, etken olabilme olasılıkları, tedavi kararı konusunda ikileme yol açmaktadır<sup>6</sup>. Bu raporda, immün kompetan bir kadın hastada *B.pumilus*'un neden olduğu sepsis olgusu sunulmaktadır.

## OLGU SUNUMU

İki yıl önce yapılan kalp kapağı replasmanı (AVR-MVR) nedeniyle antikoagülan kullanan 38 yaşındaki kadın hasta; baş ağrısı, baş dönmesi ve ishal şikayetleri ile Çorlu Devlet Hastanesi acil servisine başvurmuştur. Genel durumu kötü olan hastanın yapılan muayenesinde batında hassasiyet, ateş (38.7°C) ve hipotansiyon (80/50 mmHg) tespit edilmiş; hasta sepsis şüphesiyle Enfeksiyon Hastalıkları Kliniğine yatırılmıştır. Hastanın anamnezinde, geçirdiği kalp kapağı operasyonu haricinde kayda değer bulguya rastlanmamıştır. Servise yatış esnasında iki kez senkop geçiren hastaya oksijen tedavisi verilerek durumu stabil hale getirilmiştir. Hastadan farklı zamanlarda iki kez olmak üzere üç set kan kültürü ve ishal etiyolojisinin araştırılması amacıyla dışkı örnekleri alınarak Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilmiştir. Hastanın konsültasyonlarında tonsillerin hiperemik ve hipertrofik olduğu gözlenmiştir. Yapılan kranial tomografi ve tüm batın ultrasonografi tetkiklerinde herhangi patolojik görünüm saptanmayan hastada, enfektif endokardit şüphesiyle yapılan transtorasik ekokardiyogram (TTE) incelemesinde de vejetasyona rastlanmamıştır. Bununla beraber hastamız, modifiye Duke kriterlerine göre değerlendirilmiş ve endokardit tanısı dışlanmıştır. Hastanın kan sayımı parametreleri ve biyokimyasal değerleri AST yüksekliği (58 U/L) dışında normal olup, sedimantasyon değeri 32 mm/saat ve CRP değeri 18.3 mg/L ile yüksek saptanmıştır. Hastaya ait dışkı örneğinin mikroskopik incelemesinde anormal bir bulgu saptanmamıştır. Dışkı örneği, *Clostridium difficile* toksin A+B, *Entamoeba histolytica* adezin antijeni ve rotavirus antijen testleri açısından da negatif saptanmıştır. BACTEC-9050 (Becton Dickinson, ABD) kan kültür cihazına yüklenen kan kültürlerinin tamamından ikinci günde üreme sinyali alınmış, kültür şişelerinden alınan örnekler %5 koyun kanlı agar, çikolatamsı agar ve MacConkey agar besiyerlerine ekilerek aerobik ve anaerobik koşullarda 37°C'de inkübe edilmiştir. Aerobik kültürde 18-24 saatlik inkübasyon sonunda beta-hemolitik, gri renkli geniş koloniler üremiş, MacConkey agarda ve anaerop şartlarda yapılan 48 saatlik inkübasyon sonunda üreme olmamıştır. Kolonilerden yapılan Gram boyamada gram-pozitif çomaklar görülmüştür. Bakteri, Phoenix-100 (Becton Dickinson, ABD) cihazının Gram pozitif tanımlama paneli ile %99 doğruluk oranıyla *Bacillus pumilus* olarak tanımlanmış; bu sonuç, MALDI-TOF temelli VITEK MS sistemi (BioMerieux, Fransa) ve 16S rRNA dizi analizi ile Illumina MiSeq platformu (Illumina Inc., ABD) kullanılarak doğrulanmıştır. 16S rRNA V4 bölgesinden 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) ve 806R (GGACTACVSGGTATCTAAT) primerleri kullanılarak elde edilen PCR ürünü (~420 bç) dizilenmiş ve sonuçlar BLAST v2.0 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) kullanılarak değerlendirilmiştir. Buna göre izolatanın, *B.pumilus* COPE46 suşu (GenBank accession number KP634922.1) ile %98 uyumlu olduğu saptanmıştır.

İzolatanın antimikrobiyal duyarlılık testi, Phoenix-100 cihazında sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile çalışılmış ve penisilin, vankomisin, eritromisin, klindamisin, levofloksasilin

ve trimetoprim/ sülfametoksazol için minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sırasıyla  $> 0.06$ ,  $\leq 0.5$ ,  $\leq 0.25$ ,  $\leq 0.25$ ,  $\leq 1$  ve  $\leq 0.5/9.5$  olarak belirlenmiştir. Hastaya destek tedavisinin yanı sıra ampirik olarak intravenöz seftriakson (1000 mg, 2x1) ve metronidazol (500 mg, 2x1) başlanmıştır. Tedavinin ikinci gününde tansiyon normale yakın seyretmeye başlamış, tüm tedavi süresince 110/60 mmHg civarında devam etmiştir. Tedavinin 3. gününde ateş normale dönmüş ve tedavi boyunca normal seyretmiştir. Nabız, tedavi süresince 72-90/dk aralığında düzenli seyretmiştir. Tedavinin 7. gününde metronidazol kesilerek tedaviye seftriakson ile devam edilmiştir. On dört güne tamamlanan tedavi sonunda genel durumu düzelen hastanın sedimantasyon ve CRP değerleri normale dönmüştür. Enfektif endokardit açısından tekrar konsülte edilen hastanın TTE incelemesinde vejetasyona rastlanmadığından taburcu edilmiştir.

## TARTIŞMA

İnsan için primer patojen olarak kabul edilen *B.anthraxis* ve besin zehirlenmelerinden sorumlu olan *B.cereus* dışındaki *Bacillus* türleri nadiren hastalığa neden olmaktadır<sup>1,6</sup>. Bu fırsatçı patojenlerin, özellikle immün sistemi baskılanmış veya vücudunda kateter, şant gibi yabancı cisim bulunan kişilerde enfeksiyona yol açabildiği rapor edilmiştir<sup>2-7</sup>. *B.pumilus*'un ise, kateter ile ilişkili bakteriyemi, endokardit ve özellikle hematolojik kanserli hastalarda dolaşım yolu enfeksiyonlarından sorumlu olduğu gösterilmiştir<sup>4,8-12</sup>. *B.pumilus*'un etken olarak izole edildiği diğer olgular arasında; besin zehirlenmesi, endodontik ve periodontal enfeksiyonlar ve cilt enfeksiyonları yer almaktadır<sup>13-16</sup>. Bakterinin nadir de olsa çok farklı klinik örneklerden izole edilmiş olması dikkat çekicidir. Bildirilen sepsis olgularının çoğunda, bakteri kaynağının intravenöz kateterler olduğu belirtilmektedir<sup>4,10,11</sup>. Herhangi bir immün süpresyon durumu olmayan hastamızda ise, yapay kalp kapakları risk faktörü olarak düşünülmüştür.

Literatürde, *B.pumilus*'un beta-laktam grubu antibiyotiklere duyarlı bulunduğu bildirimler olmakla beraber, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları ile tedavi edilen olgular da bulunmaktadır<sup>10-12,16,17</sup>. Hastamızda da seftriakson ve metronidazol kombinasyonu ile ampirik antibiyotik tedavisi başlanmış, hastanın durumunun iyiye gitmesi ve kan kültüründe anaerob bakteri saptanmaması üzerine metronidazol tedavisi kesilerek, etkili olduğu düşünülen seftriakson ile tedavi tamamlanmıştır. *Bacillus* türleri için belirlenmiş duyarlılık standartlarının olmaması ve hastamızın tedaviye yanıt vermesi nedeniyle seftriakson tedavisi değiştirilmemiştir. Sonuç olarak, özellikle kemoterapi alan hastalar veya intravenöz kateter ve yapay kalp kapağı gibi yabancı cisim ile ilişkili enfeksiyonlar söz konusu olduğunda, klinik örneklerden izole edilen *B.pumilus* suşlarının patojen olabileceği unutulmamalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (eds). *Bacillus*, pp: 209-15. In: Medical Microbiology. 2013, 7<sup>th</sup> ed. Elsevier, Saunders, Philadelphia.
2. Castedo E, Castro A, Martin P, Roda J, Montero CG. *Bacillus cereus* prosthetic valve endocarditis. Ann Thorac Surg 1999; 68(6): 2351-2.

3. Matsumoto S, Suenaga H, Naito K, Sawazaki M, Hiramatsu T, Agata N. Management of suspected nosocomial infection: an audit of 19 hospitalized patients with septicemia caused by *Bacillus* species. *Jpn J Infect Dis* 2000; 53(5): 196-202.
4. Ozkocaman V, Ozcelik T, Ali R, et al. *Bacillus* spp. among hospitalized patients with haematological malignancies: clinical features, epidemics and outcomes. *J Hosp Infect* 2006; 64(2): 169-76.
5. Shah M, Patnaik S, Wongrakpanich S, Alhamshari Y, Alnabelsi T. Infective endocarditis due to *Bacillus cereus* in a pregnant female: A case report and literature review. *IDCases* 2015; 2(4): 120-3.
6. Tuazon CU. *Bacillus* species. Antimicrobe, Infectious Disease & Antimicrobial Agents. Available at: <http://www.antimicrobe.org/b82.asp>
7. Gaur AH, Shenep JL. The expanding spectrum of disease caused by *Bacillus cereus*. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20(5): 533-4.
8. Banerjee C, Bustamante CI, Wharton R, Talley E, Wade JC. *Bacillus* infections in patients with cancer. *Arch Intern Med* 1988; 148(8): 1769-74.
9. Apisarnthanarak A, Little JR, Stoner BP. Endocarditis due to *Bacillus pumilus*: the significance of non-cereus, non-anthraxis *Bacillus*. *J Infect Dis Antimicrob Agents* 2003; 20(3): 155-7.
10. Bentur HN, Dalzell AM, Riordan FA. Central venous catheter infection with *Bacillus pumilus* in an immunocompetent child: a case report. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2007; 6:12.
11. Kimouli M, Vrioni G, Papadopoulou M, et al. Two cases of severe sepsis caused by *Bacillus pumilus* in neonatal infants. *J Med Microbiol* 2012; 61(Pt 4): 596-9.
12. Farhat H, Chachaty E, Antoun S, Nitenberg G, Zahar JR. Two cases of *Bacillus* infection and immunodepression. *Med Mal Infect* 2008; 38(11): 612-4.
13. Suominen I, Andersson MA, Andersson MC, et al. Toxic *Bacillus pumilus* from indoor air, recycled paper pulp, Norway spruce, food poisoning outbreaks and clinical samples. *Syst Appl Microbiol* 2001; 24(2): 267-76.
14. From C, Hormazabal V, Granum PE. Food poisoning associated with pumilacidin-producing *Bacillus pumilus* in rice. *Int J Food Microbiol* 2007; 115(3): 319-24.
15. Johnson BT, Shaw LN, Nelson DC, Mayo JA. Extracellular proteolytic activities expressed by *Bacillus pumilus* isolated from endodontic and periodontal lesions. *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 5): 643-651.
16. Tena D, Martinez-Torres JA, Perez-Pomata MT, et al. Cutaneous infection due to *Bacillus pumilus*: report of 3 cases. *Clin Infect Dis* 2007; 44(4): e40-2.
17. Weber DJ, Saviteer SM, Rutala WA, Thomann CA. In vitro susceptibility of *Bacillus* spp. to selected antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32(5): 642-5.