

# Lumbo-peritoneal Şanlı Hastada *Globicatella sanguinis*'e Bağlı Menenjit Olgusu

## A Case of Meningitis Caused by *Globicatella sanguinis* in a Patient with a Lumbo-peritoneal Shunt

Mürşit HASBEK<sup>1</sup>, Kübra FIRTINA TOPÇU<sup>1</sup>, Ünal ÖZÜM<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas.

<sup>1</sup> Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Sivas, Turkey.

<sup>2</sup> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Sivas.

<sup>2</sup> Sivas Cumhuriyet University Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Sivas, Turkey.

**Makale Atfı:** Hasbek M, Firtına Topçu K, Özüm Ü. Lumbo-peritoneal şanlı hastada *Globicatella sanguinis*'e bağlı menenjit olgusu. Mikrobiyol Bul 2019;53(3):343-347.

### ÖZ

*Globicatella sanguinis*, 1992'de yeni bir cins olarak tanımlanan, katalaz negatif, alfa-hemolitik, hareketsiz, fakültatif anaerob gram-pozitif kok şeklinde bir bakteridir. Kanlı agarda koloni morfolojisi ve mikroskopik görünümü streptokoklara benzediğinden, önceleri *Streptococcus viridans* grubu içerisinde tanımlanan bazı izolatların *G.sanguinis* türünü de içerdiği düşünülmektedir. *G.sanguinis* tanımlandığı yıldan günümüze kadar çeşitli klinik örneklerden izole edilmiş, tür tanımlaması yapılmış ve antibiyotik duyarlılıkları test edilmiştir. İzole edildiği klinik örnekler arasında çeşitli mukozal yüzeyler, kan, idrar, yara ve beyin omurilik sıvısı bulunmaktadır. Bu raporda daha önce bu alanda yapılan çalışmalar da göz önüne alınarak, menenjite neden olduğu düşünülen ve *G.sanguinis* tespit edilen olgunun sunulması amaçlanmıştır. Lumbo-peritoneal şanti olan 39 yaşındaki kadın hasta baş ağrısı ve görme kaybı ile beyin cerrahisi polikliniğine başvurmuş ve psödötümör serebri ön tanısı ile servise yatırılmıştır. Nörolojik muayenesinde patolojik bulgu saptanmamıştır. Göz muayenesinde hafif papil ödemi, lokal retinal kanama ve retinal damarlanmada iki taraflı genişleme tespit edilmiştir. Beyin manyetik rezonans görüntülemesinde patolojik bulgu izlenmemiştir. Lumbo-peritoneal şant uygulanan hastanın yatışının 10. gününde ense sertliği, ateş ve taşikardi gelişmesi üzerine alınan beyin omurilik sıvısından, alfa hemolitik streptokoklara benzeyen koloniler üremiştir. İzolat laboratuvarımızda mevcut olan, Bruker IVD MALDI Biotyper 2.3 (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Almanya) cihazında yapılan tanımlamada, > 2 skorla *G.sanguinis* olarak tanımlanmıştır. İzolatın tür düzeyinde kesin tanımlanması 16S rDNA dizi analizi ile yapılmış ve işlem sonucunda bakterinin %100 benzerlik ve kapsama ile *G.sanguinis* olduğu belirlenmiştir. Bazı antibiyotikler için minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) agar gradiyent yöntemi ile belirlenmiştir. İzolatın MİK değerleri; linezolid 0.50 µg/ml, vankomisin 0.75 µg/ml, imipenem 0.75 µg/ml, meropenem 3 µg/ml, penisilinG 6 µg/ml ve sefotaksim > 32 µg/ml olarak bulunmuştur. Birçok laboratuvarında MALDI-TOF MS temelli cihazların kullanımına girmesi ile birlikte, nadir görülen türlere ait izolatların daha fazla sayıda izole edilebildiği bilinmektedir. Nadir görülen bu bakteri türünün daha sık izolasyonu sonucu, bakterinin klinik önemi, floraya yerleşimi ve antibiyotik duyarlılığına ait bilgilerimiz de artış gösterecektir.

**Anahtar kelimeler:** *Globicatella sanguinis*; MALDI-TOF MS; 16S rDNA gen dizilimi.

**İletişim (Correspondence):** Dr. Mürşit Hasbek, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sivas, Merkez, Türkiye. Tel (Phone): +90 346 258 1371, E-posta (E-mail): mhasbek@hotmail.com

## ABSTRACT

*Globicatella sanguinis* is catalase-negative, alpha-hemolytic, nonmotile, facultative anaerobic gram-positive cocci, identified as a new species in 1992. Since the colony morphology in blood agar and microscopic appearance resembles streptococci, it is thought that some of the isolates previously identified in the *Streptococcus viridans* group were *G. sanguinis* species. *G. sanguinis* has been isolated from various clinical specimens, its species identification and antibiotic susceptibility have been tested since the year it was identified. Clinical specimens in which it is isolated include various mucosal surfaces, blood, urine, wound and cerebrospinal fluid. In this report, considering also the literature information, a case of *G. sanguinis* which is thought to cause meningitis was presented. Our case is a 39-year-old female patient with a lumboperitoneal shunt. The patient was admitted to the neurosurgery clinic with a headache and vision loss and was hospitalized in the service with a pre-diagnosis of pseudotumor cerebri. Neurological examination revealed no pathological findings. Eye examination revealed mild papillary edema, local retinal hemorrhage, and bilateral expansion in retinal vascularization. There was no pathologic findings in the brain magnetic resonance imaging. The colonies resembling alpha hemolytic streptococci were isolated from the cerebrospinal fluid taken upon the development of neck stiffness, fever, and tachycardia on the 10<sup>th</sup> day of hospitalization of the lumbo-peritoneal shunt administered patient. The identification of the isolate was determined in Bruker IVD MALDI Biotyper 2.3 (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany), available in our laboratory and it was identified as *G. sanguinis* (KJ680157.1) with a score of > 2. The definite identification of the isolate at the species level was made by 16S rDNA sequence analysis and it was determined that the bacterium was *G. sanguinis* with 100% similarity and coverage. The minimum inhibitory concentration (MIC) for some of the antibiotics was determined by the agar gradient method. The MIC values were found as; linezolid 0.50 µg/ml, vancomycin 0.75 µg/ml, imipenem 0.75 µg/ml, meropenem 3 µg/ml, penicillin G 6 µg/ml and cefotaxime > 32 µg/ml. It is known that these rare isolates can be isolated in greater numbers along with the introduction of MALDI-TOF MS-based devices in many laboratories. Following greater numbers of isolation of this rare species of bacteria, our knowledge about its clinical significance, placement in the flora and antibiotic susceptibility will also be expanded.

**Keywords:** *Globicatella sanguinis*; MALDI-TOF MS; 16S rDNA gene sequencing.

## GİRİŞ

*Globicatella sanguinis* 1992'de yeni bir cins olarak tanımlanan katalaz negatif, alfa-hemolitik, hareketsiz, fakültatif anaerop gram-pozitif kok şeklinde bir bakteridir<sup>1</sup>. *Globicatella* türlerinin diğer katalaz negatif gram-pozitif koklardan ayrımı güçtür<sup>2</sup>. Kanlı agar-da koloni morfolojisi ve mikroskopik görünümü streptokoklara benzediğinden önceleri *Streptococcus viridans* grubu olarak tanımlanan bazı izolatların, *G. sanguinis* izolatlarını da içerdiği düşünülmektedir<sup>3</sup>. Bakterinin insan florasında çeşitli mukozal yüzeylerde bulunduğu ve kan, idrar, beyin omurilik sıvısı (BOS), yara gibi çeşitli klinik örneklerden izole edildiği bildirilmiştir<sup>4,5</sup>. Bu çalışmada menenjite neden olduğu düşünülen ve *G. sanguinis* tespit edilen olgunun sunulması amaçlanmıştır.

## OLGU SUNUMU

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Beyin Cerrahisi servisinde psödötümör serebri tanısı ile yatan 39 yaşında kadın hasta hastanemize baş ağrısı ve görme kaybı ile başvurdu. Hastanın sistemik muayenesi ve laboratuvar bulguları normal sınırlarda bulundu. Nörolojik muayenesinde patolojik bulgu saptanmadı. Göz muayenesinde hafif pupil ödemi, lokal retinal kanama ve retinal damarlanmada iki taraflı

genişleme saptandı. Görsel alan testi her iki gözde kör noktanın genişlediğini gösterdi. Beyin manyetik rezonans (MRI) görüntülemesinde patolojik bulgu tespit edilmeyen hastanın lomber ponksiyonu sonrasında BOS basıncı 30 mmHg olarak ölçüldü. Psödötümör serebri tanısıyla genel anestezi altında sol lateral dekübit pozisyonda lumbo-peritoneal şant uygulandı. Ameliyat sonrası onuncu günde hastada konfüzyon gelişti. Sistemik muayenede ense sertliği, 38°C ateş ve taşikardi (120/dk) saptandı.

Lomber ponksiyon ile alınan BOS örneğinde artmış protein düzeyi ve lökosit, düşük glukoz seviyesi saptandı. Boyasız direkt incelemede 890 lökosit/mm<sup>3</sup>, Gram boyamada ise gram-pozitif kok görüldü. Enfeksiyon hastalıklarının konsültasyon önerisi ile vankomisin ve meropenem başlanan hastanın takibinde ise şantın çıkarılması planlandı. Lumbo-peritoneal şant sistemi genel anestezi altında çıkarıldı. Laboratuvarımıza gönderilen BOS örneğinin, BD Directigen Meningitis Combo test (Becton, Dickinson and Company Sparks, ABD) ile yapılan aglütinasyon testinde negatif sonuç saptandı. İkinci günde BACTEC 9120 (Becton Dickinson Diagnostic Instrument System, Spark, ABD) otomatize kan kültür sisteminde pozitif sinyal alındı. %5 koyun kanlı agarda 37°C'de %5-10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 18-20 saat inkübasyon sonrası, saf kültür şeklinde alfa hemolitik streptokoka benzer koloniler üredi. Bu kolonilerden yapılan Gram boyamada tek veya zincir yapmış şekilde gram-pozitif kok görüldü. İzolat laboratuvarımızda mevcut olan, Bruker IVD MALDI Biotyper 2.3 (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Almanya) cihazında yapılan incelemede, > 2 skorla *G.sanguinis* olarak tanımlandı.

Nadir izole edilen bakterilerden olması nedeniyle izolatın tür düzeyinde kesin tanımlanması 16S rDNA dizi analizi ile yapıldı. DNA izolasyonu için "DNeasy Blood & Tissue Kits (Qiagen, Almanya)" kullanıldı. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) uygulamalarında bakteriyel 16S ribosomal DNA'ya ait yaklaşık 1400 baz çifti (bp) uzunluğunda bir bölge 27F 5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3' ve 1492R 5'- TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3' primerleri kullanılarak çoğaltıldı. PCR reaksiyonları 50 µl son hacimde hazırlanmış olup, reaksiyon ortamına 0.5 U Taq DNA polimeraz, 5 µl 10× reaksiyon tamponu (100 mM Tris-HCl, pH 8.8, 500 mM KCl, %0.8 Nonidet P-40), primer çiftlerinin her birinden 10 pmol (Macrogen, ABD), 0.2 mM dNTP (MBI Fermentas, ABD), 3 mM MgCl<sub>2</sub> ve 10-200 ng kalıp DNA eklendi. PCR uygulamalarında; 94°C'de 5 dakikalık başlangıç denatürasyonu ve sonrasında 33 döngüden oluşan; 94°C'de 40 saniye denatürasyon, 51°C'de 40 saniye primer bağlanma, 72°C'de 1 dakika uzama ve ardından 72°C'de 10 dakika son uzama adımları takip edildi. PCR ürünleri %1 agaroz jel elektroforezde yürütüldü. Çalışmalarda PCR için T100™ Thermal Cycler (BIORAD, ABD) cihazı, DNA dizi analizi için ise 3730 xl DNA Analyzer (ThermoFisher, ABD) cihazı kullanıldı. Dizileme işlemleri ileri ve geri yönlü primerler kullanılarak çift yönlü olarak gerçekleştirildi. İleri ve geri yönlü ham dizi okumalarını içeren .ab1 formatındaki dosyalar Geneious R9 programı kullanılarak birleştirilerek, dizilere ait pikler gözle kontrol edildi. Kontrol edilen diziler daha sonra 1366 bp uzunluğunda konsensüs diziyi içeren tek bir dizi şeklinde fasta formatında biçimlendirilerek BOS 16S.fasta olarak kaydedildi. Elde edilen dizi verisi

BLAST veri tabanında taranarak izole edilen bakterinin %100 benzerlik ve kapsama ile *G.sanguinis* (KJ680157.1) olduğu belirlendi. Antibiyotik gradiyent yöntemi ile antibiyotiklere karşı minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri belirlendi. Bakterinin MİK değerleri; linezolid 0.50 µg/ml, vankomisin 0.75 µg/ml, imipenem 0.75 µg/ml, meropenem 3 µg/ml, penisilin G 6 µg/ml ve sefotaksim > 32 µg/ml olarak belirlendi.

## TARTIŞMA

*G.sanguinis* ilk olarak 1992 yılında Collins ve arkadaşları<sup>1</sup> tarafından yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlamayı takiben olgumuzda da olduğu gibi çeşitli klinik örneklerden izole edilerek tür düzeyinde tanımlanmış ve antibiyotik duyarlılıkları test edilmiştir. Takahashi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada<sup>5</sup>, 87 yaşında kadın hastada idrar yolu enfeksiyonunu takiben gelişen enfektif endokardit olgusu sunulmuş ve klinik örneklerden *G.sanguinis* izole edilen 42 adet olguya ait bilgiler verilmiştir. Bu çalışmada bakterinin çoğunlukla kandan izole edildiği ancak yanı sıra idrar, BOS ve eklemde de izole edilebileceği bildirilmiştir. Olguların yaş aralığı ise 1-94 arasında bulunmuştur. Tüm yaş gruplarını kapsayan bir dağılım gösterse de, yaşı belirlenebilen 31 olgunun 19'unun 70 yaş ve üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Ancak buradan hareketle *G.sanguinis* enfeksiyonları için ileri yaşın risk faktörü olduğu kanaatine ulaşmak şu an için pek mümkün gözükmemektedir. Nitekim bu çalışmada sunulan olgumuz da 39 yaşındadır. Birçok çalışmada bakterinin kesin izolasyonuna ait bilgi sağlanabilen olguların büyük çoğunluğunda tanımlama için MALDI-TOF MS temelli sistemler veya 16S rRNA dizi analizi yöntemi kullanıldığı dikkati çekmektedir. Bu durum, nadir görülen bakteri türlerinin tanımlanmasında konvansiyonel sistemlerin yetersiz kalabildiğini, yanı sıra otomatize tanımlama sistemlerinin de veri tabanı güncellemelerinin her zaman yeterli olmadığını düşündürmektedir.

*G.sanguinis* için antibiyotik duyarlılığının en geniş kapsamda ele alındığı ve 27 izolatın değerlendirildiği Shewmaker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada<sup>6</sup> tüm izolatlar amoksisilin ve vankomisine duyarlı bulunmuştur. Sadece bir izolat levofloksasine dirençli bulunurken diğerleri duyarlı olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada iki izolat, penisilin MİK değerleri açısından orta dirençli olarak tanımlanmıştır. Sefuroksim, sefotaksim, meropenem, eritromisin, trimetoprim-sülfametoksazol, klindamisin, kloramfenikol ve tetrasiklin için ise farklı antibiyotik duyarlılık yüzdeleri elde edilmiştir. Çalışmamızda test edilebilen antibiyotik duyarlılık sonuçları bu çalışma sonuçları ile uyumlu görünmektedir.

Ülkemizden yapılan bir olgu sunumunda, Aktaş ve arkadaşları<sup>2</sup> kronik hemodiyaliz programına alınan bir hastada gelişen kateter ilişkili bakteriyemi sonrasında Phoenix (Becton Dickinson, ABD) otomatik identifikasyon sistemi ile kanda *G.sanguinis* tanımlamıştır. Bakteri izolatı, MALDI-TOF MS temelli Microflex MS (Bruker, Daltonics, Almanya) platformunda *G.sulfidifaciens* olarak tanımlanmış ve Bruker MALDI Biotyper kütüphanesinde ise *G.sanguinis*'in yer almadığı bildirilmiştir. Nadir görülen bakteri türlerinin daha sık izolasyonunu takiben, olguların klinik verileri, floraya yerleşimi, antibiyotik duyarlılığına ait bilgilerimiz de genişleyecektir. Bu sayede *G.sanguinis*'e bağlı gelişen enfeksiyonların tedavisinde doğru yaklaşımlar geliştirebilmek mümkün olacaktır.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Collins MD, Aguirre M, Facklam RR, Shallcross J, Williams AM. *Globicatella sanguis* gen.nov., sp.nov., a new gram-positive catalase-negative bacterium from human sources. J Appl Bacteriol 1992;73(5):433-7.
2. Aktaş E, Gürsoy C, Sakacı T, Koç Y, Hamidi A, Bulut E, et al. Femoral hemodialysis catheter-related bacteremia due to *Globicatella sanguinis*: Challenges in species identification. Mikrobiyol Bul 2017;51(2):177-82.
3. Jain N, Mathur P, Misra MC. *Globicatella sanguinis* meningitis in a post head trauma patient: first case report from Asia. J Infect Dev Ctries 2012;6(7):592-4.
4. Matusnami M, Otsuka Y, Ohkusu K, Sogi M, Kitazono H, Hosokawa N. Urosepsis caused by *Globicatella sanguinis* and *Corynebacterium riegelii* in an adult: case report and literature review. J Infect Chemother 2012;18(4):552-4.
5. Takahashi S, Xu C, Sakai T, Fujii K, Nakamura M. Infective endocarditis following urinary tract infection caused by *Globicatella sanguinis*. IDCases 2017;11:18-21.
6. Shewmaker PL, Steigerwalt AG, Shealey L, Weyant R, Facklam RR. DNA relatedness, phenotypic characteristics, and antimicrobial susceptibilities of *Globicatella sanguinis* strains. J Clin Microbiol 2001;39(11):4052-7.