

# MALDI-TOF MS'le *Roseomonas gilardii* Olarak Tanımlanan *Brucella melitensis*: Bir Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarının Deneyimi

*Brucella melitensis* Misidentified as *Roseomonas gilardii* by MALDI-TOF MS: Experience of a Clinical Microbiology Laboratory

Muharrem Çiçek<sup>1</sup>, Asiye Bıçakçığıl<sup>1</sup>, Bekir Çelebi<sup>2</sup>, Burçin Şener<sup>1</sup>, Banu Sancak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Ulusal Yüksek Riskli Patojenler Referans Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

## Özet

Bu bildiri, kan kültüründe üretilmiş *Brucella melitensis*'in, VITEK® MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) matrisle desteklenmiş lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) mikrobiyal tanımlama sistemi tarafından *Roseomonas gilardii* olarak yanlış tanımlanmasına dikkat çekilmiştir. Nörobruselloz ön tanılı 42 yaşında erkek hastanın kan ve serum örnekleri, bakteriyoloji ve seroloji laboratuvarlarında değerlendirildi. Pozitif kan kültürü şişelerinden izole edilen Gram-negatif kokobasil, VITEK® MS tarafından *R. gilardii* olarak tanımlandı; ancak VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) MALDI-TOF MS mikrobiyal tanımlama sistemiyle tanımlanamadı. Serolojik testler bruselloz için pozitif bulundu ve yanlış tanımlama olasılığı için önemli bir ipucu oldu. İzole edilen mikroorganizma doğru tanımlama için Ulusal Referans Laboratuvarı'nda polimeraz zincir reaksiyonu ve biyotiplemeyle *B. melitensis* olarak doğrulandı. Brusellozun endemik olduğu ülkelerde mikrobiyoloji laboratuvarları, *Brucella* türlerinin tanımlanması için ticari bakteriyel tanımlama sistemleri kullanırken dikkatli olmalıdır. *Klimik Dergisi* 2019; 32(1): 105-7.

**Anahtar Sözcükler:** *Roseomonas gilardii*, *Brucella melitensis*, MALDI-TOF MS.

## Abstract

Misidentification of a blood culture isolate of *Brucella melitensis* as *Roseomonas gilardii* by the VITEK® MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) microbial identification system is herein drawn attention. Blood and serum samples of a 42-year-old male with pre-diagnosed neurobrucellosis were evaluated in bacteriology and serology laboratories. Gram-negative coccobacilli from positive blood culture bottle were identified as *R. gilardii* by VITEK® MS, but it was not identified by VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) MALDI-TOF MS microbial identification system. Serological tests were positive for brucellosis, so it was an important clue for the possibility of a misidentification. The isolated organism was confirmed as *B. melitensis* by polymerase chain reaction and biotyping in the National Reference Laboratory. Microbiology laboratories in countries where brucellosis is endemic must be careful while using commercial bacterial identification systems for identification of *Brucella* spp. *Klimik Dergisi* 2019; 32(1): 105-7.

**Key Words:** *Roseomonas gilardii*, *Brucella melitensis*, MALDI-TOF MS.

**ORCID iDs of the authors:** M.Ç. 0000-0002-8619-2722; A.B. 0000-0002-4537-0131; B.Ç. 0000-0002-4545-5573; B.Ş. 0000-0002-0724-3166; B.S. 0000-0002-0098-4674

**Cite this article as:** Çiçek M, Bıçakçığıl A, Çelebi B, Şener B, Sancak B. [Brucella melitensis misidentified as Roseomonas gilardii by MALDI-TOF MS: experience of a clinical microbiology laboratory]. *Klimik Derg.* 2019; 32(1): 105-7. Turkish.

XXXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (16-20 Kasım 2016, Antalya)'nde bildirilmiştir. Presented at the XXXVII<sup>th</sup> Turkish Microbiology Congress (16-20 November 2016, Antalya).

## Yazışma Adresi / Address for Correspondence:

Banu Sancak, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

E-posta/E-mail: banusancak@yahoo.com

(Geliş / Received: 28 Haziran / June 2018; Kabul / Accepted: 16 Aralık / December 2018)

DOI: 10.5152/kd.2019.24

## Giriş

Dünya üzerinde en yaygın zoonoz olarak bilinen ve ülkemizde endemik bir enfeksiyon olan bruselloz, enfekte hayvanların dokularına temas veya ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara bulaşmaktadır (1,2). *Brucella* türlerinin doğru ve hızlı tanımlanması, uygun tedavinin en kısa sürede başlaması için çok önemlidir. Bu bildiride, kan kültüründe üretilmiş *Brucella melitensis*'in, VITEK® MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) matrisle desteklenmiş lazer dezorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanı kütle spektrometrisi (MALDI-TOF MS) mikrobiyal tanımlama sistemi tarafından *Roseomonas gilardii* olarak yanlış tanımlanmasına dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

## Olgu

Geceleri titremeye yükselen ve terlemeyle düşen ateş şikayetiyle hastanemize başvuran 42 yaşında erkek hasta, nörolojik semptomların gözlemlenmesi üzerine nörobruselloz ön tanısıyla hastaneye yatırılmıştı. Dört ay öncesinde taze koyun peyniri yeme öyküsü de bulunan hastanın örnekleri, bakteriyoloji ve seroloji laboratuvarlarında değerlendirildi. Bakteriyoloji laboratuvarında, Bact/Alert® 3D (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize kan kültürü cihazında 59 saat sonunda pozitif sinyal alınan kan kültürü şişelerinden kültür plaklarına pasaj yapıldı. Bir günlük inkübasyon sonunda saf şekilde elde edilen non-hemolitik, saydam, düz, küçük kolonilerin Gram boyamasında Gram-negatif kokobasiller görüldü. VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) otomatize sisteminde tanımlanamayan bu bakteriler, VITEK® MS (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Fransa) MALDI-TOF MS mikrobiyal tanımlama sistemi tarafından *R. gilardii* olarak tanımlandı. Oksidaz, katalaz ve üreaz testi pozitif olarak tespit edildi. Eşzamanlı olarak seroloji laboratuvarında, Metser Coombs'lu Brucella Test (MCBT) (Metserlab Biyolojik Ürünler, İstanbul, Türkiye) kullanılarak serum *Brucella* antikor titresi 1/1280 olarak belirlendi. Ayrıca, Serion ELISA Classic Brucella IgM/IgG (Institut Virion/Serion GmbH, Würzburg, Almanya) ile *Brucella* IgG ve IgM sırasıyla 95.1 İÜ/ml (pozitif) ve 52.0 İÜ/ml (pozitif) olarak bulundu. Ulusal Yüksek Riskli Patogenler Referans Laboratuvarı'nda hastadan izole edilen bakteri suşuna polivalan *Brucella* antiserumuyla yapılan lam aglütinasyonu pozitif sonuç verdi. İzolattan DNA ekstraksiyonu yapıldı ve Baily ve arkadaşları (3)'nce tanımlanan B4/B5 primerlerinin kullanıldığı ve Rotor-Gene® Q (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) cihazında yapılan *Brucella* "real-time" polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile izolat *Brucella* spp. olarak tanımlandı. Ayrıca izolat, CO<sub>2</sub> gereksinimi, üreaz aktivitesi, H<sub>2</sub>S oluşumu, faj duyarlılığı, tiyoin ve bazik fuksin duyarlılığı, monospesifik antiserumla yapılan aglütinasyon sonucunda gerçekleştirilen biyotiplendirmeye de *B. melitensis* olarak tanımlandı (2).

## İrdeleme

Zoonoz etkenlerinden, *B. abortus* (sığıır), *B. suis* (domuz), *B. canis* (köpek, tilki) ve *B. melitensis* (koyun, keçi), insanlarda görülen bruselloz olgularının çoğundan sorumlu türlerdir (1,2). Olgumuzun taze koyun peyniri yeme öyküsü ve etken

olarak *B. melitensis* izolasyonu, koyun ve keçilerle *B. melitensis* ilişkisini desteklemektedir.

Brusellozda doğru tanıya ulaşmada, klinisyen-mikrobiyolog işbirliği önemlidir. Ayrıca bruselloz, rapor edilen en yaygın laboratuvar kaynaklı enfeksiyon olması nedeniyle laboratuvar güvenliği için bruselloz şüpheli örneklerin gönderiminden önce laboratuvar, klinisyen tarafından bilgilendirilmelidir (1). Olgumuzda, klinisyenler tarafından nörobruselloz ön tanısıyla örnekler laboratuvarımıza gönderilmiş ve biyogüvenlik prosedürlerine uygun olarak hem kültür hem de serolojik testler yapılmıştır.

Bruselloz tanısı, klinik örneklerden etkenin izolasyonu veya antikor yanıtının gösterildiği serolojik yöntemlere dayanmaktadır (1). Kesin tanı için klinik örneklerden izolasyon olsa bile, bakterinin yavaş üremesine bağlı bildirimdeki gecikmeler, kronik enfeksiyonlarda etkenin izolasyonundaki zorluklar, deneyimli personel ihtiyacı ve laboratuvar kaynaklı enfeksiyon riski nedeniyle, serolojik testler tanıda yaygın olarak kullanılmaktadır (4). Günümüzde, doğru tanıya hızla ulaşmak için MALDI-TOF MS, otomatize sistemler ve moleküler yöntemler de kullanılmaktadır. MALDI-TOF MS, hızlı, ucuz, deneyimli personel gerektirmeyen, kullanılan cihazların veri tabanlarının gün geçtikçe zenginleşmesiyle mikroorganizmalarını cins ve tür bazında tanımlayabilen ve bu sebeplerle günümüzün konvansiyonel ve moleküler tanımlama yöntemlerine bir alternatif oluşturan nispeten yeni bir yöntemdir (5). Ancak, özellikle nadir görülen izolatlarda olmak üzere, MALDI-TOF MS ile elde edilen identifikasyon sonuçları konvansiyonel yöntemlerle desteklenmeli ve gerektiğinde DNA dizi analiziyle doğrulanmalıdır. İzolatımız, VITEK® 2 Compact otomatize sistemiyle tanımlanamazken, MALDI-TOF MS ile Gram-negatif aerop bir kokobasil olan ve insanda nadir bir enfeksiyon etkeni olan *R. gilardii* olarak hatalı tanımlanmıştır (6). Literatürde *Brucella* türlerinin MALDI-TOF MS ve otomatize sistemlerle hatalı tanımlandığı vertebral osteomyelit, bakteriyemi, nedeni bilinmeyen ateş ve endokardit gibi tanıları farklı olgular bulunmaktadır (7-10).

Ülkemiz gibi brusellozun endemik olduğu bölgelerde kan kültüründe oksidaz- ve katalaz-pozitif bir Gram-negatif kokobasil izole edildiğinde ayırıcı tanıda *Brucella* spp. unutulmamalıdır. MALDI-TOF MS tabanlı hızlı tanı sistemleriyle *Brucella* spp. tanısının atlanabileceği ve kesin tanı için ek fenotipik ve/veya moleküler testlerin uygulanması gerektiği göz önünde bulundurulmalıdır.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

## Kaynaklar

1. Klinik Bakteriyoloji Tanı Standartları Çalışma Grubu. *Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS): Brusellozun Mikrobiyolojik Tanısı*. Ankara: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, 2015.
2. Corbel MJ, Elberg SS, Cosivi O, eds. *Brucellosis in Human and Animals*. Geneva: World Health Organization 2006.
3. Baily GG, Krahn JB, Drasar BS, Stoker NG. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. *J Trop Med Hyg*. 1992; 95(4): 271-5.

4. Çerekci A, Kılıç S, Bayraktar M, Uyanık MH, Yaşar E, Esen B. İnsan kaynaklı *Brucella* izolatlarının tanımlama ve tiplendirmesinde konvansiyonel yöntemler ile gerçek zamanlı multipleks polimeraz zincir reaksiyonunun karşılaştırılması. *Mikrobiyol Bül.* 2011; 45(3): 392-400.
5. Yılmaz S, Duyan S, Artuk C, Diktaş H. Mikrobiyolojik tanımlamada MALDI-TOF MS uygulamaları. *TAF Prev Med Bull.* 2014; 13(5): 421-6. [\[CrossRef\]](#)
6. Shokar NK, Shokar GS, Islam J, Cass AR. *Roseomonas gilardii* infection: case report and review. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(12): 4789-91. [\[CrossRef\]](#)
7. Trêpa J, Mendes P, Gonçalves R, et al. *Brucella* vertebral osteomyelitis misidentified as an *Ochrobactrum anthropi* infection. *IDCases.* 2018; 11:74-6. [\[CrossRef\]](#)
8. Vila A, Pagella H, Vera Bello G, Vicente A. *Brucella suis* bacteremia misidentified as *Ochrobactrum anthropi* by the VITEK 2 system. *J Infect Dev Ctries.* 2016; 10(4): 432-6. [\[CrossRef\]](#)
9. Yang J, Ren XQ, Chu ML, Meng DY, Xue WC. Mistaken identity of *Brucella* infection. *J Clin Microbiol.* 2013; 51(6): 2011. [\[CrossRef\]](#)
10. Carrington M, Choe U, Ubillos S, et al. Fatal case of brucellosis misdiagnosed in early stages of *Brucella suis* infection in a 46-year-old patient with Marfan syndrome. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(6): 2173-5. [\[CrossRef\]](#)