

Rutin Mikrobiyoloji Laboratuvarında *Pseudomonas luteola*'nın Doğru Tanısı: İki Suş Nedeniyle*

Accurate Diagnosis of *Pseudomonas luteola* in Routine Microbiology Laboratory: On the Occasion of Two Isolates

Muharrem ÇİÇEK¹, Gülşen HASÇELİK¹, H. Kaan MÜŞTAK², K. Serdar DİKER², Burçin ŞENER¹

¹ Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

¹ Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Ankara University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Ankara, Turkey.

* Bu çalışma, 115th General Meeting of the American Society for Microbiology (May 30 - June 2, 2015, New Orleans, Louisiana, USA)'de poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 29.03.2016 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 06.06.2016

ABSTRACT

Pseudomonas luteola which was previously known as *Chryseomonas luteola*; is a gram-negative, non-fermentative, aerobic, motile, non-spore-forming bacillus. It is frequently found as a saprophyte in soil, water and other damp environments and is an opportunistic pathogen in patients with underlying medical disorders or with indwelling catheters. It has been reported as an uncommon cause of bacteremia, sepsis, septic arthritis, meningitis, endocarditis, and peritonitis. Thus, early and accurate identification of this rare species is important for the treatment and also to provide information about the epidemiology of *P.luteola* infections. This report was aimed to draw attention to the accurate identification of *P.luteola* in clinical samples, upon the isolation and identification in two cases in the medical microbiology laboratory of a university hospital. In February 2011, a 66-year-old man, with chronic obstructive pulmonary disease, coronary artery disease and aplastic anemia, was admitted to our hospital due to progressive dyspnea. A chest tube was inserted on the 20th day of admission by the reason of recurrent pleural effusion. *Staphylococcus aureus* and a non-fermentative gram-negative bacillus (NFGNB) with wrinkled, sticky yellow colonies were isolated from the pleural fluid sample obtained on the 9th day following the insertion of the chest tube. In February 2012, a 7-year-old male cystic fibrosis patient who had no signs and symptoms of acute pulmonary exacerbation was admitted to the hospital for a routine control. This patient had chronic colonization with *Pseudomonas aeruginosa* and *S.aureus* and his sputum sample obtained at this visit revealed isolation of *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Aspergillus fumigatus* and a wrinkled, sticky yellow NFGNB. Both of these NFGNB were identified as *P.luteola* by the Phoenix automated microbial identification system (BD Diagnostics, USA). To evaluate the microbiological characteristics of these two

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Gülşen Hasçelik, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye 06100, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 305 1560, **E-posta (E-mail):** ghascelik@gmail.com

isolates, the strains were further analysed by VITEK MS (bioMerieux, France) and Microflex LT mass spectrometer (Bruker Daltonics, Germany). Both of the MALDI-TOF-MS systems identified the isolates as *P.luteola* and 16S rRNA gene sequencing (ABI PRISM 3100, Applied Biosystems, USA) also confirmed the identification. The strains had wrinkled, sticky yellow colonies which were oxidase-negative, catalase-positive and non-fermentative. The Gram stained smears of the colonies revealed clusters of gram-negative bacilli probably embedded into a biofilm matrix. Since there are no accepted standards for testing the antibiotic susceptibility of *P.luteola* strains, the standards determined by CLSI for "other non-Enterobacteriaceae" (non-fermentative bacteria excluding *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, *B.mallei*, *B.pseudomallei* and *Stenotrophomonas maltophilia*) were used for the susceptibility testing. Gradient MIC method (E-Test, bioMerieux, France) revealed that the isolates were susceptible to gentamicin, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefepime, meropenem, colistin and levofloxacin. Accurate and prompt identification of *P.luteola* which is identified as a rare pathogen in serious cases is of critical importance since it has been suggested that this organism is likely to become more frequent as a nosocomial pathogen since the interventional processes increase in current medical practice. This report supported that Phoenix automated phenotypic identification system (BD Diagnostics, USA) and the two MALDI-TOF-MS based systems (VITEK MS and Bruker Microflex LT mass spectrometer) were successful in the accurate identification of *P.luteola*.

Keywords: *Pseudomonas luteola*; pleural effusion; MALDI-TOF-MS.

Sayın Editör,

Önceleri *Chryseomonas luteola* olarak adlandırılan *Pseudomonas luteola*; gram-negatif, non-fermentatif, aerobik, hareketli, sporsuz, sarı-turuncu renkte pigment yapan, oksidaz negatif, katalaz pozitif bir basildir. Sıklıkla toprak, su ve diğer nemli ortamlarda saprofit olarak bulunup, altta yatan hastalığı veya kateteri olan hastalarda nadiren enfeksiyona neden olan fırsatçı bir patojendir¹. Literatürde bu mikroorganizmaya bağlı olarak bakteriyemi, sepsis, septik artrit, menenjit, endokardit veya peritonit gibi farklı klinik tabloların olduğu olgu bildirimleri yapılmıştır²⁻⁷. Bu nedenle nadir görülen bu bakterinin erken ve doğru tanımlanması, kolonizasyon ve enfeksiyon etkeni olabileceğinin ayırt edilmesi, hastanın tedavisi yönünden önemlidir. Çalışmamızda, hastanemiz Tıbbi Mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilip tanımlanan iki *P.luteola* izolatu üzerinden, nadir olarak karşılaşılan ve tanımlanan bu türe dikkat çekilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma kapsamında değerlendirilen iki suş, iki ayrı olgudan izole edilmiştir. İlk olgu; Şubat 2011'de kronik obstrüktif akciğer hastalığı, koroner arter hastalığı ve aplastik anemisi olan progresif dispne nedeniyle hastanemize kabul edilen 66 yaşında erkek hastadır. Hastaneye kabulünün 20. gününde tekrarlayan plevral efüzyon nedeniyle hastaya göğüs tüpü takılmış ve göğüs tüpünün takılmasını takiben 9. gün alınan plevral sıvı örneğinden *Staphylococcus aureus* ile birlikte buruşuk, yapışkan sarı koloni morfolojisinde non-fermentatif gram-negatif basil (NFGNB) izole edilmiştir. İkinci olgu; Şubat 2012'de akut pulmoner alevlenme bulgusu ve semptomları olmayan, rutin kontroller için hastanemize başvuran 7 yaşında erkek kistik fibrozis hastasıdır. *Pseudomonas aeruginosa* ve *S.aureus* ile kronik kolonize olduğu bilinen hastanın balgam örneğinden *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *Aspergillus fumigatus* ve buruşuk, yapışkan sarı koloni morfolojisinde NFGNB izole edilmiştir.

Her iki NFGNB izolatu, %5 koyun kanlı agarda sarı-turuncu renkte yapışkan ve buruşuk koloni morfolojisi göstermiştir. Bu kolonilerin Gram boyama ile incelenmesi sonucunda, muhtemelen biyofilm matriksi içine gömülü gram-negatif basil kümeleri görülmüştür. İzolatlar; oksidaz negatif, katalaz pozitif ve non-fermentatif özellikte olup, konvansiyonel testler ve Phoenix otomatize bakteri tanımlama sistemi (BD Diagnostics, ABD) ile *P.luteola* olarak tanımlanmıştır. İzolatların tanımlanmasında ek olarak VITEK MS (bioMerieux, Fransa) ile Microflex LT mass spectrometer (Bruker Daltonics, Almanya) adlı iki MALDI-TOF-MS sistemi de kullanılmıştır. Her iki cihaz da iki izolatu *P.luteola* olarak tanımlamıştır. İzolatların tanısı ayrıca altın standart tanımlama metodu olarak kabul edilen 16S rRNA gen dizi analizi (ABI PRISM 3100, Applied Biosystems, ABD) ile de doğrulanmıştır.

P.luteola için belirlenmiş standart bir antibiyotik duyarlılık yöntemi bulunmadığından, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) tarafından *P.aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, *B.mallei*, *B.pseudomallei* ve *Stenotrophomonas maltophilia* dışı non-fermentatif bakteriler için ("other non-Enterobacteriaceae") önerilen MİK sınır değerleri kullanılmıştır. İzolatların antibiyotik duyarlılıkları Mueller-Hinton agar besiyerinde gradyan şerit test (E-Test, bioMerieux, Fransa) yöntemine göre belirlenmiştir⁸. Her iki izolatu da gentamisin, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, sefepim, meropenem, kolistin ve levofloksasine duyarlı olduğu saptanmıştır.

P.luteola'nın diğer NFGNB'ler gibi fırsatçı enfeksiyonlara neden olduğu bilinmekte ve sıklıkla enfeksiyon etkeni olarak tek başına izole edildiği olgu bildirimleri yapılmaktadır²⁻⁷. Çalışmamızda, her iki olguda çoklu mikroorganizma izole edilmiş olsa da *P.luteola* bu iki olguda olduğu gibi altta yatan ciddi kronik hastalıkları veya kateteri olan hastalardan sıklıkla izole edilebilmektedir⁴⁻⁶. Hem hastaneden hem de toplumdan kazanılmış enfeksiyonlarda *P.luteola* gibi nadir patojenlerin giderek artan önemleri ile birlikte, bu patojenlerin doğru ve hızlı tanımlanması, uygun tedavinin en kısa sürede başlanabilmesi için kritik önem taşımaktadır. NFGNB'lerin hızlı ve doğru tanımlanmasında klasik yöntemlere ek olarak MALDI-TOF-MS ve otomatize bakteri tanımlama sistemlerinin de kullanımı önerilmektedir. Bu çalışmada da görüldüğü gibi, *P.luteola* izolatlarının tanımlanmasında bu yöntemler başarıyla kullanılmaktadır^{4,5,9}. Ancak nadir görülen diğer NFGNB'lerin tanımlanmasında bu hızlı yöntemlerle elde edilen tanının 16S rRNA gen dizi analizi ile doğrulanması gerektiği göz ardı edilmemelidir.

P.luteola için standardize veya önerilen bir antimikrobiyal tedavi rejimi olmamasına rağmen, bu türün ampisilin, birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler, tetrasiklinler ve trimetoprim-sülfametoksazole sıklıkla dirençli iken, üçüncü kuşak sefalosporinler, imipenem, aminoglikozidler ve kinolonlara duyarlı olduğu bilinmektedir¹. Çalışmamızdaki her iki izolatu da gentamisin, piperasilin-tazobaktam, seftazidim, sefepim, meropenem, kolistin ve levofloksasine duyarlı olup bu bilgiyi destekler niteliktedir. Sonuç olarak, özellikle altta yatan kronik hastalıkları olan ve kateter gibi enfeksiyonlara hazırlayıcı faktörlere sahip olan hastalardan izole edilen NFGNB'in doğru ve kesin mikrobiyolojik tanısı bu türün epidemiyolojisi ve patojenitesini aydınlatmada yardımcı olabilir.

Anahtar sözcükler: *Pseudomonas luteola*; plevral efüzyon; MALDI-TOF-MS.

KAYNAKLAR

1. Steinberg JP, Burd EM. Other Gram-Negative and Gram-Variable Bacilli, pp: 2667-83. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (eds), Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2015, 8th ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.
2. Turan H, Togan T. Beklenmedik bir *Pseudomonas luteola* bakteremisi: Olgu sunumu. Cukurova Medical Journal 2015; 40(2): 364-7.
3. Kilic A, Baysallar M, Yildiz C, Kucukkaraaslan A, Doganci L, Widmann R. A rare case of septic arthritis of shoulder joint caused by *Chryseomonas luteola*. Anatolian J Clin Invest 2008; 2(1): 43-4.
4. Bayhan GI, Senel S, Tanir G, Ozkan S. Bacteremia caused by *Pseudomonas luteola* in pediatric patients. Jpn J Infect Dis 2015; 68(1): 50-4.
5. Otto MP, Foucher B, Dardare E, G r me P. Severe catheter related bacteremia due to *Pseudomonas luteola*. Med Mal Infect 2013; 43(4): 170-1.
6. Casalta JP, Fournier PE, Habib G, Riberi A, Raoult D. Prosthetic valve endocarditis caused by *Pseudomonas luteola*. BMC Infect Dis 2005; 5:82.
7. Chihab W, Alaoui AS, Amar M. *Chryseomonas luteola* identified as the source of serious infections in a Moroccan University Hospital. J Clin Microbiol 2004; 42(4): 1837-9.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-fifth Informational Supplement, M100-S25, 2015. CLSI, Wayne, PA.
9. Saffert RT, Cunningham SA, Ihde SM, Jobe KE, Mandrekar J, Patel R. Comparison of Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometer to BD Phoenix automated microbiology system for identification of gram-negative bacilli. J Clin Microbiol 2011; 49(3): 887-92.