

---

# Yaygın *Mycobacterium fortuitum-chelonae* Kompleks İnfeksiyonu Olan Hastanın Laboratuvar Tanısı

Cengiz ÇAVUŞOĞLU\*, Candan Çiçek SAYDAM\*, Özlem SOLAK\*\*, Altınay BİLGİÇ\*

\* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,

\*\* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakterioloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, İZMİR

## ÖZET

Bu makalede kronik ishal, karın ağrısı ve aşırı kilo kaybı yakınmasıyla başvuran yaygın *Mycobacterium fortuitum-chelonae* kompleks infeksiyonu ve IL-12 reseptör defekti olan 10 yaşında erkek hastanın laboratuvar tanısı sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: IL-12 reseptör defekti, *Mycobacterium fortuitum-chelonae* kompleks, Tüberküloz dışı mikobakteriler

## SUMMARY

### Laboratory Diagnosis in a Patient Having Disseminated *Mycobacterium fortuitum-chelonae* Complex Infection

In this paper laboratory diagnosis of a ten year old male child admitted with chronic diarrhea, abdominal cramp, weight loss and who has IL-12 receptor deficiency and *Mycobacterium fortuitum-chelonae* complex infection is presented.

Key Words: IL-12 receptor deficiency, *Mycobacterium fortuitum-chelonae* complex, *Mycobacterium* other than tuberculosis

*Mycobacterium tuberculosis* kompleks dışında kalan mikobakteriler; nontüberküloz mikobakteriler, tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM) ya da atipik mikobakteriler olarak adlandırılmaktadır. *M. fortuitum-chelonae* kompleks TDM'lerin hızlı üreyenler

grubundandır. Bu mikroorganizmalar doğal çevrede sularda, toprakta yaygın olarak bulunur. Hızlı üreyen mikobakteriler doğal çevreden bulaşabileceği gibi, hastanede kontamine solüsyonlar, tıbbi enstrümanlar (bronkoskop, kateter vb.) ve cerrahi protezlerden

(prostatik kapak) de bulaşabilir. Pulmoner infeksiyonlar için kistik fibrozis ve bronşektazi, yumuşak doku ve deri infeksiyonları için travma ve cerrahi risk faktörleridir. Kortikosteroid tedavisi, kollajen doku hastalıkları, kronik böbrek yetmezliği, hücrel immün bozukluklar, lenfoma ve lösemiler de sistemik *M. fortuitum-chelonae* kompleks infeksiyonları için diğer risk faktörleridir. Birçok TDM gibi, *M. fortuitum-chelonae* kompleks de klasik antitüberküloz ilaçlara dirençlidir. Uygun antibiyotik tedavisinin seçiminde duyarlılık testleri yol göstericidir. Bu mikroorganizmalar, amikasin, siprofloksasin, azitromisin, imipenem, klaritromisin, doksisisiklin ve sülfonamidlere duyarlıdır[1].

İnfekte makrofajların tip-1 sitokinler, özellikle de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) ile aktivasyonu hücrel immünitenin en önemli efektör mekanizmalarından biridir. IFN- $\gamma$  doğal öldürücü hücreler ve Th1 hücreler tarafından sentezlenir ve sentezleri dentritik hücre ve makrofajlardan salgılanan interlökin-12 (IL-12) tarafından düzenlenir. IL-12'ye bağımlı IFN- $\gamma$  sekresyonunun mikobakteriyel infeksiyonların kontrolünde önemli rol oynadığı bilinmektedir[2].

Bu makalede IL-12 reseptör defekti olan bir hastada görülen *M. fortuitum-chelonae* kompleks infeksiyonu sunulmuştur.

## OLGU

Kronik ishal, karın ağrısı ve aşırı kilo kaybı yakınmasıyla Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'ne başvuran 10 yaşında erkek hasta. Altı hafta içinde 6 kg kaybetmiş, başka bir hastanede 15 gün yatmış, giardiazis ve anemi tanısıyla metronidazol ve demir tedavisi verilmiş, fakat semptomlarında düzelme görülmemiş. Hasta 7 yaşında akciğer tüberkülozu tanısıyla izoniyazid, rifampisin ve streptomisin tedavisi almış.

Fizik bakıda karaciğer kot altında 5 cm ele geliyor. Laboratuvar bakıda beyaz küre 7200/mm<sup>3</sup>, formülde %54 nötrofil, %40 lenfosit, %6 monosit; hemoglobin 8.3 g/dL, trombosit 490.000/mm<sup>3</sup>, sedimentasyon hızı 56 mm/saat, C-reaktif protein 5.1 mg/dL, total protein 5.3 g/dL, albümin 2.7 g/dL, ALT: 39 IU/L, AST: 73 IU/L, LDH: 470 IU/L. Dışkı ve kan kültürlerinde üreme olmadı. Anti-EBV, CMV ve herpes simpleks 1 virüs antikorları ile anti-HIV antikorları, tüberkülin deri testi olumsuz akciğer grafisi normaldi. Üç gün üst üste alınan gastrik aspiratta asidorezistan basil üremedi. Batının bilgisayarlı tomografi ile taramasında hepatomegali, çok sayıda paraaortik ve mezenterik lenfadenopati ve ileum, çekum ve inen kolon duvarında dilatasyon ve hafif

mukozal inceleme saptandı. Lenfoma ve intestinal tüberküloz ön tanısıyla eksploratif laparotomi yapıldı ve alınan örneklerin patolojik incelemesinde granüloamatöz hepatitis (safra kanallarında ve portal alanlarda granülomlar, makrofaj içinde asidorezistan basiller) ve mezenterik lenfadenitis (difüz histiosit infiltrasyonu ve içinde asidorezistan basiller) saptandı. Patolojik bulgular atipik mikobakteri infeksiyonunu düşündürdüğünden rifampin (15 mg/kg gün), etambutol (15 mg/kg gün), klaritromisin (25 mg/kg gün) ve siprofloksasin (40 mg/kg gün) tedavisine başlandı. Etiyolojiye yönelik çalışmalarda periferik kan mononükleer hücrelerinde IL-12 reseptör  $\beta_1$  eksikliği saptandı (Dr. Jean-Laurent Casanova, Paris, Fransa). Antimikobakteriyel tedaviden 2 hafta sonra ishal ve karın ağrısı yakınmaları düzeldi. Tedavinin başlamasından 1 ay sonra transaminazların yükselmesi üzerine rifampin ve siprofloksasin kesildi ve tedaviye streptomisin eklendi. Hastanın klinik durumu stabil olmakla beraber tedavinin başlangıcından 2 ay sonra en büyüğü 1.5 x 1.5 cm boyutunda olan çok sayıda servikal, aksiller ve inguinal lenfadenopati gelişti. Hastadan periferik servikal lenf nodu biyopsisi yapıldı. Örnekler hem patolojik hem de mikrobiyolojik inceleme için, patoloji ve mikrobiyoloji ve klinik mikrobiyoloji mikobakteriyoloji laboratuvarlarına gönderildi. Patolojik incelemede difüz histiosit infiltrasyonu ve içinde asidorezistan basiller saptandı. Tedavi, klaritromisin, etambutol, klofazim olarak değiştirildi ve rekombinan IFN- $\gamma$  (50  $\mu$ g/m<sup>2</sup> subkutan haftada 3 kez) tedavisine başlandı. Bu tedaviye rağmen lenf düğümlerinde küçülme olmadı ve splenomegali gelişti. Beyaz küre sayısı 2000/mm<sup>3</sup>, trombosit sayısı 68.000/mm<sup>3</sup>'e düştü. Hipersplenizm tanısıyla splenektomi yapıldı. Patolojik incelemesinde granülom ve makrofaj içerisinde asidorezistan basiller görüldü. Splenektominin ardından beyaz küre ve trombosit değerleri yükseldi.

Mikobakteriyoloji laboratuvarına gönderilen lenf dokusu biyopsi örneğinden hazırlanan Auramine ve Kinyoun boyalı preparatlarda asidorezistan basil görüldü. Örneğin Löwenstein-Jensen (LJ), Middlebrook 7H11 agar ve MB/BacT sıvı besiyerine ekimleri yapıldı. LJ ve Middlebrook 7H11 agar besiyerleri, %10 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C'de inkübe edildi. MB/BacT otomatize sıvı besiyerinde 8.3 günde üreme oldu. LJ, Middlebrook 7H11 agar besiyerinde ise üreme saptanmadı. Üreme saptanan kültürden hazırlanan preparatların Kinyoun boyalı preparatlarında asidorezistan basiller görüldü. Tanımlama için biyokimyasal ve nükleik asit temelli testlerden yararlanıldı. Bu amaçla ilk aşamada *Mycobacterium tu-*

*berculosis* kompleks, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium avium* problemleri [Accuprobe (Gen-Probe)] kullanılarak üreyen bakterinin *M. tuberculosis* kompleks, *M. intracellulare*, *M. avium* olmadığı gösterildi. Bu aşamadan sonra Kent PT ve arkadaşlarının belirttiği şekilde biyokimyasal testlerle tanımlama işlemi sürdürüldü<sup>[3]</sup>. İlk olarak üreme hızı ve pigment oluşumu değerlendirildi. Beşinci günde pigment oluşturmayan koloniler saptandı ve bakteri hızlı üreyen mikobakteri olarak değerlendirildi. Tür düzeyinde tanımlama için 28°C'de Mc Conkey agar'da üreme, 3 günlük aril sülfataz, nitrat indirgeme ve demir alım testleri yapıldı. *M. fortuitum* ve *M. chelonae* ayırımında anahtar bir test olan demir alım testinin sağlıklı değerlendirmesi yapılamadığından izolat *M. fortuitum-chelonae* kompleks olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık testi OADC (oleik asit, albümin, dekstroz, katalaz) ilave edilmiş Mueller-Hinton agar'da E-test yöntemiyle yapıldı. İdentifikasyon için yapılan testler Tablo 1, duyarlılık testleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Etken patojen *M. fortuitum-chelonae* kompleks olarak tanımlandıktan sonra tedavi klofazim, doksisisiklin ve amikasin olarak değiştirildi. Bu tedaviden 1

ay sonra hasta kilo almaya başladı (8 kg), hepatomegali ve lenfadenomegalisi düzeldi. Karaciğer fonksiyon testleri ve sedimentasyon hızı normal değerlerdeydi. Radyolojik incelemede paraaortik ve mezenterik lenfadenopatilerin kaybolduğu saptandı. Amikasin tedavisi 2 ay, doksisisiklin, klofazim ve IFN- $\gamma$  tedavisine 6 ay süreyle devam edildi.

### TARTIŞMA

AIDS ve diğer bağışıklık sistemi baskılanmış hasta sayısındaki artışa bağlı olarak TDM'lerle olan infeksiyonlarda da artış gözlenmektedir. IL-12 ve IFN- $\gamma$  reseptör defekti de bu hastalıklardandır. IL-12, tip 1 yardımcı T hücre (TH1) yanıtını ve IFN- $\gamma$  üretimini uyararak hücre içi patojenlere karşı hücre immüniteyi arttıran bir sitokindir. IL-12, T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler üzerindeki IL-12 reseptör kompleksine bağlanarak etkisini gösterir. Bu reseptörün yokluğu insanlarda immünyetmezliğe neden olur ve mikobakteriler gibi hücre içi patojenlerle oluşan infeksiyonlara duyarlılık artar<sup>[4-6]</sup>. De Jong R ve arkadaşları IL-12 reseptör defekti olan iki *Salmonella* ve mikobakteri infeksiyonu olgusu bildirmişlerdir. Türkiye'de yapılan çeşitli çalışmalarda Sağlam M ve

**Tablo 1. İzole edilen kökenin identifikasyonu için yapılan testler**

Testler	Sonuç
• Üreme hızı 37°C	Hızlı üreyen (5 gün)
• Pigment oluşumu	Nonfotokromojen
• 28°C'de Mc Conkey'de üreme	+
• Üç günlük aril sülfataz	+
• Nitrat indirgeme	-/+
• Demir alım testi	?
• <i>Mycobacterium tuberculosis</i> kompleks prob	-
• <i>Mycobacterium intracellulare</i> prob	-
• <i>Mycobacterium avium</i> prob	-

**Tablo 2. *Mycobacterium fortuitum-chelonae* kompleks kökeninin antibiyotik duyarlılıkları**

Antibiyotikler*	MİK ( $\mu\text{g/mL}$ )	Duyarlılık
• Siprofloksasin	0.125	Duyarlı
• İmipenem	1	Duyarlı
• Amikasin	4	Duyarlı
• Doksisisiklin	6	Orta duyarlı
• Klaritromisin	0.8	Duyarlı

\* Streptomisin, etambutol, rifampisin ve INH'a dirençli olarak saptandı.

arkadaşları<sup>[7]</sup>, Akbal H ve arkadaşları çeşitli klinik örneklerden TDM izole etmişlerdir<sup>[8]</sup>.

Uygulanacak tedavi yöntemini temelinden değiştirdiği için özellikle immünsüprese hastalarda yaygın TDM infeksiyonlarını tüberkülozdan ayırmak gereklidir. Biyokimyasal testlerle TDM'lerin tür düzeyinde tanımlanması hala zor ve zaman alıcıdır. Ayrıca, biyokimyasal testlerin yorumlanması da güçtür<sup>[9]</sup>. Gazlikit kromatografisi ve "High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)" gibi lipid analizini temel alan yöntemler identifikasyon süresini kısaltmakla birlikte uygulaması güç ve pahalı yöntemlerdir ve çok az laboratuvar tarafından kullanılabilir<sup>[10]</sup>. Tüm bu sorunlar nedeniyle kültürden üreyen mikobakterilerin tür düzeyinde hızlı tanımlanması için nükleik asit temelli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan biri şu anda laboratuvarımızda da kullanılan DNA:RNA hibridizasyonu temeline dayalı [Accuprobe (Gen-Probe)] yöntemidir. Fakat bu yöntemle sadece 5 türün ayırımı yapılabilir (*M. tuberculosis* kompleksi, *M. avium*, *M. intracellulare*, *Mycobacterium cansasii*, *Mycobacterium gordanae*). Kısa süre önce reverz hibridizasyon yöntemiyle *M. avium*, *Mycobacterium celatum*, *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium fortuitum*, *M. gordanae*, *M. intracellulare*, *M. cansasii*, *Mycobacterium malmoense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium scrofulaceum*, *M. tuberculosis* kompleksi ve *Mycobacterium xenopi*'yi içeren 14 mikobakteri türünü ayırabilen nükleik asit temelli yöntemler kullanıma sunulmuştur (*Genotype mycobacterien*). Bu testin kullanılması ile insanda patojen olan mikobakteri türlerinin hemen hemen tümünü kısa bir süre içinde tanımlamak mümkündür. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılan 16S rRNA'yı kodlayan gen bölgesinin parsiyel dizi analizi ile PCR ile çoğaltılan hsp 65 ve 16S rRNA geninin restriksiyon enzim analizi son yıllarda mikobakterilerin hızlı identifikasyonu amacıyla kullanılan diğer nükleik asit temelli yöntemlerdir<sup>[10-13]</sup>.

Hızlı üreyen mikobakterilerin antibiyotik duyarlılıkları E-test yöntemiyle belirlenebilir. E-test yöntemiyle 3-4 gün gibi kısa bir süre içinde mikroorganizmanın araştırılan antibiyotikler için MİK değerini saptamak olasıdır<sup>[14]</sup>.

İmmünsüprese hasta sayısındaki artışa bağlı olarak TDM'lerin neden olduğu infeksiyonlarda da artış olmaktadır. Özellikle bu mikroorganizmaların neden olduğu yaygın infeksiyonlar yaşamı tehdit etmektedir. Bu nedenle, mikobakterileri tür düzeyinde ta-

nımlayabilecek donanıma sahip mikobakteri laboratuvarlarına gereksinim vardır.

### TEŞEKKÜR

*Olgunun tanısında yardımlarını esirgemeyen Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Necil KÜTÜKÇÜLER ve Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Sabiha SOYDAN'a teşekkür ederiz.*

### KAYNAKLAR

1. Falkinham III JO. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin Microbiol Rev 1996;9:177-215.
2. Akşit S, Yılmaz D, Soydan S, et al. Disseminated *Mycobacterium fortuitum-chelonae* complex infection in a child with IL-12 receptor deficiency. Turk J Med Sci 2000;30:373-5.w
3. Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology A Guide for the Level III Laboratory. US Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control, Atlanta 1985.
4. Altare F, Jouanguy E, Lamhamedi S, Doffinger R, Fischer A, Casanova JL. Mendelian susceptibility to mycobacterial infection in man. Curr Opin Immunol 1988; 10:413-7.
5. Altare F, Durandy A, Lammas D, et al. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. Science 1998;29:280;1432-5.
6. De Jong R, Altare F, Haagen IA, et al. Severe mycobacterial and *Salmonella* infections in interleukin-12 receptor-deficient patients. Science 1998;29:280;1435-8.
7. Sağlam M, Gümrükçü E, Antürk S, Saygı TG. Atipik mikobakterilerin izolasyon, identifikasyon ve biyosimik testlerle tanısı. Mikrobiyol Bül 1981;15:19-29.
8. Akbal H, Öztürk R. Çevre örnekleri ve klinik materyallerden üretilen mikobakterilerin tiplendirilmesi. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 02-35;4-9 Ekim 1998, Belek, Antalya.
9. Boden D, Weizeneger M, Benz K, et al. Reverse hybridization assay for rapid identification of mycobacteria from cultured samples. Clin Lab 1998;44:687-92.
10. Springer B, Stockman L, Teschner K, Roberts GD, Böttger EC. Two-laboratory collaborative study on identification of mycobacteria: Molecular versus phenotypic methods. J Clin Microbiol 1996;34:296-303.
11. Telenti A, Marchesi F, Balz M, Bally F, Böttger EC, Bodmer T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis? J Clin Microbiol 1993;31:175-8.
12. Hernandez SM, Morlock GP, Butler WR, Crawford JT, Cooksey RC. Identification of *Mycobacterium* species by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis using capillary electrophoresis. J Clin Microbiol 1999;37:3688-92.

13. Taylor TB, Patterson C, Hale Y, Safranek WW. Routine use of PCR-restriction fragment length polymorphism analysis for identification of mycobacteria growing in liquid media. J Clin Microbiol 1997;35:79-85.
14. Biehle JR, Cavalieri S J, Saubolle M A, Getsinger LJ. Evaluation of E-test for susceptibility testing of rapidly growing mycobacteria. J Clin Microbiol 1995;33:1760-4.

**Yazışma Adresi:**

Uzm. Dr. Cengiz ÇAVUŞOĞLU  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve Klinik  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
35100, Bornova-İZMİR

Makalenin Geliş Tarihi: 25.03.2000      Kabul Tarihi: 30.10.2000

## X. TÜRK KLİNİK MİKROBİYOLOJİ ve İNFEKSİYON HASTALIKLARI KONGRESİ

**www.klimik2001.org**

*15-19 Ekim 2001*

*Adana Hilton, ADANA*

**Bilimsel Sekreteryaya**

Hasan Salih Zeki AKSU • Neşe SALTOĞLU

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve

İnfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı

Tel-Faks: 0322 338 71 44

e posta: nsalt@mail.cu.edu.tr