



İmmünkompetan Çocuklarda *Herbaspirillum* Cinsi Bakterilere Bağlı Kan Akımı Enfeksiyonu Salgını

An Outbreak of *Herbaspirillum* Genus Bacteria Bloodstream Infections in Immunocompetent Pediatric Patients

Nazan Dalgıç¹(İD), Banu Bayraktar²(İD), Ahsen Öncül²(İD), Ayşe Şahin¹(İD), Duygu Erdemir²(İD), Leyla Teke²(İD), Barış Otlu³(İD), Berksu Cürebal⁴(İD), Eren Alkan¹(İD), Elif Aktaş³(İD)

¹ Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye

² Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

³ Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁴ Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Hekimliği Kliniği, İstanbul, Türkiye

Makale atfı: Dalgıç N, Bayraktar B, Öncül A, Şahin A, Erdemir D, Teke L ve ark. İmmünkompetan çocuklarda *Herbaspirillum* cinsi bakterilere bağlı kan akımı enfeksiyonu salgını. J Pediatr Inf 2021;15(3):148-153.

Öz

Giriş: Bu çalışma, 1.5 aylık sürede kliniğimizde 12 hastanın kan kültürlerinde üreyen *Herbaspirillum huttiense* kaynaklı bir salgının araştırma bulgularını bildirmektedir.

Gereç ve Yöntemler: Klonal ilişki, "rastgele hazırlanmış" polimeraz zincir reaksiyonu (AP-PCR) ve "darbeli alan" jel elektroforezi (PFGE) ile incelenmiştir.

Bulgular: İzolatlar, Bruker MS ile *Herbaspirillum huttiense/aquaticum* (skor değeri >2) ve Phoenix otomatik sistemi ile *Burkholderia cepacia* veya *Cupriavidus pauculus* olarak tanımlandı. 16S rDNA sekans analizi ile izolat, %99 *Herbaspirillum huttiense* olarak raporlandı. Hastaların ortak bir özelliği, pediatri acil kliniğine başvurmaları olarak belirlendi; dolayısıyla çevre taraması bu kliniğe yönlendirildi. *Herbaspirillum huttiense* üremesi, kullanımda olan 250 mL'lik salin solüsyonu ile doldurularak kullanıma hazırlanan dokuz enjektörde ve kullanıma hazır bantlarda tespit edildi. AP-PCR ve PFGE ile yapılan inceleme AP-PCR ile incelenen tüm hastalar ve çevresel izolatlarda, PFGE ile incelenen üç çevresel izolatın ve altı temsili hastada birbirlerinden ayırt edilemez olduğu tespit edildi.

Sonuç: Çalışmamız, *Herbaspirillum huttiense* kaynaklı salgının bildirildiği literatürdeki ikinci ve salgının kaynağını bildiren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Herbaspirillum*, salgın, sepsis, immünkompetan, çocuk

Abstract

Objective: The study aimed to report the investigation of an outbreak that occurred by *Herbaspirillum huttiense* in the blood culture of 12 patients in a clinic for 1.5 months.

Material and Methods: The clonal relationship was investigated by "arbitrarily primed" polymerized chain reaction (AP-PCR) and "pulsed-field" gel electrophoresis (PFGE).

Results: The isolates were identified as *Herbaspirillum huttiense/aquaticum* (score value >2) with Bruker MS and *Burkholderia cepacia* or *Cupriavidus pauculus* with the Phoenix automated system. With the 16S rDNA sequence analysis, the isolate was identified as 99% *Herbaspirillum huttiense*. A common feature for the patients was identified as their reporting to the pediatric emergency clinic; environmental screening was directed to this clinic. *Herbaspirillum huttiense* growth was detected in a 250 mL saline bag which was in use, nine injectors were prepared for use by filling with saline solution and in ready-to-use patches. With AP-PCR and PFGE, all patients and environmental isolates examined with AP-PCR, six representative patients and three environmental isolates examined with PFGE were found to be indistinguishable.

Conclusion: The outbreak resulting from *Herbaspirillum huttiense* is reported for the second time in the literature, and the first to report the source of the outbreak.

Keywords: *Herbaspirillum*, outbreak, sepsis, immunocompetent, children

Yazışma Adresi/Correspondence Address

Nazan Dalgıç

Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Kliniği,
İstanbul-Türkiye

E-mail: nazandalgic@ttmail.com

Geliş Tarihi: 23.11.2020

Kabul Tarihi: 01.04.2021

Çevrimiçi Yayın Tarihi: 28.10.2021

Giriş

Sağlık hizmetleri kaynaklı enfeksiyonlar tüm dünyada hastaların güvenliğini tehdit edici en yaygın advers olay olarak kabul edilmektedir (1). Endemik hastane-kaynaklı enfeksiyonlara benzer şekilde bulaşıcı salgınlar morbidite ve mortaliteye büyük oranda etki göstermektedir. Salgın araştırmaları farklı türde patojen rezervuarlarının keşfedilmesine yol açmıştır. Örneğin, hasta bakımında kullanılan medikal ilaçlar ve diğer sıvılar hastane-kaynaklı enfeksiyonların ciddi kaynağını oluştururlar (2).

Herbaspirillum türü bakteriler gram negatif, kavisli ya da rod şekilli, nitrojen bağlayıcı, üreaz, katalaz ve oksidaz pozitif bakterilerdir (3). Genellikle rizosfer katmanında bulunurlar. Toprakta, tahıl kökleri, yer altı suyu ve içme suyu sistemlerinde bulunurlar (4). *Herbaspirillum* bakterileri, insanda enfeksiyona nadiren sebep olur. İnsan enfeksiyon bölgesinden *Herbaspirillum* izolasyonu ilk kez 1980'li yıllarda bildirilmiştir (5). *Herbaspirillum* spp., kistik fibroz (6), lösemi (7), selüloit ve bakteriyemi (8) olan hastaların kanında ve balgamında (6) tespit edilmiştir. Aort anevrizmalarının arteriyel duvarlarında da tespit edilmiştir (9). Nadir olsa da *Herbaspirillum* cinsi, hastane kaynaklı ve toplum kaynaklı hastane enfeksiyonlarında bir etken olabilir (10). Filogenetik ve fenotipik olarak *Burkholderia cepacia* kompleksine yüksek benzerliğinden ötürü çoğunlukla yanlış tanımlanır (2).

Bu çalışmanın amacı, 21 Temmuz 2016 tarihi itibarıyla 1 buçuk aylık süre zarfında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Şişli Etiler Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisinde takip edilen 12 hastanın kan kültürlerinde *Herbaspirillum* cinsi bakterinin üremesi sonucu çıkan salgının araştırma sonuçlarını bildirmektir. Çalışmamız, literatürdeki ikinci *Herbaspirillum* cinsi bakteri salgını ve birinci kaynak tespitini bildirmektedir.

Gereç ve Yöntemler

2016 yılı Temmuz ve Eylül ayları arasında 12 çocuk hasta çalışmaya dahil edildi. Bazı hastalar bulaşıcı olmayan hastalık tanısı alsalar da hastaneye yatış sonrasında klinik sepsis geliştirdiler. Hastalar, farklı çocuk kliniklerinde farklı takımlar tarafından takip edildi ve Medikal Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen kan kültürleri ile *Herbaspirillum* cinsi bakteri üremesi olduğu gösterildi.

Çalışma, kurumumuz etik kurulu tarafından onaylandı (#825/17). Her bir hasta için ebeveyni ya da vasisinden yazılı onam alındı.

Çevresel Örneklemeler

Salgının olası kaynağını araştırmak adına hem Çocuk Acil Servisinden hem de hastaların tedavi gördüğü kliniklerden çevresel örnekler alındı. İki açılmamış, bir açılmış 100 mL'lik %0.9'luk salin solüsyonları olan ilk çevresel örnekler salgından sonraki 45. günde çocuk acil kan alımı odasından dış kesit sürüntüsü ve iç sıvısı olarak alındı. Aşağıdaki örnekler kaplama

için alındı: %70 alkol sıvısı, intravenöz kanül yüzeyleri, kullanıma hazır salin solüsyonu ile dolu 4 şırınga, hastalarda kullanıma hazır alçılar ve beş gün önce açılan ve bekletilen 250 mL'lik polifleks polifarmasiden sıvı. Yine, çocuk acil kırmızı bölge müdahale odasındaki kan toplama kutusundan, tedavi teknesinden, hazır alçılardan kapı kolundan, oksijen odasından, batikonun dış kaplaması ve doğrudan sıvıdan, servis bankosunun masa ve tuş takımından, gözlem odası musluğundan, paylaşılan stetoskop ve buhar odasındaki oksijen silindirinden örnekler alındı. Muhtemel kaynaklar açısından alkol, batikon ve salin solüsyonlarından ve hastaların takip edildiği çevreden örnekler alındı. İki gün sonra, çocuk acil kan alım ve müdahale odasından kullanıma hazır salin solüsyonu içeren 60 şırıngadan örnek alındı. Bir gün sonra, doğrudan eczaneden alınan 6 adet açılmamış ve kullanıma hazır 250 mL'lik profleks salin solüsyonu ve 3 adet açılmamış 250 mL'lik profleks salin solüsyonu paketi çocuk acil polikliniğinde örnekledi. Örneklemeler, sıvıların, dış yüzey sürüntülerinin ve giriş sürüntülerinin alınmasıyla yapıldı. Alınan örnekler koyun kanlı agara ve McConkey'e alındı. Örnekler 24. ve 48. saatlerde değerlendirildi. Ayrıca, örneklenen profleks salin solüsyonu sıvı örneği BACTEC-FX (Becton Dickinson) kan kültürü şişesine alındı. Çevresel tarama çerçevesinde toplam 110 örnek çalışıldı.

Bakteriyel Kültürler ve Tanımlama

21 Temmuz-8 Eylül 2016 tarihleri arasında 12 hastanın kan kültür izolatları ve 11 çevresel izolat bu çalışmaya dahil edildi. Gram boyama, gram-negatif basil olarak tespit edildi.

Mikroorganizmaların tanımlanmasında ticari olarak bulunan üç otomatik sistem, yani Phoenix 100 ID/AST (Becton Dickinson, Diagnostics, Sparks, MD, ABD), VITEK 2 Compact (BioMerieux, St.Louise, MO, ABD) ve MicroScan (Beckman Coulter, Brea, CA, ABD), ve iki farklı matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS), yani Bruker MS (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) ve VITEK MS (Database Versiyon 2.0) (BioMerieux, St.Louise, MO, ABD) kullanıldı.

16S rDNA sekanslama için, çıkarılmış DNA (QiaSymphony total DNA çıkarma kiti) p8FPL 5'-AGT TTG ATC ATG GCT CAG-3' primerleri ve p806R 5'-GGA CTA CCA GGG TAT CTA AT-3' ve GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, ABD) kullanılarak kopyalandı. ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, ABD) kullanılarak sekanslar elde edildi ve NCBI gen bankasında bulunan bilinen bakteriyel sekanslar ile karşılaştırıldı. Tür seviyesinde tanımla için E-değer 0.0 ve benzerlik yüzdesi >%99 olan veriler kullanıldı.

Seftriakson, seftazidim, sefotaksim, meropenem, imipenem, siprofloksasin, levofloksasin ve amikasin minimal inhibitör konsantrasyonları gradyan test yöntemi kullanılarak belirlendi (ETEST, BioMerieux, Fransa). Sonuçlar, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) rehberine göre yorumlandı (11).

Klonal İlişki

Suşların klonal ilişkileri Rasgele Primerli Polimeraz Zincir Reaksiyonu (AP-PCR) ve Darbeli Alan Jel Elektorezi (PFGE) yöntemleri ile incelendi. AP-PCR kopyalamaları aşağıdaki protokole uygun olarak M13 primer (5'-GAG GGT GGC GGTCT-3') ile yapıldı: 5 dk 94°C; 1 dk 94°C 40 çevrim, 1 dk 40°C ve 2 dk 72°C; 10 dk 72°C.

PFGE tiplemesi Durmaz ve arkadaşlarının modifiye protokolü ile yürütüldü (12). Kısaca, Spe-1 enzimle sınırlı kromozomal DNAlar, CHEF-DR II sistemi (Bio-Rad, Nazareth, Belçika) ile ilk değişme zamanı 2s son değişme zamanı 22 saat üzerinde 50s ile elektorez yöntemi ile analiz edildi (13). TIFF dosyası olarak saklanan bantlama profillerinin fotoğrafları GelCompar Versiyon 6.6. yazılım programı ve aritmetik ortalama ile ağırlıklandırılmamış ikili grup yöntemi (UPGMA) ve Dice katsayısı kullanılarak küme analizine tabi tutuldu. \geq %95 benzerlik gösteren izolatlar aynı PFGE türü ve klonu olarak kabul edildi.

Çizelgelerin Değerlendirilmesi ve Önleyici Tedbirler

1.5 aylık süre zarfında 12 *Herbaspirillum* spp. ürettiği mikrobiyoloji bölümü tarafından bizlere aktarılınca klinisyenler uyarıldı ve bir enfeksiyon kontrol komitesi kuruldu. Toplantıda hasta çizelgeleri ortak ilaçlar ve maruziyetler açısından incelendi ve tüm olgular için ortak etken olarak hastanenin çocuk acil servisi dikkati çekti. Bu sebeple, ilk tarama testlerinin çocuk acil servisinde invazif işlemlerin yapıldığı tüm alanlarda uygulanması kararlaştırıldı.

Bulgular

Ortam ve hastalar

Bir buçuk aylık süre içerisinde çocuk acil servisine başvuran ve yatışı yapılan 12 hastanın kan kültüründe *Herbaspirillum*

üremesi gözlemlendi. Çocuk acil servisi üzerinden tüm hastaların vasküler girişleri açılarak hastaneye yatışları yapıldı. Üç hasta çocuk yoğun bakımda takip edilirken diğer hastalar farklı çocuk kliniklerinde takip edildi. Dört hasta akut gastroenterit, üç hasta sepsis, iki hasta febril nötropeni, bir hasta Üriner sistem enfeksiyonu, bir hasta pertussis ve bir hasta da boğulma ile hastaneye kaldırıldı. Ortalama yaş 24.81 ± 31.13 aydı (aralık 3-108 ay). Beş hasta erkek 8 hasta kızdı. Tablo 1, hastaların demografik ve klinik bilgilerini göstermektedir. Kan dolaşımında enfeksiyon hastaneye yatıştan ortalama 3 gün sonra (aralık 2-6 gün) gerçekleşti. Sekiz hastaya seftriakson başlandı. Seftriakson tedavisinin 3. gününde rezistan ateş geliştiren iki hastadan birinin tedavisi piperasilin-tazobaktam ile diğerinin tedavisi ise meropenem ile değiştirildi. Kalan dört hastadan birine ampicilin-amikasin, bir diğerine piperasilin-tazobaktam ve diğeri ikisine meropenem başlandı. Piperasilin-tazobaktam başlanan hastanın tedavisi rezistan ateş gelişmesi sonucu imipenem ile değiştirildi. Tüm hastalar komplikasyon olmadan taburcu edildi. Ortalama hastanede kalış süresi 10.18 ± 2.04 gün idi (7-14 gün).

Çevresel Örnekleme

6 Eylül 2016 tarihinde Çocuk Acil Servisinde gerçekleştirilen ortam taraması sonucunda *Herbaspirillum* üremesi, kan alma odasından toplanan örneklerde, salin solüsyonunu çekmek için kullanılan 4 hazır şırıngada, kullanıma hazır bir alçıda ve beş gün önce açılıp hala kullanımda olan 250 cc'lik Proflex salin solüsyonunda görüldü. Müdahale odalarından alınan örneklerde üremeye rastlanmadı. Tespit edilen üreme üzerine iki gün sonra çocuk acil servisinde yapılan ikinci tarama sonucunda *Herbaspirillum* üremesi kan alma odası ve müdahale odasında salin solüsyonu ile dolu kullanıma hazır şırıngalardan

Tablo 1. Hastaların demografik ve klinik bilgileri

Hasta	Yaş (ay)	Cinsiyet	Klinik tanı	Takip eden servis	Kan dolaşımı enfeksiyonu günü	Uygulanan tedavi	Sonuç
1	34	Erkek	Sepsis	Çocuk enfeksiyon	3	Seftriakson/meropenem	10. gün taburcu
2	10	Kız	Sepsis	Çocuk enfeksiyon	6	Pip-taz/Imipenem	12. gün taburcu
3	6	Kız	Gastroenteritis	Çocuk enfeksiyon	2	Seftriakson	8. gün taburcu
4	21	Kız	Febril nötropeni	Çocuk hematoloji	4	Meropenem	14. gün taburcu
5	5	Erkek	Pertusis	Çocuk enfeksiyon	4	Seftriakson	10. gün taburcu
6	25	Erkek	Gastroenteritis	Çocuk enfeksiyon	3	Seftriakson/pip-taz	11. gün taburcu
7	108	Erkek	Gastroenteritis	Çocuk enfeksiyon	2	Seftriakson	8. gün taburcu
8	48	Kız	Suda boğulma	Çocuk yoğun bakım	2	Seftriakson	10. gün taburcu
9	10	Kız	Febril nötropeni	Çocuk hematoloji	5	Meropenem	7. gün taburcu
10	3	Kız	Gastroenteritis	Çocuk enfeksiyon	3	Ampicilin-amikasin	12. gün taburcu
11	3	Kız	Sepsis	Çocuk enfeksiyon	3	Seftriakson	10. gün taburcu
12	2	Kız	İdrar yolları enfeksiyonu	Çocuk sağlığı ve hastalıkları	3	Seftriakson	7. gün taburcu

Pip-taz: piperasilin-tazobaktam.

alınan örneklerde (tedavi odalarındaki 30 şırıngadan birinde ve kan alma odasındaki 40 şırıngadan dördünde, toplam beş numunede) izlendi. Ticari kontaminasyonun olup olmadığını belirlemek için çocuk acil servisteki açılmamış kullanıma hazır 6 paket ile eczaneden alınan üç açılmamış paket dahil 250 mL'lik salin solüsyonları bir gün sonra inoküle edildi. Test edilen örneklerde üreme olmadı. Bu sebeple, sorunun ticari kontaminasyon olmadığı anlaşıldı.

Bakteriyel Kültürler ve Tanımlama

Gram boyama, gram-negatif rodlar tespit etti. matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu uçuş zamanı kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS; Bruker Daltonics, Almanya) ve değerlendirme skoru 2 olacak şekilde izolatlar *Herbaspirillum huttiense*/*Herbaspirillum aquaticum* olarak tanımlandı.. Phoenix 100ID/ASD otomatik mikrobiyoloji sistemi (Becton Dickinson Diagnostics, Sparks, MD) izolatın *Burkholderia cepacia* kompleks/*Cupriavidus pauculus* olduğunu tespit etti. İzolat iki ayrı otomatik ticari mikrobiyoloji sistemi ile teste edildi; biri Vitek 2 (Bio-Mérieux, St Louise, MO) diğeri ise MicroScan (Beckman-Coulter Inc, Brea, CA) idi ve bunlara ek olarak ikinci kez MALDI-TOF, VITEK MS (Bio-Mérieux, St Louise, MO) kullanıldı. Vitek 2 (v.2.0) izolatu, *Burkholderia cepacia* kompleks olarak tanımladı. Ne MicroScan ne de Vitek MS (v2.0) izolatu tanımlayabildi.

16S rDNA sekanslaması için 650 nükleotid analiz edildi ve suş %99 oranında nucleotides were *Herbaspirillum huttiense* (GenBank sayı no. KU305714.1) olarak tanımlandı. Tüm izolatlar seftriaksona (0.125-0.5 mg/L), seftazidime (0.125-0.5 mg/L), sefotaksime (0.125-0.38 mg/L), meropeneme (0.003)-0.012 mg/L, imipeneme (0.032-0.19 mg/L), siprofloksasine (0.5-0.75 mg/L), levofloksasine I (0.25 mg/L) ve amikasine (4 mg/L) duyarlıydı.

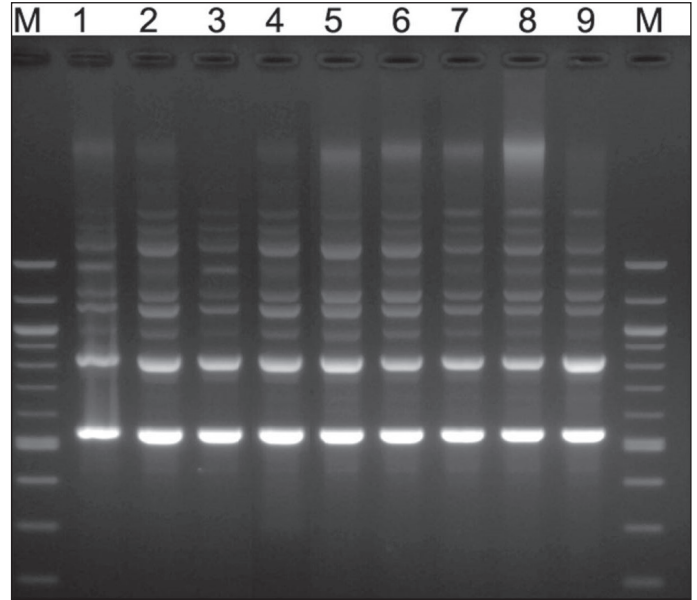
Klonal İlişki

AP-PCR ve PFGE sonuçları birbirleri ile uyumluydu. Tüm hastaların AP-PCR'ları ve çevresel izolatlar tam tamına aynı bantlama paternine sahipti Altı hasta ve üç çevresel kaynağa ait izolatların PFGE sonucunda suşların birebir aynı olduğu bulundu (Şekil 1).

Çizelgelerin Değerlendirilmesi ve Önleyici Tedbirler

İncelemeler sonucunda çocuk acil servisinde malzemele- rin konulduğu rafların kolaylıkla temizlenemediği ve uçların malzeme kaynaklı sıkıntılardan ötürü hasar aldığı tespit edildi. Ayrıca, malzemelerin fazladan depolandığı, salin solüsyonunun önceden ve kullanıma hazır olarak şırıngalara çekildiği ve vasküler girişin bu şırıngalarla yıkandığı görüldü.

Enfeksiyon Kontrol Komitesi hastalar için tek kullanımlık ilaçların hazırlanmasında ve kateterin yıkanmasında kullanılan salin solüsyonu gibi sıvıların önceden çekilmemesini ve hazır bekletilmemesini önerdi. Şırıngaların giriş ucunun kullanım-



Şekil 1. *Herbaspirillum* izolatlarının PFGE bantlama modeli. M: DNA işaretçisi.

dan önce 15 s boyunca alkol ile dezenfekte edilmesini ve çok dozlu ilaç serumundan mümkün olduğu kadar kaçınılması gerektiğini önerdi. Bunlara ek olarak, kan alımı ve invazif işlemler öncesi deriye uygulanan antiseptiklerin uygun bir süre bekletilmesi gerektiğini (kuruyana kadar %2 kloreksidin glukonat ve işleme başlamadan önce 2 dk %10 povidon iyodin) ve malzeme muhafaza kaplarının ve masanın kolaylıkla temizlenen ve pürüzsüz yüzeye sahip olanlarla değiştirilmesini önerdi. Aynı üreme kullanılan araçlarda da bulunduğu için bu araç yüzeylerinin ve araçların konulduğu yerlerin 1/10'luk çamaşır suyu (5000 ppm'ye denk gelecek şekilde klor tablet solüsyonu) ile en az 10 dk dezenfekte edilmesini, günde en az iki kez ünitelerin temizlenmesini, gerekliyse bekleme süresi olmadan temizlik yapılmasını ve günlük su ve deterjan ile temizliğe ek olarak orta düzey dezenfektan kullanılmasını önerdi. Tüm yüzeylerin mekanik temizliği sonrasında 1/100 çamaşır suyu (500 ppm'ye denk gelecek şekilde klor tablet solüsyonu) veya (alkol ve kuantum amonyum bileşikleri içeren) hızlı yüzey dezenfekte spreyi kullanımı önerildi. Tuvaletlerde sıvı sabun ve kağıt havluların günde iki kez kontrol edilmesi ve bittiklerinde değiştirilmesinin sağlanması için personelin tekrar eğitim alması önerildi. El antiseptiklerinin günlük kontrolü yapılmalı, yenilerin üzerine açıldıkları tarih yazılmalı ve günlük malzeme stoğu/test tüpleri, şırıngalar, serum, vb.) minimum düzeyde tutulmalıdır.

Tartışma

Herbaspirillum türü 30 yıl önce *Burkholderia*, *Ralstonia* ve diğer bitki-tabanlı bakteriler dahil Betaproteobacteria sınıfı üyesi gram-negatif, rod şekilli bakteriler olarak tarif edildi. Klinik mikrobiyolojide *Herbaspirillum* ile ilişkin bilgiler sınırlı-

dır (2,6,8,14,15) ve olası patojeniteye ilişkin özellikler üzerine veriler de yetersizdir (16). Birkaç *Herbaspirillum* türü tanımlanmış ve çalışılmış olsa da insan patojeni olarak bildirilenler çok azdır (3). Bu organizma için belgelenen ilk insan enfeksiyonu 2005 yılında kronik karaciğer hastalığı öyküsü bulunan evsiz bir adamın yara izolatında bulundu (8). Yeni ve etkin teknolojilerin ortaya çıkması, kulak, göz, diz, idrar, orofarenks, gastrointestinal sistem, kan ve solunum sistemi enfeksiyonlarından 1978 yılında *Herbaspirillum* ve diğer sınıflandırılmamış insan izolatlarının tekrar sınıflandırılmasına yol açtı (5). *Herbaspirillum* üremesi, akut lenfoblastik lösemi (ALL) hastası iki yaşında bir kız çocuğunda Ziga ve arkadaşları tarafından ilk kez bildirildi. Üreme 16s rRNA gen analizi ile gösterildi ve tedavisi toplam 7 gün 8 saatte bir 20 mg/kg meropenem ile uygulandı (2). Regunath ve arkadaşları toplum-kaynaklı pnömonisi olan 46 yaşında bir erkek hastada *Herbaspirillum* üremesi tespit etti. Tanımlama MALDI-TOF sistemi kullanılarak yapıldı ve hasta 14 gün boyunca Doksisisiklin ve piperasilin-tazobaktam ile yapıldı (3). Chen ve arkadaşları ALL tanısı almış 48 yaşında kadın hastada *Herbaspirillum* üremesi tespit etti. 16s rRNA gen sekanslama yöntemi etkenin üremesi için kullanıldı. Etkenin aynı zamanda çoklu ilaç dirençli olduğu bulundu (7). Suwantarat ve arkadaşları, 65 yaşında bir son safha renal yetmezliği ve çoklu miyelomu olan hastada *Herbaspirillum* üremesi tespit etti. Etken gaz-sıvı kromatografisinde tespit edildi. Etken antibiyotik ilaçlara duyarlı olsa da hastaneye yatışının 4. gününde hasta kaybedildi (4). Spilker ve arkadaşları yaşları 20 ay ve 59 yıl arasında değişen farklı kistik fibrozları olan 28 hastada 200 ve 2007 yılları arasında bir çalışma yürüttü. *Herbaspirillum* üremesi, 27 hastanın balgam kültüründe ve 1 hastanın kan kültüründe görüldü (6).

Chemaly ve arkadaşları ilk hastane kaynaklı *Herbaspirillum* spp. enfeksiyon kümesini ve hastane ve toplum başlangıçlı enfeksiyonların sporadik olgularını ortaya koydular (10). *Herbaspirillum* cinsi sekiz olgu tanımlandılar. Kümelenen ilk 5 olguların izolatları başta *B. cepacia* olarak yanlış tanımlanmış ve olgularının dördünden kalan izolatlar ayırt edilememişti. Uçları prospektif sürveyans ile tanımlanmış ve farklı PFGE paternlerine sahipti. Herhangi bir çevresel kaynak veya ortak bulaşma mekanizması yoktu. Bizim çalışmamız, Chemly ve arkadaşlarının çalışmasından sonra *Herbaspirillum* tür bakterilerin sebep olduğu salgın bildirisi yapan ikinci çalışma olup kaynağının bulunmuş olduğu da ilk çalışmadır. İlk suş hastanede tespit edildikten sonra hastanın tedavi edildiği hastane servisi ile temasa geçildi ve üremenin bakteriyemi belirtileri sebebiyle önemli olduğu öğrenildi ve antibiyotik tedavisine başlandı. Takipler boyunca salgın olasılığının aynı bakterilerin yeni üremeleri yüzünden olduğu düşünülüp derhal enfeksiyon kontrol komitesi oluşturuldu. Hastalar farklı takımlar ile farklı çocuk servislerinde takip edildi, bazıları enfeksiyöz olmayan tanımlarla hastaneye kaldırılmış olsa da hastaneye yatış sonrasında klinik sepsis gelişti ve hepsi antibiyotik tedavisine yanıt verdi. Hasta-

ların çocuk acil servisinden hastaneye giriş yaptığı ve vasküler girişlerinin açıldığı öğrenildi. Çocuk acil serviste yapılan çevresel tarama, kullanımda olan 250 mL'lik salin solüsyonu torbasında, salin solüsyonu içeren dokuz şırıngada ve kullanıma hazır alçılarda *Herbaspirillum* üremesi saptandı. Tüm hastalar ve AP-PCR çevresel izolatlar ile temsili altı hasta ve üç çevresel izolat tamamen aynı bulundu. Kaynak belirlenir belirlenmez salgın enfeksiyon kontrol tedbirleri ve eğitim ile kontrol altına alındı. İki yıllık takip süresine yeni olgularla karşılaşılmadı. Acil durumlarda daha hızlı çalışmak için salin solüsyonun şırıngalara önceden çekilip bekletilmesinin, salin solüsyonlarının açılıp bekletilmesinin ve acil personelinin alçı kullanımının yanlış olduğu kanısına varıldı. Bu sebeple, her hasta ve her işlem için yeni malzemelerin kullanılması gerektiği anlaşıldı. Bu çalışmada zamandan tasarruf etmek adına uygulanan bazı yöntemlerin uygun olmayan uygulamalar olduğu ve daha büyük sorunlara yol açtığı görüldü. Bu salgınların önlenmesinde personel eğitimi ve çalışılan ortamların dezenfeksiyonu önemlidir. Klinisyenler, mikrobiyologlar ve enfeksiyon önleme komitesi ile hemşirelerin birlikte hareket etmesi ileriki salgınların kontrol edilmesini ve önlenmesini sağladı. *Herbaspirillum* türü, yakın filogenetik ve fenotipik yakınlıklarından ötürü sıklıkla *Burkholderia cepacia* kompleksi ile karıştırılmıştır (5, 9, 17). BD Phoenix™, MicroScan ve the Vitek2® gibi bakteri tanımlanması açısından yaygın olarak kullanılan otomatik sistemler *Herbaspirillum* spp. As *B. cepacia* complex, *C. pauculus* ve *Ochrobactrum anthropi* izolatlarını karıştırmıştır (2,6,8,10,16). Bu sebeple, otomatik sistemler tarafından tanımlanan yaygın olmayan laktöz-fermente etmeyen gram-negatif bakteriler diğer tanımlama yöntemleri ile de çalışılmalıdır. MALDI-ToF MS analizi organizma tanımlanması için rutin olarak kullanılsa da *Herbaspirillum* spp. tanımlaması için sınırlı veri mevcuttur (4). 2000 ve 2007 yılları arasında Michigan Üniversitesi *Burkholderia cepacia* Araştırma Labrotuarı ve Deposu, Amerika Birleşik Devletleri'nin 23 kistik fibroz tedavi merkezinden gelen 28 balgam ve bir kan örneğinde *Herbaspirillum* izole etmiştir. Bu izolatlardan 19'u (%68) ilk önce *Burkholderia* olarak tespit edilmiştir (16). 2006 ve 2011 arasında Chemal ve arkadaşları ilk başta '*Burkholderia cepacia*' üremesi tespit edilen 9 kan, 24 balgam ve 13 diğer kaynak kültür örneklerini tekrar incelemiş ve 8 tanesinin aslında *Herbaspirillum* olduğunu bulmuştur. İzolatların klonal ilişkisi PFGE ile gösterilmiştir (10). Spilker ve arkadaşları ayrıca 28 hastanın 19'unda olan *Herbaspirillum* üremesinin başta *Burkholderia cepacia* olarak tespit edildiğini vurgulamıştır (6). Bizim olgularımızda *Herbaspirillum huttiens/aquaticum*, *Burkholderia cepacia* complex (BCC)/*Cupriavidus pauculus* ve BCC sırasıyla Bruker MS, Phoenix™ ve Vitek2® Compact kullanılarak saptandı. MicroScan ve VITEK MS ile tanımlama mümkün olmadı ve izolatlar, 16S rDNA sekanslama analizi ile %99 oranda *Herbaspirillum* olarak tanımlandı.

Otomatik sistemler bu organizma için (yanlış olsa da) tanımlamada bulunacağı için fırsatçı enfeksiyonlara sebep

olabilir. Bizim salgınımız özellikle ticari tanımlama sistemlerinin veri tabanında bulunmayan veya konvansiyonel fenotipik yöntemler ile henüz tanımlanmamış organizmaların sekans-tabanlı tanımlama kullanımını göstermektedir. Nispeten yeni moleküler yöntemlerin artan kullanımı ve ulaşılabilirlikleri (MADI-TOF MS gibi) var olan mikrobiyal sistemlerinin (Vitek gibi) bilinen yanlış tanımlama sıkıntılarını göz önünde bulundurarak laboratuvarların bu organizmaları doğru tespit edebilmelerini sağlayabilir (3).

Sonuç olarak, klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının tanısal güçlerini artırmak olası salgınları önlemek için patojenik olabilecek nadir bulunan bakterilerin keşfedilmesine yardımcı olabilir.

Etik Komite Onayı: Çalışmamızın etik kurul onayı Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik kurulundan alınmıştır. (Etik kurul no: 825/17).

Hasta Onamı: Hasta onamı alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir ve tasarım - ND, BB, AO, AS, DE, LT, E.Aktas; Dizayn - ND, BB, AO, AS, LT; Denetleme - ND; Kaynaklar - ND; Veri toplaması ve/veya işlemesi - Tüm yazarlar; Analiz ve/veya yorum - ND, BB, AO, AS, DE, LT, BO; Literatur taraması - ND; Yazıyı yazan - ND; Eleştirel inceleme - Tüm yazarlar.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

1. Allegranzi B, Nejad SB, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *The Lancet* 2011;377(9761):228-41. [\[CrossRef\]](#)
2. Ziga ED, Druley T, Burnham C-AD. *Herbaspirillum* species bacteremia in a pediatric oncology patient. *J Clin Microbiol* 2010;48(11):4320-1. [\[CrossRef\]](#)
3. Regunath H, Kimball J, Smith LP, Salzer W. Severe community-acquired pneumonia with bacteremia caused by *Herbaspirillum aquaticum* or *Herbaspirillum huttiense* in an immune-competent adult. *J Clin Microbiol* 2015;53(9):3086-8. [\[CrossRef\]](#)
4. Suwantarant N, La'Tonzia LA, Romagnoli M, Carroll KC. Fatal case of *Herbaspirillum seropedicae* bacteremia secondary to pneumonia in an end-stage renal disease patient with multiple myeloma. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015;82(4):331-3. [\[CrossRef\]](#)
5. Baldani J, Pot B, Kirchhof G, Falsen E, Baldani V, Olivares F, et al. Emended description of *Herbaspirillum*; incision of [*Pseudomonas*] *rubrisubalbicans*, a mild plant pathogen, as *Herbaspirillum rubrisubalbicans* comb. Nov.; and classification of a Group of Clinical Isolates (EF Group 1) as *Herbaspirillum* species 3. *Int J Syst Evol Microbiol* 1996;46(3):802-10. [\[CrossRef\]](#)
6. Spilker T, Uluer AZ, Marty FM, Yeh WW, Levison JH, Vandamme P, et al. Recovery of *Herbaspirillum* species from persons with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2008;46(8):2774-7. [\[CrossRef\]](#)
7. Chen J, Su Z, Liu Y, Sandoghchian S, Zheng D, Wang S, et al. *Herbaspirillum* species: a potential pathogenic bacteria isolated from acute lymphoblastic leukemia patient. *Curr Microbiol* 2011;62(1):331-3. [\[CrossRef\]](#)
8. Tan MJ, Oehler RL. Lower extremity cellulitis and bacteremia with *Herbaspirillum seropedicae* associated with aquatic exposure in a patient with cirrhosis. *Infect Dis Clin Pract* 2005;13(5):277-9. [\[CrossRef\]](#)
9. da Silva RM, Caugant DA, Eribe ER, Aas JA, Lingaas PS, Geiran O, et al. Bacterial diversity in aortic aneurysms determined by 16S ribosomal RNA gene analysis. *J Vasc Surg* 2006;44(5):1055-60. [\[CrossRef\]](#)
10. Chemaly RF, Dantes R, Shah DP, Shah PK, Pascoe N, Ariza-Heredia E, et al. Cluster and sporadic cases of *Herbaspirillum* species infections in patients with cancer. *Clin Infect Dis* 2014;60(1):48-54. [\[CrossRef\]](#)
11. Wayne P. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2011. [\[CrossRef\]](#)
12. Durmaz R, Otlu B, Koksall F, Hosoglu S, Ozturk R, Ersoy Y, et al. The optimization of a rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for the typing of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *Jpn J Infect Dis* 2009;62(5):372-7. [\[CrossRef\]](#)
13. Kutty PK, Moody B, Gullion JS, Zervos M, Ajluni M, Washburn R, et al. Multistate outbreak of *Burkholderia cenocepacia* colonization and infection associated with the use of intrinsically contaminated alcohol-free mouthwash. *Chest* 2007;132(6):1825-31. [\[CrossRef\]](#)
14. Schreckenberger P, Daneshvar M, Weyant R, Hollis D. *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods."Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Landry ML, Tenover JC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology* 9. baskı" kitabında s. 770-802. ASM Press, Washington; 2007. [\[CrossRef\]](#)
15. Winn WC. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. [\[CrossRef\]](#)
16. Marques AC, Paludo KS, Dallagassa CB, Surek M, Pedrosa FO, Souza EM, et al. Biochemical characteristics, adhesion, and cytotoxicity of environmental and clinical isolates of *Herbaspirillum* spp. *J Clin Microbiol* 2015;53(1):302-8. [\[CrossRef\]](#)
17. Ishii S, Yamamoto M, Kikuchi M, Oshima K, Hattori M, Otsuka S, et al. Microbial populations responsive to denitrification-inducing conditions in rice paddy soil, as revealed by comparative 16S rRNA gene analysis. *Appl Environ Microbiol* 2009;75(22):7070-8. [\[CrossRef\]](#)