

## Mycobacterium szulgai: articular infections case report

Anna Camaggi<sup>1</sup>, Remo Ceffa<sup>2</sup>, Monia Mantovani<sup>1</sup>, Paola Macaluso<sup>1</sup>, Stefania Orlandi<sup>1</sup>, Sabrina Tamburelli<sup>1</sup>, Stefano Andreoni<sup>1</sup>, Gian Lorenzo Molinari<sup>1</sup>, Vesselina Kroumova<sup>1</sup>, Giacomo Fortina

<sup>1</sup> Laboratorio Microbiologia e Virologia - Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità di Novara

<sup>2</sup> Struttura Complessa di Ortopedia e Traumatologia - Struttura Semplice Chirurgia della Mano - Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità di Novara

**Key words:** *Mycobacterium szulgai*, articular infection

**Infezione articolare da *Mycobacterium szulgai*: descrizione di un caso clinico**

### SUMMARY

**Introduction:** The bone and joint infections sustained by mycobacteria and mainly involving the synovium, tendons and bone stock, may be traumatic, especially in open fractures or iatrogenic post surgical procedures.

**Methods:** The frustules, taken after cleaning the bone, were sent to the Microbiological Laboratory and processed for the presence of Gram-positive and Gram-negative bacterial populations, the mycobacteria Group *M. tuberculosis* complex and the mycobacteria belonging to the group of NTM (Non Tubercular Mycobacteria).

**Results:** The decontaminated material was sown on liquid culture (MGIT 960 System BD Diagnostics) and on solid growth medium (Löwenstein-Jensen) and kept under observation at 37° C for 60 days. After 15 days on the solid medium there developed a mycobacterium strongly pigmented in orange. By the reverse hybridization method "GenoType<sup>®</sup>CM; Hain Diagnostika, Nehren, Germany; Arnika", *Mycobacterium szulgai* was identified, an organism rarely isolated in our laboratory. On preliminary characterization it resulted scotochromogenic at 37° C and photochromogenic when cultured at 25° C.

**Conclusions:** The isolation of *M. szulgai*, and the previous isolation of a *M. intracellulare* (paper in press) from a similar material suggest that, in this type of infection, the role of mycobacteria can be clinically relevant and probably underestimated, both because the difficulty of isolating and identifying these organisms and because surgeons almost never request this type of investigation. It would therefore be appropriate to send routinely these materials to dedicated laboratories equipped to search for mycobacteria. Its identification could allow a more realistic picture on the role played by these bacterial infections in osteoarticular infections.

Le infezioni osteo-articolari attribuite a micobatteri tubercolari (5) e, in particolare in questi ultimi tempi, a MNT (6), coinvolgono prevalentemente sinovia, tendini, borsa e tessuto osseo (3, 4) e possono avere origine traumatica, soprattutto in fratture aperte o iatrogene post interventi chirurgici.

Descrizione del caso. Paziente maschio di 54 anni con tumefazione volare al polso e paralisi sensitiva e motoria del nervo mediano e ulnare alla mano sinistra, il tutto confermato da studio EMG. Studio ECO e RM positivi per sinovite dei flessori al polso. Il paziente viene sottoposto a trattamento chirurgico; all'apertura si evidenzia sinovite superficiale prevalentemente essudativa e sinovite profonda prevalentemente proliferativa con granulati orizzoidi multipli. Viene effettuata sinovialectomia radicale con decompressione del nervo mediale e ulnare.

Il materiale prelevato, è stato inviato al Laboratorio di Microbiologia e sottoposto alla procedura di triturazione/omogeneizzazione mediante strumento Stomacher 80 (PBI). Con il materiale così ottenuto si è proceduto alla ricerca della normale flora batterica aerobia e anaerobia gram-positiva e gram-negativa e microrganismi del genere *Candida* mediante semina su comuni terreni colturali (Agar sangue, Agar cioccolato, Sabouraud, Schaedler)(Becton Dickinson); inoltre, dopo decontaminazione del materiale omogeneizzato mediante N-acetil-L-cisteina-NaOH al 2% (procedura standard BD BBL MycoPrep) si è proceduto anche alla ricerca di micobatteri del gruppo *M. tuberculosis* complex nonché micobatteri appartenenti al gruppo dei MNT. Il materiale decontaminato, è stato quindi seminato su terreni liquidi (MGIT) (osservazione protratta per 42 giorni) e solidi (Löwenstein-Jensen) e tenuto in osservazione per 60 giorni in termostato a 37°C.

La normale ricerca batteriologica ha evidenziato in seconda giornata la crescita di isolate colonie di cocchi gram-positivi, dovuta a probabile inquinamento, identificati successivamente come *Staphylococcus epidermidis* dal sistema automatico Vitek2. La ricerca micobatteriologica ha invece evidenziato su terreno solido di Löwenstein-Jensen lo sviluppo in quindicesima giornata di un micobatterio fortemente pigmentato in arancione. L'identificazione, condotta mediante metodo di ibridazione inversa "GenoType *Mycobacterium* CM" (Common

Mycobacterial) della Ditta Arnika, ha portato all'identificazione di *M. szulgai* (1, 2), micobatterio scotochromogeno a 37°C ma che può risultare fotocromogeno se coltivato a 25°C, un microrganismo di raro isolamento nelle nostre casistiche. Al contrario, il terreno liquido non ha consentito nessun tipo di crescita fino allo scadere del normale tempo di osservazione di 42 giorni.

L'isolamento di *M. szulgai* e il precedente isolamento di un *M. intracellulare* (nota in corso di pubblicazione) da un materiale analogo, ci induce a pensare che, in questo tipo di infezioni, il ruolo dei micobatteri possa essere rilevante e probabilmente sottovalutato sia per le difficoltà di isolare e identificare questo tipo di microrganismi sia perché, da parte del chirurgo, non viene quasi mai richiesta questo tipo di indagine. Sarebbe pertanto opportuno che questi materiali possano essere inviati sistematicamente a Laboratori specializzati nella ricerca e identificazione dei micobatteri per poter disegnare un quadro realistico su quale possa essere l'effettivo ruolo di questi microrganismi nelle infezioni osteoarticolari. Dalla nostra osservazione viene inoltre ribadita, nell'ambito di questo tipo di ricerca, l'importanza dal punto di vista batteriologico dell'associazione coltura solida/coltura liquida, perché alcuni micobatteri possono indubbiamente presentare maggiori difficoltà nella crescita su determinati terreni colturali.

### BIBLIOGRAFIA

- Davidson PT. *Mycobacterium szulgai*, a new pathogen causing infection in the lung. *Chest* 1976; 69: 799-801.
- Hakawi AM, Alrajhi AA. Septic arthritis due to *Mycobacterium szulgai* in a patient with human immunodeficiency virus: case report. *Scand J Infect Dis* 2005; 37: 235-7.
- Lee EY, Ip JW, Fung BK, Ted UE. *Mycobacterium chelonae* hand infection: a review. *Hand Surg* 2009; 14(1): 7-13.
- Lui TH, Stephen LW. A case of co-existing pigmented villonodular synovitis and tuberculosis infection of the foot and ankle. *Arch Orthop Trauma Surg* 2008 Aug; 128(8): 769-72.
- Oguder A, Tosun O, Akkurt O, Oguz T, Colakoglu T. Tuberculosis of the foot: a rare involvement in osteoarticular tuberculosis. *J Clin Rheumatol* 2006 Dec; 12(6): 304-5.
- Wong NH, Sun LK, Lau PY. Spinal Infection caused by *Mycobacterium avium* complex in a patient with no acquired immune deficiency syndrome: a case report. *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2008 Dec; 16(3): 359-63.

**Corresponding author: Anna Camaggi**

Laboratorio di Microbiologia e Virologia; Azienda Ospedaliero-Universitaria "Maggiore della Carità"

Corso Mazzini 18 - 28100 Novara - Tel. 0321-3733427 - Fax. 0321-3733588 - E-mail: [annacamaggi@libero.it](mailto:annacamaggi@libero.it)

## A case of chronic otitis caused by *Achromobacter xylosoxidans* in children with severe combined immunodeficiency (SCID)

Pietro D'Aversa, Luca Leo, Adele Civino<sup>1</sup>, Maria Giuseppa Monteduro, Laura Russo, Mariacristina Cosi, Giuseppe Abate, Giovanbattista Lobreglio

U.O. Medicina di Laboratorio Sez. di Microbiologia. "Pia Fondazione di Culto e Religione Card. G. Panico", Tricase (LE).

I.U.O. Pediatria – UTIN. A.O. "Pia Fondazione di Culto e Religione Card. G. Panico", Tricase (LE).

**Key words:** Otitis media; *Achromobacter xylosoxidans*; Severe Combined Immunodeficiency.

### Caso clinico di otite cronica da *Achromobacter xylosoxidans* in bambina con immunodeficienza (SCID)

#### SUMMARY

**Introduction** A girl approximately 6-year-old suffering from SCID (Severe Combined Immunodeficiency), with adenosine deaminase deficiency and purine nucleoside phosphorylase, was admitted in the Department of pediatric onco-hematology. Following clinical diagnosis of chronic purulent otitis media with tympanic perforation, a microbiological test was required for bacteria and fungi on headset secret. The results indicated the presence of *Achromobacter xylosoxidans* (Ax) already reported in the literature as a causative agent in rare cases of chronic otitis (4-5).

**Methods** The strain, isolated on Columbia agar + 5% sheep blood and Mac Conkey agar (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), was identified using the oxidase test, catalase, system VITEK2/card GN and gallery API-20 NE (bioMérieux, Inc., Durham, USA). It was then submitted to susceptibility testing with the system VITEK2 (card AST-N093 and AST-N097) and E-test (bioMérieux AB, Solna, Sweden) according to current CLSI (M07 – A8) guidelines for MIC (minimal inhibitory concentration) interpretation (1). The antibiotics tested and the corresponding categories are shown in Table 1. As standard reference we used the strain Ax ATCC 27061.

**Results** Following a 24 h culture on agar Mac Conkey small convex, the colonies of the isolated strain presented a light pink color not fermenting lactose. Ax also showed positive reaction to oxidase and catalase test. The antibiotic susceptibility assay showed sensitivity to the antibiotics tigecycline, piperacillin, piperacillin/tazobactan, ticarcillin, ticarcillin/ac. clavulanate, colistin, and imipenem meropenem, intermediate sensitivity to fluoroquinolones, and resistance to all the other antibiotics tested (Table 1). The patient was treated with meropenem e.v. 20 mg / kg every 8h for 7 days followed by another 7 days of ciprofloxacin per os 15 mg / kg x 2/day, and ciprofloxacin ear drops (3 gtt x 2/day) alternated with irrigations of boric acid for 15 days. Following a 10 days therapy suspension, the culture was repeated and a negative result was observed.

**Discussion** From the case presented here it is clear that in certain clinical conditions Ax, commonly considered a saprophytic organism, may behave as an opportunistic pathogen. In addition, it has already been documented that localized infections from Ax can evolve into serious complications such as meningitis and sepsis (2-3). The wide variability in the response of the Ax strains isolated from human infections to antibiotics, as reported in the present investigation and in the literature, suggests a targeted approach to therapy based on susceptibility testing.

Il caso clinico pervenuto alla nostra osservazione riguardava una bambina di 6 anni affetta da SCID (*Severe Combined Immunodeficiency*) con deficit di adenosina deaminasi e purin-nucleoside fosforilasi ricoverata nel reparto di Onco-ematologia pediatrica del nostro nosocoma. In seguito a diagnosi clinica di otite cronica purulenta con perforazione timpanica, veniva richiesta un'indagine colturale per batteri e miceti su secreto auricolare.

I risultati dell'indagine, evidenziavano la presenza monomicrobica di *A. xylosoxidans* (Ax), già riportato in letteratura quale agente eziologico in rari casi di otite cronica (4-5).

Il ceppo isolato su Columbia agar + 5% sangue di montone e Mac Conkey agar (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) è stato identificato mediante i test dell'ossidasi, catalasi, sistema VITEK2/card GN e galleria API-20 NE (bioMérieux, Inc., Durham, USA). Successivamente è stato eseguito l'antibiogramma con il sistema VITEK2 (card AST-N093 e AST-N097) ed E-test (AB bioMérieux, Solna, Svezia) in accordo alle attuali linee guida CLSI (M07 - A8) per l'interpretazione delle MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) (1). Gli antibiotici saggiati e le corrispondenti categorie sono riportate in Tabella 1. Noi abbiamo utilizzato come ceppo standard di riferimento, Ax ATCC 27061.

Le colonie del ceppo isolato si presentavano a 24h su agar Mac Conkey piccole convesse di colore rosa chiaro e lattosio non fermentanti. Ax presentava inoltre reazione positiva al test dell'ossidasi e della catalasi. I saggi agli antibiotici hanno evidenziato sensibilità per tigeciclina, piperacillina, piperacillina/tazobactan, ticarcillina, ticarcillina/ac. clavulanico, colistina, imipenem e meropenem; una categoria intermedia per tutti i fluoroquinolonici; e resistenza per tutti gli altri (Tabella 1).

La paziente è stata trattata con meropenem e.v. 20 mg/Kg ogni 8h per 7gg seguiti da altri 7gg di ciprofloxacin per os 15 mg/Kg x 2/die e con ciprofloxacin gocce auricolari (3 gtt x 2/die) alternata con irrigazioni di acido boric per 15 gg. Dopo 10 gg di sospensione della terapia è stato ripetuto l'esame colturale con esito negativo.

Dal caso da noi presentato, si evince come in alcune situazioni cliniche Ax, considerato comunemente un microrganismo saprofito, possa comportarsi da patogeno opportunista; inoltre, è stato già documentato come infezioni localizzate da Ax possano evolvere in complicanze gravi come meningiti e sepsi (2-3). L'ampia variabilità delle sensibilità agli antibiotici, riportata in letteratura per i differenti ceppi di Ax isolati da infezioni umane, suggerisce un approccio terapeutico mirato basato su antibiogramma.

**Tabella 1.** Antibiotici saggiati mediante sistema VITEK 2 e E-test sul ceppo di *A. xylosoxidans* isolato dalla paziente e relative categorie

ANTIBIOTICO	CATEGORIA	ANTIBIOTICO	CATEGORIA
Tigeciclina	S	Meropenem	S
Cotrimoxazolo	R	Levofloxacin	I
Ampicillina	R	Cefepime	R
Piperac./Tazobac.	S	Minociclina	R
Amoxic./Ac.Clav.	R	Colistina	S
Piperacillina	S	Ciprofloxacin	I
Cefazolina	R	Aztreonam	R
Cefotaxime	R	Perfloxacin	R
Gentamicina	R	Rifampicina	R
Norfloxacin	I	Ticarcillina	S
Amikacin	R	Ticarc./Ac. Clav.	S
Ceftazidime	R	Tobramicina	R
Imipenem	S	-	-

**Corresponding author: Pietro D'Aversa**

Indirizzo: Via L. Ratiglia, 50 - 73039 Tricase (Lecce) - Tel.: 328/1513673

E-mail: [pietro.daversa@libero.it](mailto:pietro.daversa@libero.it)

**BIBLIOGRAFIA**

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – Eighth Edition*. CLSI document M07 – A8 (ISBN 1-56238-689-1). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suit 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2009.
2. Duggan JM, Goldstein SJ, Chenoweth CE, Kauffman CA, Bradley SF. *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia: Report of four cases and review of the literature. Clin Infect Dis 1996; 23: 569-576.
3. Namnyak SS, Holmes B, Fathalla SE. Neonatal Meningitis Caused by *Achromobacter xylosoxidans*. J Clin Microbiol 1985; 22 (3): 470-471.
4. Wiatr M, Morawska A, Składziński J, Kedzierska J. *Alcaligenes xylosoxidans* a pathogen of chronic ear infection. Otolaryngol Pol 2005; 59 (2): 277-280.
5. Wintermeyer SM and Nahata MC. *Alcaligenes xylosoxidans* subsp *xylosoxidans* in children with chronic otorrhea. Otolaryngol Head Neck Surg 1996; 114: 332-334.