

Bacteriemia por *Brucella canis*. Aislamiento con el Sistema Bact-Alert

R. SOLOAGA^{1*}, A. SALINAS², M. POTERALLO³, A. MARGARI³, B. SUAR², N. LUCERO⁴, M. TURCO⁵,
A. PROCOPIO⁵, M. ALMUZARA⁶

¹Pontificia Universidad Católica Argentina. ²Servicio de Microbiología y ³Servicio de Infectología del Hospital Naval «Pedro Mallo». ⁴Servicio de Brucelosis Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán».

⁵Servicio de Microbiología del Hospital de Niños «Ricardo Gutiérrez». Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

⁶Servicio de Microbiología del Hospital «Eva Perón». San Martín. Provincia de Buenos Aires. Argentina.

* Correspondencia: R. Soloaga. E-mail: rnsoloaga@yahoo.com

RESUMEN

B. canis puede causar enfermedad en humanos, pero esto es poco frecuente aún en países donde la infección es común en perros. Se presenta el caso de un paciente de 15 años de edad que ingresa por fiebre de quince días de evolución sin foco aparente. El examen físico mostró dolor hepático a la palpación y adenomegalias axilares, cervicales e inguinales. La ecografía abdominal evidenció esplenomegalia, la radiografía de tórax y el ecocardiograma transtorácico no presentaron anomalías. Se tomaron 5 hemocultivos (sistema Bact-Alert, Biomerieux, Marcy, l'Étoile, Francia) los cuales resultaron positivos; los mismos correspondieron a 2 botellas estándares (tiempo de positivización de 72 y 64,8 horas) y a 3 pediátricas FAN (tiempo de positivización de 74,5; 72 y 67,2 hs). El microorganismo fue identificado en forma presuntiva por pruebas bioquímicas como *B. canis* y la identificación fue confirmada en el Instituto Malbrán. Luego de 14 días de tratamiento con ceftriaxona el paciente evolucionó afebril; al tener documentación bacteriológica de *B. canis*, se realizó tratamiento ambulatorio durante 21 días con doxiciclina (100 mg cada 12 hs) y rifampicina (600 mg/día durante 6 semanas). Se descartó compromiso óseo y la evolución fue favorable desapareciendo todos los síntomas.

Palabras clave: bacteriemia, *Brucella canis*, oxidasa

SUMMARY

Bacteriemia by *Brucella canis* Isolation with the Bact-Alert System. *Brucella canis* and other species of the genus *Brucella* can cause human disease. However, this species infrequently cause human disease, including in countries where dogs population is highly infected. A 15 years old male was admitted to the hospital with 15 days history of fever without visible focus. Physical examination revealed pain at liver palpation and axillar, cervical and inguinal lymphadenomegalies. Abdominal ultrasonography showed spleenomegaly, the chest Rx and the trans thoracic echocardiogram were normal. Five blood samples were obtained and cultured in 2 standards bottles (time of positivization 72 - 64,8 hours), and 3 pediatric FAN bottles (time of positivization 74,5; 72 and 67,2 hours) (Bact-Alert sistem, Biomerieux, Marcy, l'Étoile, France). The microorganism was presuntive identified as *B. canis*, and then was confirmed in the National Reference Center Instituto ANLIS «Carlos G. Malbrán». After 14 days of initiating ceftriaxone treatment the patient was afebrile. When the confirmation of *Brucella* was made, he was discharged and ambulatory was prescribed with doxycycline and rifampin for 21 days. Bones were not compromised and the outcome was good with complete resolution of his illness.

Key words: bacteriemia, *Brucella canis*, oxidase

Aunque la incidencia de brucelosis varía ampliamente en los diferentes países, sigue siendo un problema mundial tanto para animales como para humanos. La brucelosis bovina causada por *B. abortus* es la más ampliamente distribuida; en seres humanos, *B. melitensis* (afecta a ganado ovino) es la más importante desde el punto de vista clínico (5, 21).

La verdadera incidencia de brucelosis humana no es totalmente conocida y varía desde <0,01 a >200 casos por 100.000 habitantes; algunos países como Perú, Kuwait y Arabia Saudita tienen los mayores valores de incidencia, pero otras regiones que informan menor número de casos pueden estar reflejando bajos niveles de vigilancia y registro (5, 18, 20). Otros factores de riesgo son los métodos de preparación de alimentos,

particularmente los lácteos y el contacto directo con animales (5).

B. canis puede causar enfermedad en humanos, pero esto es poco frecuente aún en países donde la infección es común en perros (5). Si bien se carece de información sobre su prevalencia, se han documentado casos en Argentina, E.E.U.U, España, China, Japón, Tunes y otros países (4-5).

Caso Clínico: paciente de 15 años de edad que ingresa al Hospital Naval el 24 de septiembre de 2002 por fiebre (a predominio vespertino) de quince días de evolución sin foco aparente.

Los antecedentes de enfermedad activa al momento del ingreso fueron angina a repetición y dolor en rodilla derecha. Por estos motivos el paciente había recibido eritromicina y AINE respectivamente.

El examen físico mostró dolor a la palpación hepática y adenomegalias axilares, cervicales e inguinales. Se documentaron dos registros febriles diarios.

La ecografía abdominal evidenció esplenomegalia, la radiografía de tórax no presentó anormalidades y el ecocardiograma transtorácico no demostró la presencia de vegetaciones. También se realizó TAC de tórax, abdomen y pelvis.

En cuanto a los antecedentes epidemiológicos, se puede mencionar la presencia de un perro vagabundo de reciente adopción por la familia; el mismo no pudo ser estudiado debido a que escapó del domicilio.

Luego de 14 días de tratamiento con ceftriaxona, 1 gr cada 12 hs, el paciente se encontraba afebril. Al tener documentación bacteriológica de *B. canis*, se realizó tratamiento ambulatorio durante 21 días con doxiciclina (100 mg cada 12 hs) y rifampicina 600 mg/día durante 6 semanas).

Se descartó compromiso óseo y la evolución fue favorable desapareciendo todos los síntomas.

Los exámenes de laboratorio del paciente al ingreso, mostraron los siguientes valores: eritrosedimentación: 53 mm; GPT: 118 UI/ml; GOT: 79 mU/ml; TMGT: 157 UI/l; bilirrubina directa: 0,26 mg%; bilirrubina total: 0,58 mg %; glucemia: 94 mg%; recuento de glóbulos blancos: 4000/mm³ (60% de monocitos y 40% de linfocitos); hematocrito: 34%; plaquetas: 157.000/ mm³; extendido de sangre periférica: ligera hipocromía, plaquetas normales y 10% linfo-monocitos

Serología para VIH, hepatitis A, B y C, y monotest, negativos. IgG para citomegalovirus positiva.

Diagnóstico bacteriológico: entre los días 24 y 27 de septiembre de 2002, se tomaron 5 hemocultivos (sistema Bact-Alert, Biomerieux, Marcy, l'Etoile, Francia) los cuales resultaron positivos, los mismos correspondieron a 2 botellas estándar (tiempo de positivización de 72 y 64,8 horas) y a 3 pediátricas FAN (tiempo de positivización de 74,5; 72 y 67,2 hs).

En los hemocultivos positivos se evidenció la presencia de cocobacilos gram negativos que no desarrollaron en EMB de Levine, SS ni en McConkey, pero sí lo hicieron, luego de 24 hs de incubación, en agar tripteína soja enriquecido con 5% de sangre en atmósfera aeróbica.

El resultado de las pruebas bioquímicas fue el siguiente:

Negativo para: oxidasa (positiva a >2'); gas de NO₂ 0,1%; gas de NO₂ 0,01%; gas de NO₃ movilidad; fenil alanina deaminasa; lisina decarboxilasa; ornitina decarboxilasa; hidrólisis de esculina; citrato; acetato; fermentación de glucosa y ácido a partir de maltosa, sacarosa y manitol.

Dieron resultado positivo las siguientes pruebas: hidrólisis de urea; catalasa; oxidación de glucosa, xilosa y ribosa; arginina dehidrolasa y reducción de NO₃ a NO₂.

Se realizó también API 20 NE (Biomérieux, Marcy, l'Etoile, Francia), el cuál no identificó al germen, pero advertía de la posibilidad de *Brucella*. El código que se obtuvo fue 1200000 (considerando oxidasa negativo y 1200004 con oxidasa positivo).

La identificación bioquímica fue corroborada por serotipificación en el Instituto Nacional de Microbiología ANLIS-Malbrán.

Luego de 72 hs de tratamiento con ceftriaxona, se tomaron hemocultivos adicionales los cuales fueron negativos.

La brucellosis es una zoonosis donde virtualmente, todos los casos humanos derivan directa o indirectamente de la exposición a animales (5, 18, 20, 21).

Los síntomas de esta enfermedad son inespecíficos (fiebre, sudoración, malestar, anorexia, dolor de cabeza y de espalda) y pueden empezar en forma abrupta o ser insidiosos. La fiebre ondulante se presenta principalmente en pacientes que no recibieron tratamiento antibiótico por largo tiempo; se observa linfadenopatía moderada en 10-20% y hepatomegalia o esplenomegalia en 20-30% de los casos (5, 18, 20, 21).

B. canis es una rara causa de bacteriemia y endocarditis (11, 20). La forma más común de transmisión es por contacto con perros infectados o sus secreciones o a través de exposición en el laboratorio (1, 11).

En este caso, el paciente se presentó con fiebre de origen desconocido de 15 días de evolución, adenopatías axilar, inguinal, cervical y esplenomegalia. Coincidiendo con la literatura, el antecedente epidemiológico más importante fue la presencia en la casa de un perro vagabundo, en el cual sin embargo no se pudo documentar la presencia de *B. canis* debido a que se fugó del domicilio.

El hemocultivo es todavía el método estándar para el diagnóstico durante la fase aguda resultando positivos en 70 a 90% de los casos (3, 10, 19).

Diversos trabajos han documentado que los sistemas de hemocultivos que han brindado buenos resultados en la recuperación de estos microorganismos a partir de sangre son lisis centrifugación y métodos bifásicos (6, 8, 12, 13, 17, 22).

Rodríguez y col (11), compararon el método bifásico con el sistema Bactec 730 (Becton Dickinson) y encontraron que el primero permitía el aislamiento de este microorganismo en 28 casos versus 12 del sistema automatizado; por otra parte el tiempo medio de detección en Bactec fue de 19,6 días siendo necesario los subcultivos terminales en 11 de los 12 casos, con el método bifásico la recuperación fue más rápida (tiempo medio de 7 días).

Montes (10) analizó el resultado de los hemocultivos bifásicos (Biomérieux, Marcy, l'Etoile, Francia) de 86 pacientes con seroconversión para brucelosis y halló que 42% de las muestras eran positivas al segundo día en tanto que lo mismo ocurría con 57% al cuarto día y 1,2% al sexto día de incubación de los frascos no siendo necesarios los subcultivos terminales ni la incubación prolongada a 30 días; todos los casos correspondieron a *B. melitensis*.

En general se acepta que para el aislamiento de brucelas de frascos de hemocultivos correspondientes a sistemas automatizados, es necesario prolongar el tiempo de incubación de las botellas y realizar subcultivos terminales antes de descartar a las mismas como negativas (8, 12, 17). En todos los hemocultivos tomados a este paciente, la detección de positividad fue muy precoz (dentro de las 75 hs) tanto para las botellas estándar como para las FAN, haciendo innecesarios los subcultivos terminales.

Sumerkan y col (18) inocularon botellas de Bact-Alert con *B. melitensis* y hallaron que las botellas FAN tenían menor tiempo de detección que las estándar (41-48 hs a 45,6-56,2 hs, respectivamente). Estos tiempos de detección son similares a los de este caso en particular. *Brucella* spp exige su diferenciación de otros géneros ureasa positiva rápida como *Bergeyella zoohelcum*, *Oligella ureolytica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Ralstonia paucula* (CDC grupo IV c-2), *Ochrobactrum anthropi*, *Rhizobium (Agrobacterium) radiobacter* y *Psychrobacter phenylpyruvicus*. (16)

Las cepas de *Brucella* spp, oxidasa positivas, se diferencian de *B. zoohelcum* por dar la prueba de indol negativa y oxidar xylosa y/o glucosa. Las especies *O. ureolytica*, *B. bronchiseptica* y *R. paucula* no utilizan a los hidratos de carbono y son móviles. *O. anthropi* y *R. radiobacter* desarrollan fácilmente en el medio EMB de Levine (eosina azul de metileno) con un crecimiento exuberante similar al de las enterobacterias y son móviles por medio de flagelos peritricos, en tanto que *Brucella* spp. no desarrolla en dicho medio y son inmóviles. Finalmente, *P. phenylpyruvicus* es inerte frente a los hidratos de carbono (16). En esta cepa de *B. canis*, el resultado negativo de la oxidasa hace necesaria su diferenciación de otros bacilos no fermentadores, en particular los ureasa positiva como *Bordetella parapertussis* que a diferencia de *B. canis* no reduce NO_3 a NO_2 .

Es importante resaltar que frente al aislamiento de cocobacilos gram negativos oxidasa positiva o negativa, catalasa positiva y ureasa rápidamente positiva se debe pensar en la posibilidad de *Brucella* y trabajar las cepas/muestras en flujo laminar de seguridad biológica dado el potencial riesgo de infección a través de la vía inhalatoria (14).

Uno de los esquemas clásicamente recomendados para el tratamiento de la brucelosis en adultos es el esquema de rifampicina 600-900 mg, doxiciclina 200 mg diarios por un mínimo de 6 semanas; la asociación de quinolonas fluoradas en combinación con rifampicina es una alternativa igualmente eficaz (2, 9). Las infecciones con complicaciones como meningoencefalitis o endocarditis requieren la combinación de rifampicina, una tetraciclina y un aminoglucósido (5, 7, 14, 15). En niños, cuando la presentación clínica es no complicada, se ha recomendado rifampicina como tratamiento de elección y cotrimoxazol como una alternativa; ambos se relacionan con un alto índice de recaídas si se utilizan solos por lo que resulta aconsejable asociarlos (5, 7). En este paciente, se consiguió la cura clínica sin recaídas con el tratamiento de ceftriaxona (utilizado como tratamiento empírico hasta conocer la identificación del microorganismo) durante 3 semanas, seguido por otras tres semanas de doxiciclina y rifampicina que constituye en realidad el tratamiento de elección.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anonymous. Brucellosis in the United States, 1965-1974. (1977). J. Infect. Dis. 136:312-316.
2. Akova M, Uzun O, Akalin H, Hayran M, Unal S, Gur D (1993) Quinolones in the treatment of human brucellosis; comparative trial of ofloxacin-rifampin versus doxycycline-rifampin. J. Antimicrob Chemother. 37: 1831-1834.
3. Arnow P, Smaron M, Ormiste V (1984) Brucellosis in a group of travelers to Spain. JAMA. 251: 505-507.
4. Carmichel L (1990) *Brucella canis*. In : Nielsen K, Duncan J (eds), Animal brucellosis. CRC Press Inc, Boca Raton, p. 335-350.
5. Corbel M (1997) Brucellosis: an overview. Emerg. Infect. Dis. 3: 213-221.
6. Etemadi H, Raissadat A, Pickett M (1984) Isolation of *Brucella* spp. from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 20: 586-588.
7. Khuri-Bulos N, Daoud A, Azab S (1993) Treatment of childhood brucellosis: results of a prospective trial on 113 children. Ped. Infect. Dis. 12: 377-381.
8. Kolman S, Maayan M, Gotesman G, Roszenstein L, Wolach B, Lang R (1991) Comparison of the Bactec and Lysis concentration method for the recovery of *Brucella* species from clinical specimens. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 10: 647-648.
9. Lang R, Rubinstein E (1992) Quinolones for the treatment of brucellosis. J. Antimicrob. Chemother. 29: 357-360.
10. Montes I (1999) Evaluation of the biphasic medium for the isolation of *Brucella melitensis*. 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Resumen P213, pag 191 San Francisco; USA .
11. Munford R, Weaven R, Patton C, Feely J, Feldman R (1975) Human disease caused by *Brucella canis*: a clinical and epidemiological study of two cases. JAMA. 231: 1267-1269.
12. Reimer L, Wilson M, Weinstein M (1997) Update on detection of bacteremia and fungemia. Clin. Microbiol. Rev. 10: 445-465.
13. Rodríguez J, Sanchez J, Bellido J (1988) Comparison of a biphasic system and a non-radiometric system for blood culture. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7: 666-668.
14. Sewell D (1995) Laboratory-associated infections and biosafety. Clin. Microbiol. Rev. 8: 389-405.
15. Shakir R (1986) Neurobrucellosis. Postgrad Med J. 62: 1077-1079.
16. Schreckenberger P, von Graevenitz A (2003) *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Methylobacterium* and other non-fermentative gram negative rods. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (ed.) Manual of Clinical Microbiology, ASM Press, Washington DC, 8th ed., p. 585-608.
17. Solomon H, Jackson D (1992) Rapid diagnosis of *Brucella melitensis* in blood; some operational characteristics of the Bact-Alert. J. Clin. Microbiol. 28: 2139-2141.
18. Sumerkan B, Gokahmetoglu S, Esel D (2001) *Brucella* detection in blood: comparison of the Bact-Alert standard aerobic bottle, Bact-Alert FAN aerobic bottle and Bact-Alert enhanced FAN aerobic bottle in simulated blood culture. Clin. Microbiol. Infect. (France). 7: 369-372.
19. Thapar M, Young E (1986) Urban outbreak of goat cheese brucellosis. Pediatr. Infect. Dis. 5: 640-643.
20. Ying W, Nguyen M, Jahre J (1999) *Brucella canis* endocarditis: case report. Clin. Infect. Dis. 29:1593-1594.
21. Young E (1995) An overview of human brucellosis. Clin. Infect. Dis. 21: 283-290.
22. Zimmerman S, Gillikin S, Sofat N (1990) Case report and seeded blood culture study of *Brucella* bacteremia. J. Clin. Microbiol. 28: 2139-2141.