

## Endocarditis por *Brucella canis*: primer caso documentado en un paciente adulto en Argentina

VALERIA MANIAS<sup>\*1,3</sup>, ALICIA NAGEL<sup>1,3</sup>, ANALÍA MOLLERACH<sup>1,3</sup>, MARÍA A. MENDOSA<sup>2,3</sup>, HUGO FREYRE<sup>4</sup>, ABEL GÓMEZ<sup>4</sup>, ELISA FERRARA<sup>5</sup>, CARLOS VAY<sup>6</sup>, EMILCE DE LOS A. MÉNDEZ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Especialización en Bacteriología Clínica y <sup>2</sup>Cátedra de Bacteriología Clínica - Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas - Universidad Nacional del Litoral; <sup>3</sup>Sección Microbiología, Laboratorio Central y <sup>4</sup>Sección Infectología del Hospital José María Cullen- Avda. Freyre 2150 (3000) Santa Fe; <sup>5</sup>Laboratorio Central de la Provincia de Santa Fe; <sup>6</sup>Servicio de Bacteriología Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

\*Correspondencia. E-mail: valeriamanias@yahoo.com.ar

### RESUMEN

Se describe el primer caso documentado de endocarditis por *Brucella canis* en Argentina. El paciente fue un varón adulto que consultó por edemas en miembros inferiores, registros febriles aislados de 2 meses de evolución y dolor precordial opresivo que irradiaba a brazo izquierdo. Negaba contacto con animales de cría o consumo de productos sin pasteurización. Estudios cardiológicos constataron endocarditis infecciosa. Se resuelve cirugía de recambio valvular ante fracaso terapéutico empírico con cefalotina, ampicilina y gentamicina. Los hemocultivos fueron positivos (4 de 4 muestras) con bacilos gram negativos. Se realizó la identificación con técnica API 20 NE (bioMérieux), el método automatizado Phoenix (BD) y las pruebas bioquímicas convencionales, sin concluir género ni especie. Se derivó la cepa al departamento de Bacteriología Especial INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" donde se identificó al aislamiento como *Brucella canis*. Se rotó el esquema terapéutico a doxiciclina, rifampicina y trimetoprima-sulfametoxazol con buena evolución. La importancia del caso radica en la posible falla del tratamiento antimicrobiano empírico administrado para endocarditis, ya que *B. canis* no responde a los antimicrobianos convencionales para esta patología.

**Palabras clave:** endocarditis, *Brucella canis*, paciente adulto

### ABSTRACT

***Brucella canis* endocarditis: first documented case in Argentina.** We herein present the case of an adult male patient who consulted for lower extremity edema, a 2- month history of fever and oppressive chest pain radiating to the left arm. He referred neither contact with breeding animals nor consumption of unpasteurized dairy products. A diagnosis of endocarditis was confirmed by cardiac studies. Since the empirical treatment with cephalotin, ampicillin and gentamicin failed, the patient underwent aortic valve replacement. A total of four blood cultures were positive with a gram-negative rod. Bacterial identification was performed using the API 20 NE technique (bioMérieux), the Phoenix automated method (BD) and conventional biochemical tests which were unable to classify the isolate as to genus and species. The strain was sent to the INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" where it was identified as *Brucella canis*. The antimicrobial treatment was switched to doxycycline, rifampicin and trimethoprim-sulfamethoxazole with good evolution of the patient. The clinical significance of this case report lies in the possible failure of the empiric antibiotic therapy administered for endocarditis, since *B. canis* did not respond to the conventional antimicrobial treatment for this pathology.

**Key words:** endocarditis, *Brucella canis*, adult patient

La brucelosis es una zoonosis común en animales domésticos y salvajes. También conocida en humanos como fiebre de Malta, fiebre ondulante o fiebre del Mediterráneo, puede enmascarar otras enfermedades no infecciosas siendo su diagnóstico un desafío para el equipo de salud (1).

En los últimos tiempos, el interés por el microorganismo que causa esta afección ha crecido debido a su inclusión entre los agentes del bioterrorismo (9).

El género *Brucella*, junto con *Ochrobactrum*, *Mycoplana* y otros, pertenecen a la familia

*Brucellaceae*, filogenéticamente relacionada con organismos de vida libre del suelo. Esta familia, a su vez, pertenece al orden *Rhizobiales* que incluye otros géneros que afectan al humano, tales como *Bartonella*, *Afipia*, *Methylobacterium* y *Roseomonas* (2). En el género *Brucella* se reconocen seis especies terrestres, taxonómicamente aceptadas a nivel internacional: *Brucella melitensis* (ovejas, cabras, camellos); *Brucella abortus* (bovinos, bisontes, búfalos); *Brucella suis* (cerdos y animales salvajes); *Brucella canis* (perros); *Brucella ovis* (carneros) y *Brucella neotomae* (ratas). Se han recuperado, además, otras especies de mamíferos marinos, fenotípicamente distintas a las anteriores.

La brucelosis bovina es la más ampliamente distribuida; en seres humanos, *B. melitensis* (que afecta al ganado ovino) es la más importante desde el punto de vista clínico (11).

El hombre es huésped accidental y se contagia por el consumo de alimentos, básicamente leche o sus derivados, no pasteurizados. Otra forma de contaminación es el contacto directo con animales infectados o con sus secreciones sobre heridas, conjuntiva, vía oral o por inhalación. La brucelosis es un riesgo ocupacional para ganaderos, veterinarios, trabajadores de mataderos y personal de laboratorio. La transmisión entre humanos es infrecuente (14). A pesar que *Brucella* puede eliminarse por pasteurización, luz ultravioleta, acidez o utilizando algunos antisépticos y desinfectantes, esta bacteria puede sobrevivir bajo distintas condiciones por largo tiempo; por ejemplo, diez semanas en los suelos, once semanas en fetos abortados, diecisiete semanas en heces bovinas, tres semanas en la leche y crema y varios meses en queso fresco (1). Los síntomas más característicos, aunque inespecíficos, son fiebre, pérdida de peso, escalofríos, sudores, cefaleas, anorexia, fatiga, astenia, mialgias y artralgias. Aunque a veces la enfermedad puede cursar en forma subclínica, los síntomas se presentan generalmente a las 2-3 semanas posteriores a la infección, pero en algunos casos, pueden aparecer más tarde (5).

*Brucella canis* se identificó por primera vez en 1968, es un bacilo gram negativo aeróbico intracelular con morfología de colonia rugosa cuando crece en los medios artificiales. Se aisló a partir de perros criados en residencias caninas, y es éste el principal reservorio en condiciones naturales (3).

La brucelosis es de difusión mundial y en América Latina, los países con mayor prevalencia son Argentina, México y Perú (5). Se desconoce la frecuencia real de brucelosis humanas atribuibles a *B. canis*, a pesar que el CDC la considera como una infección de denuncia obligatoria (6).

La gran mayoría de los datos bibliográficos acerca

de brucelosis humana causada por *B. canis* consiste en el informe de casos individuales o de pequeños grupos familiares (6). No se han encontrado registros en nuestro país de casos de endocarditis humana por *B. canis*.

*B. canis* se transmite entre los caninos por contacto de las mucosas con material infectado tales como flujo vaginal, semen, otros fluidos y tejidos asociados con abortos, que contienen gran concentración de bacterias. Otros materiales que contienen estos microorganismos son la orina, la sangre, la leche, la saliva y las heces (13).

La infección ha sido documentada en humanos en contacto cercano con perros infectados y en trabajadores de laboratorio que manipulan aislamientos vivos de esta bacteria (6).

Contrariamente a lo que ocurre con otras especies de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*), que crecen con aspecto de colonias lisas, *B. canis* forma colonias rugosas (mucoideas). Las pruebas serológicas que utilizan *Brucella* en fase lisa no son útiles para detectar *B. canis*. Los ensayos serológicos que dan resultados negativos para *B. canis* y que dificultan el diagnóstico son los siguientes: aglutinación en placa (Huddleson) y en tubo (Wright), rosa de Bengala (RB) y fijación del complemento. Cuando el test de aglutinación rápida en portaobjetos [*Rapid slide agglutination test* (RSAT)] da positivo, se debe confirmar con una prueba complementaria como el ELISA indirecto (iELISA), que utiliza una proteína recombinante como conjugado, aumentando así la especificidad (7).

Los ensayos serológicos para la medicina veterinaria disponen de antígenos de especies de *B. canis* o *B. ovis* en fase rugosa. Tales métodos raramente se aplican a medicina humana por no considerarse, por lo general, a *B. canis* en el diagnóstico diferencial. La mayoría de estos ensayos son pruebas de aglutinación directa rápida, pero pueden dar frecuentemente falsos positivos. Debido a que las suspensiones de *B. canis* salvaje tienden a aglutinar aun en ausencia de anticuerpos específicos, se recomienda para los ensayos serológicos una mutante menos mucosa (denominada M-) que no produce autoaglutinación. El RSAT con suero canino tiene alta sensibilidad y baja especificidad, pero puede ser usado como método de tamizaje para descartar la infección (12).

El objetivo de esta presentación es describir el primer caso documentado de endocarditis humana por *B. canis* en Argentina.

Caso clínico. Varón de 38 años de ocupación pintor, residía en la localidad de Alto Verde de la Provincia de Santa Fe. Ingresó el 31/08/11 al Servicio de Guardia del Hospital José M. Cullen por mostrar signos de disnea, ortopnea, edemas en miembros

inferiores, además de registros febriles aislados de 2 meses de evolución. Relató también la presencia de un soplo cardíaco desde hacía 3 años sin estudio, enfermedad periodontal, caries dentales y otros antecedentes sin relevancia para el caso. Negaba contacto con animales de cría o consumo de productos sin pasteurización.

Dos semanas antes de la consulta presentó tos con expectoración purulenta, que cedió espontáneamente. Dos horas antes de la consulta presentó dolor precordial, opresivo, intensidad 8/10, con irradiación a brazo izquierdo.

Evaluable por el Servicio de Clínica Médica se constató, mediante estudio de ecocardiograma transtorácico, la presencia de dilatación de la aurícula izquierda, dos imágenes ecodensas sobre cara ventricular de la válvula aórtica bicúspide, compatibles con vegetaciones de 28,4 mm x 9 mm y de 24 mm x 6 mm cada una, insuficiencia valvular aórtica grave, ventrículo izquierdo dilatado, hiperdinámico, con signos de sobrecarga de volumen, función sistólica conservada y leve derrame pericárdico, todos signos compatibles con endocarditis infecciosa (EI) definitiva según los criterios de Duke (4).

Se indicaron, además, radiografía de tórax, electrocardiograma, ecografía abdominorrenal y análisis de laboratorio. Estos últimos presentaron los siguientes valores: leucocitos  $4,9 \times 10^9/l$ , hemoglobina 1,53 mmol/l, hematocrito 30 %, plaquetas  $130 \times 10^9/l$ , glucemia 7,86 mmol/l, uremia 5,51 mmol/l, creatinemia  $78 \mu\text{mol/l}$  y coagulograma levemente prolongado. Los ELISA para los virus de la inmunodeficiencia humana, hepatitis B y C fueron negativos.

Luego de extraídas cuatro muestras de sangre para cultivo, tomadas de a pares en diferentes días, el paciente comenzó con tratamiento antimicrobiano empírico endovenoso de cefalotina 2 g cada 4 h, ampicilina 2 g cada 4 h y gentamicina 80 mg cada 8 h.

Por insuficiencia cardíaca refractaria al tratamiento luego de 48 horas y por los resultados del ecocardiograma, se resuelve la cirugía de recambio valvular y se envían muestras de la válvula extraída para anatomía patológica y cultivo. Los hallazgos histopatológicos fueron compatibles con endocarditis, pero en el cultivo de la válvula no se pudo recuperar el agente etiológico.

Los hemocultivos (4/4) Bactec 9120 (Becton Dickinson and Co., Maryland, EE.UU.) fueron positivos a las 48 horas. Se subcultivaron en agar con sangre de carnero al 5 % y agar chocolate enriquecido y se incubaron a 35 °C en atmósfera al 5-10 % de  $\text{CO}_2$ . A las 48 h de incubación desarrollaron colonias de coccobacilos gram negativos en ambos medios. Para la identificación del microorganismo se utilizó

el sistema API 20 NE (bioMérieux, Marcy, l'Etoile, Francia) y el método automatizado BD Phoenix™ System (Becton Dickinson and Co.), los que no resultaron satisfactorios por indicar *Psychrobacter phenylpyruvicus* como única opción (98 %).

Las siguientes pruebas bioquímicas manuales mostraron resultados positivos: producción de catalasa y oxidasa, oxidación de glucosa, hidrólisis de urea y reducción de nitratos; mientras que fueron negativas la movilidad, la producción de fenil alanina desaminasa e indol, la hidrólisis de esculina y la fermentación de glucosa. Ante la falta de resultados definitivos en cuanto a género y especie y en vistas de estas pruebas bioquímicas preliminares, se sospechó que podía tratarse de una infección por *Brucella* sp.

El aislamiento y el suero del paciente fueron enviados a centros de referencia. El aislamiento fue identificado en el Servicio de Bacteriología Clínica del Hospital de Clínicas José de San Martín, CABA, Argentina, como *Brucella* sp., y en el laboratorio provincial se realizó el RSAT, dado que las pruebas de tamizaje aglutinación con antígeno tamponado [*Buffered plate antigen* (BPA)] y RB fueron negativas. El RSAT dio positivo y se decidió derivar el aislamiento al Departamento de Bacteriología Especial INE-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", donde se realizó la identificación del aislamiento como *Brucella canis*.

Al conocer el agente etiológico, se cambió el esquema terapéutico a doxiciclina (DOX) 100 mg / 12 h, rifampicina (RIF) 300 mg / 12 h y trimetoprima-sulfametoxazol (TMS) 800/160 cada 8 h durante un período mínimo de tres meses, según las normas de la Guía de la Sociedad Europea de Cardiología del año 2009 (4).

Se otorgó el alta hospitalaria el 18/10/11 con buena evolución clínica.

El paciente volvió a un primer control en diciembre de 2011, donde se realizaron las pruebas serológicas; la aglutinación en placa, en tubo y la fijación del complemento fueron negativas, mientras que el RSAT fue positivo, el ELISA de competición (cELISA) tuvo un resultado de 10 y el iELISA de 100. El segundo control realizado en mayo de 2012 presentó idénticos resultados, pero el cELISA había aumentado a 25 (valores de referencia: cELISA: positivo > 28; iELISA: positivo > 27). El paciente continúa en evaluación.

Para los casos de endocarditis por *B. canis* se recomienda la administración de la triple combinación DOX, RIF y TMS; puede añadirse también un aminoglucósido para optimizar la actividad bactericida durante el primer mes. La DOX y la RIF deben administrarse al menos durante 8 semanas (4). Los criterios utilizados para el recambio valvular son los mismos que para las otras

endocarditis infecciosas.

El diagnóstico de laboratorio de *Brucella* spp. es dificultoso. La técnica de referencia sigue siendo el aislamiento del agente, pero la manipulación de esta bacteria es un riesgo y deben tomarse todas las medidas de prevención adecuadas (7).

Los anticuerpos no tienen una correlación específica con la clínica. La mortalidad es baja pero puede alcanzar hasta un 5 %, sobre todo para endocarditis y meningitis. Se considera que *B. canis* es menos virulenta en humanos, en relación con otras especies que afectan al hombre (8).

Además, los resultados de los sistemas de identificación provistos por equipos comerciales o sistemas automatizados deben tomarse con mucha precaución, ya que no poseen perfiles apropiados e identifican erróneamente al microorganismo como *P. phenylpyruvicus* (11).

Ante los resultados obtenidos se realizó una exhaustiva investigación epidemiológica, donde se descubrió que un perro asistía diariamente a comer a la casa del paciente. Se estudiaron, además 26 canes (16 machos y 10 hembras) de las zonas aledañas. A los perros se les extrajo sangre y se les realizó la técnica de RSAT, se obtuvieron 4 muestras positivas, inclusive la del perro que visitaba la casa del paciente.

El diagnóstico de la infección humana por *B. canis* sigue siendo un desafío para la microbiología médica debido a la presentación clínica inespecífica, la difícil recuperación del microorganismo de las válvulas cardíacas y la falta de sospecha de *B. canis* como posible agente etiológico de la brucelosis humana. Esto impacta aún más en este caso de endocarditis por la posible falla del tratamiento médico, ya que *B. canis* no responde a los antimicrobianos convencionales utilizados para dicha infección.

**Agradecimiento:** a la Dra. Nidia Lucero y a los integrantes del Servicio de Brucelosis-

INEI-ANLIS-"Dr. Carlos G. Malbrán" de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires por su desinteresada colaboración en la resolución de este caso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 213-21.
2. Garrity GM, Holt JG. Taxonomic outline of the Archaebacteria and Bacteria. En: Boone DR, Castenholz RC, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2<sup>nd</sup> edition. New York, NY, Springer-Verlag, 2001, p. 155-66.
3. Greene CE, Carmichael LE. Canine brucellosis. En: Greene CE, editor. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3<sup>rd</sup> edition. Philadelphia, WB Saunders Company, 2006, p. 369-81.
4. Habib G, Hoen B, Tornos P, Thuny F, Prendergast B, Vilacosta I, Moreillon P, Antunes MJ, Thilen U, Lekakis J, Lengyel M, Müller L, Naber CK, Nihoyannopoulos P, Moritz A, Zamorano JL. Guía de práctica clínica para prevención, diagnóstico y tratamiento de la endocarditis infecciosa (nueva versión 2009). *Rev Esp Cardiol* 2009; 62: 1465.e1-e54.
5. Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, Jacob NR. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect* 2008; 136: 496-503.
6. Lucero NE, Corazza R, Almuzara MN, Reynes E, Escobar GI, Boeri E, Ayala SM. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiol Infect* 2010; 138: 280-5.
7. Lucero NE, Jacob NO, Ayala SM, Escobar GI, Tuccillo P, Jacques I. Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol* 2005; 54: 505-8.
8. Olivera M, Di-Lorenzo, C. Aislamiento de *Brucella canis* en un humano conviviente con caninos infectados. Informe de un caso. *Colomb Med* 2009; 40: 218-20.
9. Petersen JM, Schriefer ME, Araj GF. *Francisella* and *Brucella*. En: Versalovic J, Carroll KC, Funke G, Jorgensen JH, Landry ML, Warnock DW, editors. *Manual of Clinical Microbiology*, 10<sup>th</sup> edition. Washington DC, ASM Press, 2011, p. 751-69.
10. Rumley RL, Chapman SW. *Brucella canis*: an infectious cause of prolonged fever of undetermined origin. *South Med J* 1986; 79: 626-8.
11. Soloaga R, Salinas A, Potallo M, Margari A, Suar B, Lucero N, Turco M, Procopio A, Almuzara M. Bacteriemia por *Brucella canis*. Aislamiento con el Sistema Bact-Alert. *Rev Argent Microbiol* 2004; 36: 81-4.
12. Wallach JC, Giambartolomei GH, Baldi PC, Fossati CA. Human infection with M- strain of *Brucella canis*. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 146-8.
13. Wanke MM. Canine brucellosis. *Animal Reprod Sci* 2004; 82: 195-207.
14. Young EJ. Human brucellosis. *Rev Infect Dis* 1983; 5: 321-42.