RPDI
Maio > Agosto 2013 / Vol. 9 > N.º 2

CASO CLÍNICO / *CLINICAL CASE*

Leuconostoc e infeções vancomicino-resistentes

Leuconostoc and vancomycin-resistant infections

/ M. Margatho[1] / C. Faria[1] / H. Jorge[2] / H. Oliveira[2] / G. Rocha[1]

[1] Departamento Pediátrico- Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. EPE
[2] Serviço de Patologia Clínica– Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. EPE

Correspondência:
Maristela Margatho
Hospital Pediátrico de Coimbra - Avenida Afonso Romão, Santo António dos Olivais
3000-602 COIMBRA
Telemóvel: 239 488 700
e-mail: margatho1979@gmail.com

Artigo recebido em
2013-1-16

Artigo aceite para publicação em
2013-1-30

/ Resumo

As espécies *Leuconostoc* são lactobacilos *Gram*-positivos catalase-negativos resistentes à vancomicina e geralmente sensíveis às penicilinas, hoje reconhecidos como patogénios oportunistas emergentes. As infeções causadas por estes microrganismos são raras e na grande maioria surgem no contexto de imunodeficiência ou doença crónica grave subjacente. A patologia gastrointestinal com perda de integridade da mucosa e o recurso à nutrição entérica e parentérica parecem predispor estes indivíduos ao aparecimento de bacteriémias por *Leuconostoc*.

Os autores descrevem os casos clínicos de duas crianças imunodeprimidas, sob nutrição parenteral, internadas por febre persistente e refratária ao regime antibiótico que incluía um glicopeptídeo. Nas hemoculturas foram isolados cocobacilos *Gram*-positivos resistentes à vancomicina, identificados como *Leuconostoc* spp. Após a substituição da antibioterapia por β-lactâmico (e da remoção do cateter venoso central num dos doentes), verificou-se resolução do quadro infecioso.

Pretende-se desta forma alertar para a importância de se considerar a infeção por *Leuconostoc* sempre que bactérias *Gram*-positivas resistentes à vancomicina sejam identificadas em culturas de doentes com fatores de risco.

Palavras-chave: *Leuconostoc*, imunodepressão, vancomicino-resistência

/ *Abstract*

Leuconostoc species are catalase-negative Gram-positive lactobacillus resistant to vancomycin and generally susceptible to penicillin, which are now recognized as emerging opportunistic pathogens. Infections due to these microorganisms are rare and mostly seen in children with immunodeficiency disorders and chronic underlying conditions. Disrupted integrity of the gastrointestinal mucosa and enteral and parenteral nutrition are thought to predispose to Leuconostoc bacteraemia in susceptible patients.

We describe the cases of two immunocompromised children under parenteral

nutrition with unexplained persistent fever despite an antimicrobial regimen that included a glycopeptide.
Vancomycin-resistant Gram-positive coccobacillary bacteria were isolated from blood cultures and identified as Leuconostoc spp.
Bacteraemia resolved in both patients following a course of i.v β-lactam antibiotic and after the central venous catheter was removed in one patient.
This report highlights the importance to consider Leuconostoc infections when vancomycin-resistant Gram-positive are identified in cultures of patients at risk.

Keywords: *Leuconostoc, immunodeficiency, vancomycin-resistant*

/ Introdução

As espécies *Leuconostoc* são cocobacilos *Gram*-positivos catalase-negativos da família dos *Leuconostocaceae*. São bactérias ubíquas, presentes no solo, vegetais, leite e produtos lácteos e usadas na indústria alimentar e vinícola pelas suas propriedades fermentadoras. Colonizam o trato gastrointestinal e a pele humana e estão também presentes nalguns fluidos biológicos[1-3].

As infeções causadas por *Leuconostoc* são raras e associam-se quase sempre a estados de imunodepressão, prematuridade, doença grave subjacente, patologia gastrointestinal com alterações na integridade da barreira mucosa, alimentação entérica e parentérica e colonização de cateteres e próteses (biofilme). São portanto infeções habitualmente hospitalares e que surgem após ou no decurso de ciclos de antibioterapia[4-8]. Clinicamente, na maioria dos casos manifestam-se por bacteriémias, podendo também causar infeções do sistema nervoso central, osteomielites e infeções urinárias[9-13].

Os *Leuconostoc* têm características fenotípicas muito semelhantes a outros *Gram*-positivos, tais como *Streptococcus* e *Enterococcus*, o que no passado dificultava a sua identificação microbiológica[14]. No entanto, têm um perfil de suscetibilidade antibiótica particular, caracterizado pela resistência intrínseca aos glicopeptídeos, vancomicina e teicoplanina, o que não é comum entre *Gram*-positivos, salvo em situações de resistências adquiridas[15-17].

A descrição dos casos a seguir apresentados pretende alertar para o facto do uso generalizado de antibióticos de largo espetro fazer emergir, não só espécies resistentes, como também gérmenes menos comuns e habitualmente não patogénicos.

/ Caso clínico 1

Criança do sexo masculino, de 14 meses de idade, raça caucasiana, com infeção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), sem terapêutica antirretroviral, internada para esclarecimento etiológico de síndrome febril intermitente com 12 dias de evolução, sem sinais de focalização, associado a crises de suboclusão intestinal.

Como antecedentes, havia a referir uma cirurgia intestinal no período neonatal por malrotação e volvo intestinais, da qual resultou síndrome do intestino curto e necessidade de Nutrição Parentérica (NP) parcial. Contava já com múltiplos internamentos, a grande maioria motivados por intercorrências infeciosas, sendo que o último ocorrera três semanas antes, em contexto de sépsis a *Streptococcus hominis*.

À admissão, apresentava neutropenia (810/mm3) e linfopenia (215/mm3), proteína C reativa (PCR) 4,5 mg/dl e VS 44 mm/1ªh. Restantes parâmetros bioquímicos sem alterações. A carga viral VIH era de 15.738 cópias e a contagem de linfócitos T CD4 1.383/mm3 (52%), com CD4/CD8 de 1,68. Foram realizados: Hemocultura (HC) colhida de cateter venoso central (CVC), com pesquisa de aeróbios e fungos, urocultura, coprocultura, prova de *Mantoux* e pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* no suco gástrico, radiografia do tórax e ecocardiograma.

Foi instituída antibioterapia empírica com teicoplanina (dose de carga com 10mg/Kg/dia e.v. 12/12h nas primeiras 3 doses, depois cada 24h), ceftazidima (50mg/Kg/dia e.v. 8/8h) e descontaminação intestinal com metronidazol (10mg/Kg/dose 8/8h p.o. 3 dias).

Toda a investigação foi negativa, exceto a HC colhida do CVC (meio BACTEC™ *Peds Plus*™/F *culture vials*), em D1 de internamento. Ao exame direto foram observados cocos *Gram*-positivos, seguidamente repicados para cultura em gelose Columbia com sangue, em aerobiose. A identificação e respetivo antibiograma foram feitos através do método semi-automático ATB™, galerias ID 32 STREP e ATB™ STREP 5 *BioMérieux*. A bactéria foi identificada como pertencente ao género *Leuconostoc* com resistência à vancomicina e cefotaxime e sensibilidade, entre outros antibióticos, à penicilina G. A resistência à vancomicina foi confirmada em paralelo através do método *Kirby-Bauer* (método semi-quantitativo de difusão). O agente foi interpretado como provável contaminante e o doente manteve a terapêutica inicial. A partir de D8, constatou-se apirexia e melhoria clínica gradual, suspendendo-se a antibioterapia em D15.

Em D16, por reinício de febre, repetiu investigação analítica, da qual se destacou a HC de sangue periférico positiva para *Leuconostoc* spp. (D18) e, face ao padrão de sensibilidades, optou-se por iniciar tratamento com cotrimoxazol (75mg/Kg/dia e.v. 6/6h). Em D22, pela persistência da febre e dos episódios de pseudo-oclusão intestinal, foi realizada outra HC de CVC, que veio novamente a isolar o mesmo gérmen. Nesta altura, substituiu-se o cotrimoxazol por penicilina G (50.000 UI/Kg/dia e.v. 6/6h).

Cerca de 10 dias depois, ainda sob antibioterapia, houve um reagravamento do estado geral, associado a febre persistente, repetindo-se HC de CVC (D33), que novamente identificou *Leuconostoc* spp. Este facto motivou a substituição do CVC, observando-se melhoria clínica e resolução do quadro febril nas 48 h seguintes. A penicilina foi mantida até perfazer 14 dias de tratamento, tendo tido alta sem novas intercorrências.

/ Caso clínico 2

Criança do sexo masculino, de 10 anos de idade, raça caucasiana, com imunodeficiência comum variável e história de pneumonias de repetição. Fazia profilaxia com imunoglobulina (ciclos cada 21 dias), azitromicina e metronidazol.

Mantinha-se hospitalizado desde há um mês, na sequência de pneumonia a Pneumococo multirresistente e quadro de desnutrição grave, que motivara suporte nutricional parcial com NP. Nos 10 dias anteriores começara a registar temperaturas febris e subfebris, sem queixas associadas. Ao exame objetivo, apresentava sinais de desnutrição, sem evidência de qualquer foco infecioso.

A investigação inicial mostrou 10.150 leucócitos/mm3, 9.845 neutrófilos/mm3, linfopenia (203/mm3), trombocitose (633.000/mm3) e PCR 7,6 mg/dl. Foram realizados: HC de sangue periférico e de CVC, com pesquisa de aeróbios e fungos, urocultura, pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis* na expetoração, radiografia do tórax e ecocardiograma.

Iniciou-se antibioterapia empírica com vancomicina (60mg/Kg/dia e.v. 6/6h), ceftazidima (50mg/Kg/dia e.v. 8/8h) e fluconazol (6mg/Kg/dia e.v. 12/12h).

Na HC de sangue periférico de D1 de internamento foi identificado *Staphylococcus aureus* meticilino-sensível.

Houve melhoria clínica nas 48h seguintes à admissão, mas em D3 o doente reiniciou febre. Foi repetida HC de CVC (negativa) e de sangue periférico, que veio a isolar *Leuconostoc* spp. O estudo molecular confirmou tratar-se da espécie *Leuconostoc* mesenteroides. A antibioterapia foi substituída por ampicilina (100mg/Kg/dia e.v. 6/6h), com resolução da febre 24h depois e HC subsequentes negativas. Cumpriu terapêutica com este antibiótico durante duas semanas, tendo alta clinicamente bem.

/ Discussão

Ambos os casos representam bacteriémias a *Leuconostoc* spp. e os autores colocam duas hipóteses principais sobre a sua origem. Uma delas é ter tido origem na alimentação parentérica administrada, acontecimento já documentado por *Bou et al.*[18] que descreveu dois surtos de infeções nosocomiais por *Leuconostoc* causados por contaminação da nutrição parentérica. A outra hipótese é ter ocorrido translocação bacteriana a nível intestinal, facilitada pela imunodepressão (ambas as crianças), pelos episódios pseudoclusivos (doente 1) e pelas alterações na barreira mucosa intestinal inerentes à malnutrição (doente 2). Também a corroborar esta teoria, alguns estudos identificaram *Leuconostoc* spp. na alimentação entérica (leites de fórmula) administrados a recém-nascidos e a crianças com patologia intestinal que vieram a desenvolver quadros infeciosos semelhantes[19,20].

A contaminação do CVC aquando da sua inserção também é uma porta de entrada possível e que não pode ser excluída, dado que os *Leuconostoc* colonizam a pele. Mas estes doentes já eram portadores do CVC há vários meses, sem aparentar clínica infeciosa. A persistência da febre, no doente 1, deveu-se à focalização da infeção no CVC, comprovada pela melhoria clínica após a sua remoção.

Salienta-se mais uma vez que os denominadores comuns nestas infeções são os estados de imunodepressão, onde se incluem prematuros e todas as doenças debilitantes subjacentes, e patologias gastrointestinais, como a síndrome do intestino curto, algumas malformações congénitas (*gastrosquisis*), estados pós-cirúrgicos gastrointestinais[21-23]. Existem alguns relatos em doentes saudáveis, mas são casos episódicos[24,25].

Importa ainda referir que o uso generalizado de glicopeptídicos, vancomicina e teicoplanina, em ambiente hospitalar, pode induzir a emergência de bactérias *Gram*-positivas vancomicino-resistentes (*Enterococcus* e *Staphylococcus*), bem como o ressurgimento de outras espécies com resistência intrínseca a estes antibióticos (*Leuconostoc*, *Enterococcus, Pediococcus* e *Lactobacillus*)[26].

Pela raridade da infeção, o diagnóstico nem sempre é fácil e a bactéria é muitas vezes interpretada como contaminante, como aconteceu no primeiro doente, motivando o atraso na introdução do antibiótico adequado, ou mesmo confundida com outros *Gram*-positivos multirresistentes.

O primeiro caso descrito ocorreu há cerca de 7 anos, não tendo sido feito estudo molecular, ao contrário do segundo doente, onde se identificou a espécie *Leuconostoc* mesenteróides subsp. mesenteróides, uma das mais frequentemente associadas a infeções no homem.

Em nenhum dos casos foi feita a pesquisa da bactéria nas bolsas de nutrição parentérica, que, presentemente, já é uma realidade nalguns hospitais[18].

Uma outra falha, mas inerente às correntes práticas em Pediatria, é não ser feita por sistema mais do que uma colheita para hemocultura. Isto justifica-se, não só pelo facto da dificuldade na colheita de sangue periférico em crianças pequenas, cujos acessos venosos são difíceis de obter, como pela iatrogenia inerente às múltiplas colheitas séricas a que estes doentes são sujeitos. O tratamento da infeção passa pela remoção do foco infecioso e pela instituição de antibioterapia. A penicilina G e ampicilina são os antibióticos de primeira escolha, podendo ser administrados em associação a aminoglicosídeos (gentamicina), durante 10 a 14 dias.

Em conclusão, é fundamental suspeitar da existência de espécies como os *Leuconostoc* sempre que surjam *Gram*-positivos vancomicino-resistentes nas culturas de doentes com fatores de risco. A falha da antibioterapia de largo espetro nem sempre é explicada por gérmenes multirresistentes e o recurso a estes antibióticos deve ser criterioso e articulado com os laboratórios de Microbiologia.

/ Bibliografia

1. Green M, Wadowsky RM, Barbadora K. "Recovery of vancomycin-resistant gram-positive cocci from children." *J Clin Microbiol* 1990;28:484-8.

2. Carr FJ, Chill D, Maida N. "The lactic acid bacteria: a literature survey." *Crit Rev Microbiol* 2002;28(4):281-370.

3. Lukjancenko O, Ussery DW, Wassenaar TM. "Comparative genomics of Bifidobacterium, Lactobacillus and related probiotic genera." *Microb Ecol* 2012 ;63(3):651-73.

4. Sonia I, Cuervo M, Jorge CL, Elizabeth RR, Natan HA, Erwing VS. "*Leuconostoc* sp in cancer patients: a descriptive study." *Rev Chil Infect* 2008 ;25(3):184-8.

5. Janow G, Lambert B, Scheiner M, Rosen O, Goldman DL, Soghier L. "*Leuconostoc* septicemia in a preterm neonate on vancomycin therapy: case report and literature review." *Am J Perinatol* 2009 ;26(1):89-91.

6. Yossuck P, Miller-Canfield P, Moffett K, Graeber J. "*Leuconostoc* spp sepsis in an extremely low birth weight infant: a case report and review of the literature." *The West Virginia Med J* 2009 ;105(5):24-7.

7. Ballesteros SMA, Alegría-Puig CR, Fernández-Mazarrasa C, Gutiérrez-Cuadra M. "Bacteremia and sepsis due to *Leuconostoc* mesenteroides." *Med Clin* (Barc) 2010;134(2):87-8.

8. Handwerger S, Horowitz H, Coburn K, Kolokathis A, Wormser GP. "Infection due to *Leuconostoc* species: six cases and review." *Rev Infect Dis* 1990; 12(4):602-10.

9. Friedland I, Snipelisky M, Manikant K. "Meningitis in a neonate caused by *Leuconostoc* sp." *J Clin Microbiol* 1990;29:2125-6.

10. Gillespie RS, Symons JM, McDonald RA. "Peritonitis due to *Leuconostoc* species in a child receiving peritoneal dialysis." *Pediatr Nephrol* 2002;17(11):966-8.

11. Cappelli EA, Barros RR, Camello TCF, Teixeira L, Merquior V. "*Leuconostoc* pseudomesenteroides as a Cause of Nosocomial Urinary Tract Infections." *J Clin Microbiol* 1999 ;37(12):4124-6.

12. Zaoui A, Brousse C, Bletry O, Augouard LW, Boisaubert B. "*Leuconostoc* osteomyelitis." *Joint Bone Spine* 2005;72:79-81.

13. Deye G, Lewis J, Patterson J, Jorgensen J. "A case of *Leuconostoc* ventriculitis with resistance to carbapenem antibiotics." *Clin Infect Dis* 2003 ;37:869-70.

14. Buu-Hoi A, Branger C, Acar JF. "Vancomycin-Resistant Streptococci or *Leuconostoc* sp." *Antimicrob Agents Chemother* 1985 ;28(3):458-60.

15. Romero B, Morosini MI, Loza E, Rodríguez-Baños M, Navas E, Cantón R, Campo RD. "Reidentification of Streptococcus bovis isolates causing bacteremia according to the new taxonomy criteria: still an issue?." *J Clin Microbiol* 2011 ;49(9):3228-33.

16. Isenberg HD, Vellozzi EM, Shapiro J, Rubin LG. "Clinical Laboratory Challenges in the Recognition of *Leuconostoc* spp." *J Clin Microbiol* 1988 ;26(3):479-83.

17. Jorgensen JH, Hindler JF. "New consensus guidelines from the Clinical and Laboratory Standards Institute for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated fastidious bacteria." *Clin Infect Dis* 2007 ;44:280-7.

18. Bou G, Saleta JL, Nieto JAS, Tomás M, Valdezate S, Sousa D. "Nosocomial outbreaks caused by *Leuconostoc* mesenteroides subsp. mesenteroides." *Emerg Infect Dis* 2008;14(6):968-71.

19. Carapetis J, Bishop S, Davis J, Bell B, Hogg G. "*Leuconostoc* sepsis in association with continuous enteral feeding: two case reports and a review." *Pediatr Infect Dis J* 1994;13:816-23.

20. Jofré L, Sakurada A, Ulloa T, Hormazábal JC, Godoy V, Fernández J. et al. "Infección por *Leuconostoc* en pacientes con síndrome de intestino corto, nutrición parenteral y alimentación enteral continua." *Rev Chil Infect* 2006 ;23:340-5.

21. Dhodapkar KM, Henry NK. "*Leuconostoc* bacteremia in an infant with short-gut syndrome: case report and literature review." *Mayo Clin Proc* 1996 ;71:1171-4.

22. Goenaga SMA, Alberdi F, Carrera JA, Millet SM, Garde OC. "*Leuconostoc* spp bacteremia in a patient with intestinal pseudoobstruction." *An Med Interna* 2003 ;20(1):53-4.

23. Florescu D, Hill L, Sudan D, Iwen PC. "*Leuconostoc* bacteremia in pediatric patients with short bowel syndrome: Case series and review." *Pediatr Infect Dis J* 2008 ;27:1013-9.

24. Casanova-Román M, Rios J, Sánchez-Porto A, Gomar JL, Casanova-Bellido M. "*Leuconostoc* bacteremia in a healthy infant." *Minerva Pediatrica* 2003 ;55(1):83-6.

25. Martínez-Pajares JD, Díaz-Morales O, Acosta-González F, Ramos-Díaz JC. "Sepsis by *Leuconostoc* spp. in a healthy infant." *Arch Argent Pediatr* 2012 ;110(2):32-4.

26. Swenson JM, Facklam RR, Thornsberry C. "Antimicrobial Susceptibility of Vancomycin-Resistant *Leuconostoc*, Pediococcus, and Lactobacillus Species." *Antimicrob Agents Chemother* 1990 ;34(4):543-9.