



INFORME BREVE

***Actinomyces europaeus* (*Gleimia europaea*) asociado con absceso cerebral: comunicación de tres casos**

Carla Álvarez^{a,b,*}, Marisa Almuzara^{a,b}, Claudia Tosello^c, Daniel Stecher^c, Carlos Vay^{a,b} y Claudia Barberis^{a,b}

^a Cátedra de Microbiología Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^b Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^c División Infectología, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 29 de enero de 2022; aceptado el 4 de julio de 2022

Disponible en Internet el 13 de enero de 2023

PALABRAS CLAVE

Absceso cerebral;
Actinomyces europaeus;
Gleimia europaea;
Otitis media crónica;
MALDI-TOF MS

KEYWORDS

Brain abscess;
Actinomyces europaeus;
Gleimia europaea;
Chronic otitis media;
MALDI-TOF MS

Resumen El absceso cerebral es una infección focal caracterizada por acumulación de pus en el parénquima cerebral; su diagnóstico es de urgencia debido a la alta mortalidad que acarrea. Presentamos tres casos de pacientes con abscesos cerebrales con foco otogénico de origen poli-microbiano, que presentaron en común el aislamiento de *Actinomyces europaeus*, agente no descrito hasta el momento en esta localización. *A. europaeus* fue identificado por la metodología convencional, por espectrometría de masas por desorción/ionización asistida por matriz (MALDI-TOF MS) y por secuenciación del gen *ARNr 16S*. La sensibilidad antibiótica se evaluó por el método epsilométrico. Todos los aislados presentaron sensibilidad a penicilina, vancomicina y linezolid, mientras que la sensibilidad a clindamicina y eritromicina fue variable. La identificación por MALDI-TOF MS permitió arribar a nivel de especie de forma rápida y confiable y dar una respuesta oportuna y efectiva, evitando el retraso en el tratamiento, lo que suele incrementar la morbilidad del cuadro clínico.

© 2022 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

***Actinomyces europaeus* (*Gleimia europaea*) associated with brain abscess: A report of three cases**

Abstract A brain abscess is a focal infection characterized by a collection of pus in the brain parenchyma. It is a life-threatening condition that should be diagnosed and treated as soon as possible. We report here three cases of patients with otogenic brain abscesses of polymicrobial origin that had in common the isolation of *Actinomyces europaeus*, which has not been previously described in this location. *A. europaeus* was identified by the conventional methodology,

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: carlad.alvarez@yahoo.com.ar (C. Álvarez).

matrix-associated laser deionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) and 16S *rRNA* gene sequencing. Antibiotic susceptibility was evaluated by the epsilometric method, and all isolates showed sensitivity to penicillin, vancomycin and linezolid, whereas susceptibility to clindamycin and erythromycin was variable. MALDI-TOF MS identification allowed a quick and reliable species level identification in order to provide a rapid and effective response to avoid treatment delay that could lead to increased morbidity and even mortality.

© 2022 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

El absceso cerebral es una infección focal caracterizada por acumulación de pus en el parénquima cerebral. Es una entidad clínica de urgencia, que conlleva alta mortalidad. Dicho cuadro suele presentarse en pacientes con factores predisponentes, como la afectación de estructuras anexas al sistema nervioso central. También puede darse por impacto secundario, como consecuencia de infecciones diseminadas con origen hematógeno o pulmonar, traumatismo de cabeza o maniobra posquirúrgica¹⁴. El riesgo se eleva si el paciente es inmunocomprometido. La sintomatología acompañante es variada, la más frecuente es la cefalea, el deterioro del sensorio y la presencia de fiebre¹⁴.

No se encuentran datos en la literatura de incidencia de abscesos cerebrales en nuestro país.

La etiología de la infección es, usualmente, bacteriana, aunque también puede ser causada por otros microorganismos, como protozoos u hongos, según el estado inmunitario del hospedero^{10,13,14}.

En el caso de abscesos cerebrales con foco otogénico, los agentes etiológicos más frecuentes son especies de *Proteus*, *Streptococcus* grupo *anginosus* y *Streptococcus pneumoniae*¹⁰, acompañados por microorganismos anaerobios como *Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp. y *Peptostreptococcus anaerobius*, entre otros¹⁰. Existen pocos casos reportados de abscesos cerebrales por especies de *Actinomyces* y la mayoría corresponden a *Actinomyces meyeri*⁷. El tratamiento de los abscesos suele ser la remoción quirúrgica acompañada de terapia antimicrobiana¹⁰, la cual suele ser de amplio espectro y se establece de manera empírica¹⁴.

En este trabajo presentamos tres casos de pacientes con abscesos cerebrales polimicrobianos con origen otogénico ocurridos entre 2015 y 2016 en el Hospital de Clínicas José de San Martín, que presentaron en común el aislamiento de la especie *Actinomyces europaeus*, no descrita hasta el momento en esta localización, y que fueron tratados con antibióticos betalactámicos, con evolución clínica favorable. Los pacientes brindaron su consentimiento informado para este estudio.

Caso 1

Paciente de sexo masculino de 34 años; concurrió al servicio de Otorrinolaringología con rigidez de nuca, cefalea y alteraciones del sensorio. Como antecedente de relevancia,

presentaba otitis media crónica. Se realizó una audiometría y se comprobó hipoacusia profunda del oído izquierdo.

Se realizó tomografía (TAC) cerebral con contraste de gadolinio, que evidenció una imagen hipodensa en realce periférico frontotemporal izquierda y edema perilesional, por lo cual se derivó a Neurocirugía para una práctica quirúrgica urgente.

Se inició tratamiento empírico con ceftriaxona y clindamicina, sin mejoría clínica, dado que, al tercer día de tratamiento, el paciente presentaba desorientación, falta de respuesta a órdenes simples, parálisis facial periférica, vértigo, náuseas y fiebre.

Se realizó la remoción quirúrgica del absceso y se rotó la terapia antibiótica a vancomicina y meropenem. Como estudios complementarios, se solicitó serología para VIH, hepatitis B y C, toxoplasma, Chagas y sífilis. Se obtuvo resultado positivo para VIH, con recuento de CD4+ de 131 células/mm³. El resto de las serologías arrojaron resultados negativos.

La muestra de absceso se envió al laboratorio de Bacteriología. Los resultados del examen microbiológico se detallan en la [tabla 1](#).

Con los resultados del cultivo, se rotó el tratamiento antibiótico a trimetoprima-sulfametoxazol y luego a ampicilina y metronidazol. Después de 21 días de tratamiento, el paciente fue dado de alta, con evolución clínica favorable.

Caso 2

Paciente de sexo femenino de 17 años; concurrió a la institución con ataxia, ptosis palpebral, midriasis arreactiva derecha, sensorio alternante, fiebre, rigidez de nuca, sin náuseas ni cefalea. Como antecedente relevante, la paciente tenía diagnóstico de otitis media crónica desde los 10 años, con el último episodio un mes antes de la consulta, y con mala evolución clínica ante el tratamiento antibiótico con ampicilina-sulbactam.

Se realizó TAC y se evidenció colapso ventricular con dilatación de atrios temporales y una imagen de 8 mm compatible con absceso cerebral, y edema vasogénico temporal derecho. Debido a la inestabilidad clínica de la paciente, se internó en la Unidad de Cuidados Intensivos, en la que se le realizó drenaje del absceso y se envió para cultivo ([tabla 1](#)).

Tabla 1 Aspectos clínicos y microbiológicos de los aislados de *A. europaeus* (*G. europaea*)

Caso clínico	1	2	3
Edad (años), sexo	34, masculino	17, femenino	27, masculino
Factores predisponentes	OMC, HIV	OMC, OMA	OMC
Tomografía cerebral	Absceso y edema	Absceso y edema	Absceso
Cultivo en aerobiosis	<i>A. europaeus</i>	<i>A. europaeus</i>	<i>A. europaeus</i>
Score de identificación de MALDI-TOF-MS	1,700	2,139	1,792
Secuenciación gen ARNr 16S	<i>A. europaeus</i> NR 114971.1	<i>A. europaeus</i> NR 114971.1	<i>A. europaeus</i> NR 114971.1
Cultivo en anaerobiosis	<i>Prevotella bergensis</i>	<i>Prevotella intermedia</i> <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Slackia exigua</i>
Tratamiento antibiótico	CRO + CLI 500 mg/12 h; 300 mg/8 h; IV MER + VAN 2 g/6 h; 1 g/6 h; IV TMS 800/125 mg /12 h; IV AMP + MTZ 2 g/4h; 500 mg/8 h; IV	FEP + MTZ + VAN 2 g/12 h; 750 mg/6 h; 500 mg/8h; IV CRO + MTZ 2 g/12 h; 500 mg/8h; IV AMC 875/125 mg/12 h; VO	FEP + ornidazol 2 g/12 h; 500 mg/12 h

AMC: amoxicilina + ácido clavulánico; AMP: ampicilina; FEP: cefepime; CRO: ceftriaxona; CLI: clindamicina; IV: administración intravenosa; MER: meropenem; MTZ: metronidazol; OMA: otitis media aguda; OMC: otitis media crónica; TMS: trimetoprima-sulfametoxazol; VAN: vancomicina.

Se instauró como tratamiento empírico cefepime, metronidazol y vancomicina más fenitoína, por presentar dos episodios convulsivos antes de la cirugía.

Luego, con el resultado del cultivo, se rotó el tratamiento a ceftriaxona y metronidazol durante 34 días. Por la evolución favorable, la paciente fue dada de alta con tratamiento oral de amoxicilina-ácido clavulánico durante 14 días.

Caso 3

Paciente de sexo masculino de 27 años; ingresó en la institución por presentar fiebre, otalgia, cefalea y desorientación temporoespacial. Refería antecedentes de otitis media crónica desde la infancia, por lo cual se realizó TAC, en la cual se halló una imagen hipodensa temporal derecha de 2 x 3 cm, con bordes definidos, edema perilesional asociado a colección peridural y burbujas aéreas. Debido al deterioro del paciente, se internó en la Unidad de Cuidados Intensivos, se tomaron hemocultivos y se inició tratamiento empírico con cefepime y ornidazol.

El paciente presentó mala evolución clínica, con deterioro del sensorio y signos de hipertensión endocraneana, por lo que se llevó a cabo una nueva TAC, en la que se evidenció un aumento del edema y desplazamiento de la línea media. Se realizó la extracción quirúrgica del absceso y se envió al laboratorio para cultivo (tabla 1).

Sin cambio en el tratamiento, se mantuvo al paciente en observación durante 7 días. Una TAC de control reveló la persistencia del absceso cerebral, por lo que se realizó una nueva mastoidectomía y drenaje del absceso. El resultado de los hemocultivos fue negativo. Tras una evolución favorable, el paciente fue dado de alta.

En todos los casos, las muestras de abscesos cerebrales enviadas al laboratorio de Bacteriología fueron cultivadas en agar sangre Columbia o agar chocolate, incubadas en atmósfera con 5% de CO₂ a 35 °C durante 48 h, y en agar *Brucella* y agar *Brucella* con vancomicina y amicacina suplementado con sangre al 5%, vitamina K y hemina, en atmósfera anaerobia, en las mismas condiciones de tiempo y temperatura.

La identificación de los microorganismos se realizó por espectrometría de masas MALDI-TOF (BD, Bruker Daltonics, Bremen, Alemania) y por pruebas fenotípicas basadas en el algoritmo propuesto por Funke y von Graevenitz⁶, además de la amplificación y subsecuente secuenciación del gen ARN 16S mediante la plataforma ABIPrism 3100 BioAnalyzer (Macrogen Inc., Corea del Sur), metodología que fue considerada como *gold standard*. Las secuencias obtenidas fueron posteriormente analizadas mediante el programa BLAST 2.0 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Las pruebas bioquímicas empleadas para arribar a especie se realizaron con tabletas DIATABS (ROSCO); estas fueron la hidrólisis de esculina (ESC), urea, hipurato y pirazina-mida; catalasa, fosfatasa alcalina, leucina aminopeptidasa, pirrolidonilarilamidasa, beta-galactosidasa (β-GAL), beta-glucuronidasa (β-GUR), N-beta glucosaminidasa (β-NAG), beta-glucosidasa (β-GLUCO) y alfa galactosidasa (α-GAL); la reducción de nitratos a nitritos, la fermentación de azúcares (glucosa, maltosa, sacarosa, manitol y xilosa) en medio CTA (agar cistina tripticasa) al 1% y la sensibilidad al polianetol-sulfonato de sodio. Se obtuvieron resultados positivos en las pruebas de ESC, leucina aminopeptidasa y fermentación de sacarosa; resultados variables para β-GAL (2/3), β-GLUCO (2/3), α-GAL (2/3), fermentación de glucosa (1/3), maltosa (1/3) y manitol (2/3). Todos los aislamientos fueron negativos para catalasa, urea, nitrato, hipurato, pirazina-mida,

Tabla 2 Sensibilidad antibiótica de los aislados de *A. europaeus* (*G. europaea*)

Antibiótico	CIM (µg/ml) (Interpretación)		
	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Penicilina	0,125 (S)	0,063 (S)	0,25 (S)
Ceftriaxona	0,063 (S)	0,063 (S)	1,0 (S)
Eritromicina	0,032 (S)	0,032 (S)	64 (R)
Clindamicina	0,032 (S)	0,032 (S)	64 (R)
Vancomicina	0,25 (S)	0,25 (S)	0,25 (S)
Linezolid	0,5 (S)	0,125 (S)	0,5 (S)

R: resistente; S: sensible.

pirrolidónilarilamidasa, β-GUR, β-NAG, fosfatasa alcalina, polianetolsulfonato de sodio y fermentación de xilosa. Aunque el resultado de estas pruebas bioquímicas permitió identificar los tres aislados como *A. europaeus*, debemos señalar que la identificación por esta metodología es compleja, ya que se requiere de una extensa batería de pruebas bioquímicas, de un inóculo denso, que es muy difícil de alcanzar debido a que el crecimiento de la colonia es puntiforme, y de una incubación prolongada, de hasta 7 días¹².

De acuerdo a las recomendaciones del fabricante, los resultados obtenidos por espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) fueron confiables a nivel de especie en el caso 2 (*score*: 2,139) y a nivel de género en los casos 1 (*score*: 1,700) y 3 (*score*: 1,792). No obstante, de acuerdo a lo hallado por nuestro grupo en un estudio previo¹, los resultados de identificación obtenidos con *scores* ≥ 1,700 para los bacilos gram positivos del género *Actinomyces* y relacionados son confiables a nivel de especie dada su excelente correlación con la identificación molecular¹. Cabe mencionar, en este sentido, que el análisis de las secuencias obtenidas para los tres aislados estudiados reveló una identidad ≥ 99% con la cepa disponible en GenBank *A. europaeus* NR 114971.1, en concordancia con la identificación obtenida mediante la espectrometría de masas.

En relación con la sensibilidad antibiótica, esta fue evaluada por el método epsilométrico (E-test, Biomérieux, Argentina) en agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre ovina, con incubación en CO₂ durante 48 h. La interpretación de los resultados se realizó tomando como referencia los puntos de corte establecidos por el CLSI M45 para *Corynebacterium* spp.⁵. Los tres aislados presentaron sensibilidad a penicilina, ceftriaxona, vancomicina y linezolid. Los correspondientes a los dos primeros pacientes fueron, además, sensibles a eritromicina y clindamicina, a diferencia del recuperado del tercero, que fue resistente a ambos antibióticos, con CIM de 64 µg/ml (tabla 2).

A. europaeus (actualmente *Gleimia europaea*) es un bacilo gram positivo de aspecto pleomórfico, irregular y corineforme en la tinción de Gram, que conforma gran parte de la microbiota humana^{4,6,8,9}. *A. europaeus* puede localizarse en los genitales externos y pliegues de humanos y de animales de compañía, como perros y gatos⁷. El hallazgo de *Actinomyces* en aislamientos polimicrobianos en ciertas localizaciones, como piel y partes blandas, puede interpretarse como parte de la microbiota habitual; sin embargo, el rol infeccioso de *Actinomyces* spp. en la formación de abscesos de diferente localización ya ha sido señalado en

la literatura^{4,7}. Aunque la infección cerebral asociada a *A. europaeus* no ha sido reportada hasta la fecha, en un estudio previo nosotros demostramos una asociación estadísticamente significativa entre dicha especie bacteriana y el foco cerebral³.

En el presente reporte se describen tres casos clínicos de abscesos cerebrales por *A. europaeus* que comparten el antecedente de otitis media crónica de larga evolución, el aislamiento conjunto con bacterias anaerobias, con su participación en el proceso infeccioso, y el éxito terapéutico dado por la remoción quirúrgica del absceso más la terapia antibiótica instaurada.

Cabe señalar que los casos de actinomycosis cerebral descritos en la literatura están relacionados con especies distintas de *A. europaeus*, como *A. meyeri* y *Actinomyces israelii*¹¹.

No existen puntos de corte establecidos por el CLSI o el EUCAST para evaluar la sensibilidad antibiótica del género *Actinomyces*; sin embargo, en infecciones invasivas o graves, está recomendado ensayar la sensibilidad a través de un método cuantitativo, como el epsilométrico o el de dilución. Aunque los estudios referidos al comportamiento de los distintos antibacterianos sobre *Actinomyces* spp. son muy escasos, en un estudio ya publicado demostramos la excelente actividad de los antibióticos betalactámicos, la vancomicina y el linezolid sobre 84 aislados de este género, mientras que la resistencia a clindamicina fue común en *Actinomyces urogenitalis* y presentó un patrón inusual, dado que no estuvo acompañada de la resistencia a eritromicina. La resistencia a quinolonas también fue común en esta especie².

Queremos destacar que el empleo de la espectrometría de masas MALDI-TOF MS nos permitió arribar a la identificación a nivel de especie en forma rápida y confiable, con una precisión equivalente a la alcanzada mediante el análisis por biología molecular. De esta manera, la metodología de MALDI-TOF MS contribuye a lograr una respuesta rápida y efectiva por parte del equipo de salud y a instaurar precozmente la terapéutica adecuada para cada paciente.

Financiación

El presente trabajo ha sido financiado con fondos del proyecto UBACYT 2018 de la Universidad de Buenos Aires, modalidad I: código 20020170100109BA.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Barberis C, Almuzara M, Join-Lambert O, Ramirez MS, Famiglietti A, Vay C. Comparison of the Bruker MALDI-TOF mass spectrometry system and conventional phenotypic methods for identification of Gram-positive rods. *PLoS One*. 2014;9:e106303.
- Barberis C, Budia M, Palombarani S, Rodriguez CH, Ramirez MS, Arias B, Bonfiglioli L, Famiglietti A, Mollerach M, Almuzara M, Vay C. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Actinomyces* and related genera reveals an unusual clindamycin

- resistance among *Actinomyces urogenitalis* strains. J Glob Anti-microb Resist. 2017;8:115–20.
3. Barberis C, Ledesma M, Alvarez C, Famiglietti Á, Almuzara M, Vay C. Análisis de la diversidad de aislados clínicos de *Actinomyces/Actinotignum* en un hospital universitario. Rev Argent Microbiol. 2021;53:202–9.
4. Clarridge JE. Q. Genotypic Diversity of Clinical *Actinomyces* Species: phenotype, source, and disease correlation among genospecies. J Clin Microbiol. 2002;40:3442–8.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; 3rd Edition, 2016; M45-P. EE. UU.:Wayne, PA.
6. Funke G, Alvarez N, Pascual C, Falsen E, Akervall E, Sabbe L, Schouls L, Weiss N, Collins MD. *Actinomyces europaeus* sp. nov., isolated from human clinical specimens. Int J Syst Bacteriol. 1997;47:687–92.
7. Könönen E, Wade WG. *Actinomyces* and related organisms in human infection. Clin Microbiol Rev. 2015;26:419–42.
8. Nouioui I, Carro L, García-Lopez M, Meier-Kolthoff JP, Woyke T, Kyrpides NC, Pukall R, Klenk HP, Goodfellow M, Goker M. Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria. Front Microbiol. 2018;9:2007.
9. Ortega Zufiria JM, Aragonés Cabrerizo MP, Jerez Fernández P, Tamarit Degenhardt ML. Absceso cerebral posquirúrgico originado por *Propionibacterium* spp. Presentación de un caso clínico y revisión de la literatura. Incidencia en Argentina y en España. Neurol Arg. 2013;5:280–4.
10. Patel K, Clifford DB. Bacterial brain abscess. Neurohospitalist. 2014;4:196–204.
11. Rahiminejad M, Hasegawa H, Papadopoulos M, MacKinnon A. Actinomycotic brain abscess. BJR Case Rep. 2016;2:20150370.
12. Rocca MF, Almuzara M, Barberis C, Vay C, Viñes P, Prieto M. Presentation of the national network for microbiological identification by Mass Spectrometry website Guide for the interpretation of MALDI-TOF MS results. Rev Argent Microbiol. 2020;52:83–4.
13. Sarkonen N, Könönen E, Summanen P, Könönen M, Jousimies-Somer H. Phenotypic identification of *Actinomyces* and related species isolated from human sources. J Clin Microbiol. 2001;39:3955–61.
14. Sonnerville R, Ruimy R, Benzonana N, Riffaud L, Cansins A, Tadié M, Piau C, Revest M, Tattevin P. An update on bacterial brain abscess in immunocompetent patients. Clin Microbiol Infect. 2017;23:614–20.