

# MICROBIOLOGÍA CLÍNICA: NUEVOS DESAFÍOS

MARCELINO PIGNOLO\*, ADA KARINA MOLINAS\*\*,  
JANINA MATEU GAGLIARDI\*\*\*, PERLA SONIA HERMIDA LUCENA\*\*\*\*

\* Magíster en Bioseguridad (FCsV/UNR). Bioquímico y farmacéutico (FCByF/UNR). Profesor adjunto, cátedra de Microbiología y Parasitología (FOR/UNR). Docente investigador (categoría V), Programa de Incentivos.

\*\* Especialista en docencia universitaria (FRRO/UTN, Odontóloga). Maestranda en docencia universitaria (FRRO/UTN) (cursado completo. Tesis en evaluación). Jefa de Trabajos Prácticos, cátedra de Microbiología y Parasitología (FOR/UNR). Docente investigadora (categoría V), Programa de Incentivos. Investigadora auxiliar (CIC-UNR). Referente de Vinculación Tecnológica y Desarrollo Productivo (FOR/UNR).

\*\*\* Doctora en Odontología (FOR/UNR). Profesora adjunta, cátedra de Microbiología y Parasitología (FOR/UNR). Docente investigadora (categoría V), Programa de Incentivos.

\*\*\*\* Doctora (UNR). Profesora titular, cátedra Microbiología y Parasitología (FOR/UNR). Investigadora principal (CIC-UNR). Docente investigadora (categoría II), Programa de Incentivos.

## RESUMEN

Si partimos de que la microbiología es una ciencia fundante, podemos estar de acuerdo también en la necesidad de la continua actualización de sus contenidos y su vinculación con la odontología. Nuevas técnicas de diagnóstico permiten, no solo poder identificar características especiales de cada microorganismo y su reubicación en la taxonomía general, sino también habilitan a reconocer a aquellos –hasta el momento– desconocidos en la cotidianeidad de la práctica profesional y que revisiten importancia por sus afecciones sistémicas ya que pueden transformar, en algunos casos, a que el paciente sea considerado de riesgo. En este trabajo, se abordan tres ejemplares bacterianos seleccionados por su complejidad en la identificación y por la magnitud de las lesiones que producen. *Granulicatella* spp., *Kingella kingae* y *Bilophila wadsworthia* afectan no solo adultos sino también pacientes pediátricos, siendo afectados por patologías severas. Se describen cuadros clínicos que afectan tejido óseo, corazón, cerebro, hígado, bazo, riñón y las manifestaciones orales a las cuales pueden asociarse grupos microbianos que agravan el pronóstico. Aplicar la tecnología adecuadamente, no solo a procedimientos odontológicos, sino también para diagnóstico (PCR – MALDI – TOF) facilita la detección e identificación con mayor celeridad de estos agentes microbianos, evitando la rotación farmacológica, la resistencia microbiana y la automedicación.

**Palabras clave:** *Granulicatella* spp., *Kingella kingae*, *Bilophila wadsworthia*, PCR, MALDI, TOF.

## ABSTRACT

Considering microbiology as a key science in the approach of infectious processes, we understand the need for a continuous update of its contents and its link with dentistry. The incorporation of new technological approaches, such as molecular methods or mass spectrometry, allow us not only to identify special characteristics of the microorganism and its relocation in taxonomy, but also to know those microorganisms until now unknown in professional's life everyday practice and that are important for their systemic implications, modifying in some cases, the risk assessment of the patient. Three bacterial specimens are developed in this work, due to their complexity in the identification and the magnitude of the lesions they produce, *Granulicatella* spp., *Kingella kingae* and *Bilophila wadsworthia*. These affects both adult and paediatric patients, describing several clinical conditions that affect bone tissue, heart, brain, liver, spleen, kidney and oral manifestations to which these microbial groups can be associated, aggravating the prognosis. Applying new technology, not only to dental procedures but also to diagnosis, facilitates the detection and identification with greater speed of these microbial agents, avoiding pharmacological rotation, microbial resistance and self-medication.

**Keywords:** *Granulicatella* spp., *Kingella kingae*, *Bilophila wadsworthia*, PCR, MALDI, TOF.

## INTRODUCCIÓN

La microbiología clínica ha proporcionado resultados sostenidos durante las últimas seis décadas. Esto significa, un día para cultivo y otro, para identificación e investigación de susceptibilidad antimicrobiana. Mientras tanto, el tratamiento se realiza empíricamente, según algoritmos que se combinan con datos epidemiológicos y el conocimiento de los potenciales microorganismos capaces de producir dicho cuadro.

En los últimos años, los métodos moleculares basados en **reacción en cadena de polimerasa** (en adelante, PCR, por su sigla en inglés) multiplex, pueden ser realizados a partir de muestras clínicas, permitiéndonos identificar patógenos y sus resistencias en solo horas. En los trabajos relevados, de los dos últimos años publicados en revistas científicas de circulación periódica, se ha concluido en un impacto significativo en reducción del tiempo de diagnóstico, mejoras en la gestión económica de pacientes, reducción en la exposición a antibióticos y/o antivirales y disminución de estadías hospitalarias. (1, 2)

Otro método es espectrometría de masas MALDI-TOF (obedece a las siglas en inglés **ionización-desorción asistida por matriz con tiempo de vuelo**). Posibilita la identificación de microorganismos en minutos, pero a partir de colonias aisladas en medios de cultivos. Para analizar las evaluaciones de impacto clínico y la reducción del costo total de la atención y el uso de recursos se realizó una investigación de resultados de publicaciones científicamente validadas que incluyen en su temática de estudio las palabras claves: MALDI-TOF, FilmArray (bioMérieux), diagnóstico microbiológico, impacto clínico. (3, 4)

## DESARROLLO

Estas nuevas metodologías cuentan con el potencial para informar tempranamente sobre una acertada terapia y tratamiento antibiótico individual. Sin embargo cabría remarcar algunas desventajas:

1. Los sistemas de PCR actualmente detectan alrededor del 90% de los posibles responsables del cuadro clínico, y no el 100%.
2. Los métodos moleculares tienden a encontrar más organismos por muestra que los que el laboratorio registra habitualmente. Esto es de esperar si entendemos que los métodos moleculares son más sensibles, ya que detectan material genético y no bacterias viables a partir de un medio de cultivo.

Así queda planteada la cuestión de si se sobrevalora a componentes de la biota o si el laboratorio de rutina los subvalora. Solo el tiempo, la experiencia, la rigurosidad clínica y la acumulación de evidencia consecuente resolverán esta disyuntiva. Debemos cuidarnos al considerar a los cultivos como un estándar de oro, simplemente porque es en lo que basamos nuestro criterio hasta el momento. No debemos perder de vista que la lectura de las placas de cultivo es subjetiva y la falta de crecimiento registrado por organismos detectables a nivel molecular puede indicar el fracaso del cultivo y no necesariamente la interpretación como un falso positivo molecular.

3. Los altos costos que en la actualidad conlleva la implementación de estas técnicas.
4. Los trabajos analizados fueron realizados en unidades de internación específicas, en condiciones controladas y con protocolos muy bien definidos, sería pertinente preguntarse si el equipo médico en su conjunto utilizará los resultados moleculares para modificar los tratamientos actualmente recomendados. Ellos fueron el resultado de consensos realizados con los métodos de diagnóstico clásicos, aspecto del comportamiento humano que ha recibido, hasta ahora, menos atención de la que parece merecer.

A partir del desarrollo de estas nuevas tecnologías, se ha podido avanzar en la identificación de microorganismos de la biota oral entre los que podemos citar *Granulicatella spp.*, *Kingella kingae* y *Billophila wadsworthia*. Estos microorganismos revisten interés por su relevancia clínica poco conocida por la comunidad odontológica.

Las bacterias del género *Granulicatella* son cocos Gram positivos, agrupados en cadenas o parejas, anaerobios facultativos, catalasa y oxidasa negativos. Forman parte de la biota de cavidad oral, genitourinaria y gastrointestinal. Participan como causa etiológica de endocarditis infecciosa (EI) aunque, en muchos casos, debido a su exigencia nutricional, los resultados de los cultivos pueden ser negativos. (5,6)

Algunas de las variables a conocer de este microorganismo nos permiten jerarquizar a la cavidad oral como posible puerta de entrada de enfermedades infecto-contagiosas y sus repercusiones sistémicas. Esto ha permitido evidenciar su responsabilidad en 1,5% a 5% de las EI, siendo la cavidad oral una de las principales puertas de entrada (26,3%). También pueden ocasionar bacteriemias no asociadas a endocarditis, sepsis neonatal, abscesos cerebrales y pancreáticos,

meningitis, artritis, queratoconjuntivitis e infecciones de prótesis aórticas y catéteres, entre otras. (7) Se aisló en un 4,7% de usuarios de drogas endovenosas. Al realizar el antibiograma se obtuvieron los siguientes resultados:

- *Granulicatella adiacens*: sensible a 60% penicilina G, 60% ceftriaxona, 81% amoxicilina y 96% meropenem.
- *Granulicatella elegans*: sensible 100% penicilina y 33% ceftriaxona.

Otra bacteria evaluada con estas tecnologías ha sido *Kingella kingae*, perteneciente a la familia Neisseriaceae. Es un cocobacilo, inmóvil, Gram negativo, corto, anaerobio facultativo, se agrupa en pares o en cadenas cortas. (8) Tiene crecimiento lento y es nutricionalmente fastidioso. En los últimos años se ha comunicado un incremento de infecciones osteoarticulares en niños y lactantes a *Kingella kingae*, estableciendo la importancia clínica de este microorganismo y sus posibles relaciones entre patologías sistémicas y estomatológicas. (9,10,11) Es causa etiológica de endocarditis, septicemia, queratitis e infecciones del SNC, transmitiéndose de un niño a otro a través del contacto personal. En pacientes adultos, las infecciones son raras y pueden desarrollarse en pacientes inmunocomprometidos. Una deficiente higiene oral, faringitis o la presencia de ulceraciones en la mucosa oral son considerados factores predisponentes. La infección puede ocurrir en el tracto respiratorio o urinario, pudiendo detectarse sepsis y artritis séptica. (12,13,14)

De un total de 52 pacientes niños diagnosticados con infecciones invasivas a *K. kingae*: 16 (24,6%) presentaban erosiones en mucosa gingival o en la superficie de la lengua con una duración de 6 días previa al hemocultivo. En 4 pacientes se asoció gingivo-estomatitis herpética; y en 3, virus varicela-zoster. (15)

Este microorganismo produce patologías sistémicas relevantes, en paralelo a la presencia de lesiones estomatológicas, coagregándose a *Eikenella corrodens*, que favorece el desarrollo de cuadros periodontales y de halitosis junto a *Tannerella forsythia* y *Treponea denticola*. No es un dato menor que en ciertos pacientes se pueda establecer la co-infección con Herpetoviridae. (15)

Otro microorganismo de repercusión sistémica es *Bilophila wadsworthia*, que pertenece a la familia Desulfovibrionaceae. Es un bacilo Gram negativo, anaerobio estricto, inmóvil, asacarolítico, catalasa y

ureasa positivo, resistente a la bilis, de crecimiento lento y de difícil identificación. (16)

Es biota habitual del tracto gastrointestinal y se aísla ocasionalmente en cavidad oral y vagina. Ha adquirido importancia clínica debido a su resistencia a los antibióticos y a su participación en procesos de necrosis, osteomielitis mandibular, pancreatitis (17), otitis (18), abscesos periodontales, sepsis, abscesos escrotales, anales, hepáticos y cerebrales, apendicitis gangrenosa, endometritis y diabetes tipo 2. También se ha aislado de pústulas periodontales, cultivos de saliva, cultivos de tampones vaginales, así como también en heces de pacientes. La biota intestinal se relaciona estrechamente con muchas enfermedades crónicas y refractarias, inflamación intestinal, cáncer colorrectal, obesidad y diabetes. Se ha encontrado una vinculación directa entre ciertas bacterias intestinales y marcadores de riesgo metabólico. *Bilophila wadsworthia* se asoció positivamente con la resistencia a la insulina y con dislipemia, observándose mayor cantidad de estas bacterias en pacientes con diabetes tipo 2, esto queda plasmado en la identificación de marcadores metagenómicos intestinales asociados con resistencia a la insulina, metabolismo lipídico e inflamación en mujeres obesas. (19, 20)

También se ha asociado a los lípidos de la dieta con el crecimiento de *Bilophila wadsworthia* y su relación con el síndrome metabólico. Ello visualiza una relación sinérgica entre esta bacteria y una dieta alta en grasas. Así termina promoviendo: mayor inflamación, disfunción de la barrera gastrointestinal y dismetabolismo de los ácidos biliares, que conllevan a una mayor concentración de glucosa y estenosis hepática. (21, 22)

## CONCLUSIÓN

El interrogante que se presenta es: **¿su presencia en abscesos periodontales es debido a la relación que tiene con las enfermedades metabólicas?** Creemos importante continuar las investigaciones haciendo un estudio comparativo entre pacientes sanos y enfermos, para aportar mayor claridad sobre los mecanismos patogénicos de esta bacteria y su sensibilidad a los antimicrobianos.

Al ser difícil su aislamiento e identificación, muchos hospitales latinoamericanos utilizan terapias empíricas ante estos cuadros clínicos, en muchos casos, no solo no se resuelve la infección, sino que además puede empeorarla por ser un microorganismo con

gran resistencia antimicrobiana. En todos los estudios evaluados, se enfatizó la relevancia clínica que está adquiriendo y la necesidad de seguir aportando datos epidemiológicos. El trabajo clínico nos plantea diariamente nuevos desafíos y la tecnología las herramientas para dilucidarlos. (23)

Estas nuevas técnicas de diagnóstico nos permiten como profesionales del área de la salud, identificar con precisión y celeridad estos microorganismos que participan en la estructura de la biopelícula dental; permitiendo, de esta manera, realizar un abordaje farmacológico preventivo de resistencia microbiana y efectivo en las patologías asociadas.

La complementariedad del trabajo interdisciplinario, sumado a la profilaxis adecuada, contribuirán a la disminución de infecciones sistémicas asociadas a microorganismos presentes en cavidad oral.

## BIBLIOGRAFÍA

- PICCIRILLI G, CHIEREGHIN A, GABRIELLI L, GIANNELLA M, et al. Infectious meningitis/encephalitis: evaluation of a rapid and fully automated multiplex PCR in the microbiological diagnostic workup. *New Microbiologica*, 41, 2, 118-125, ISSN 1121-7138. 2018.
- PEKER N, COUTO N, SINHA B, ROSSEN JW. "Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches" *Clin. Microbiol. Inf.* 24: 944-955. 2018.
- CLARK AE, KALETA EJ, ARORA A, WOLK DM. "Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: a fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology". *Clin. Microbiol. Rev.*; 26:547-603. 2013.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Methods for the identification of cultured microorganisms using Matrix-Assisted Laser desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*. 1st ed. CLSI guideline M58. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
- SANCHEZ JIMENEZ E, ALVARADO RODRIGUEZ K PELÁEZ MC "Endocarditis Infecciosa por *Granulicatella adiacens*: Reporte de un caso". *Rev. Costarricense de Cardiología* Vol. 18: N°1-2: 37-40. 2016.
- REYES C Y BARTHEL E "Granulicatella spp", *Red Chil. Infectol.* Vol. 32, N 3: 359-360. 2015.
- TÉLLEZ A, AMBROSIONI J, LLOPIS J, PERICÀS JM, FALCES C, ALMELA M, GARCÍA DE LA MÀRIA C, HERNANDEZ-MENESES M, VIDAL B, SANDOVAL E, QUINTANA E, FUSTER D, TOLOSANA JM, MARCO F, MORENO A, AND MIRO JM "Epidemiology, Clinical Features and Outcome of Infective Endocarditis due to *Abiotrophia* Species and *Granulicatella* Species: Report of 76 Cases, 2000-2015". *Clin Infect. Des.* V. 66. Issue 1:104-11(2018).
- J. AMIR, P. YAGUPSKY. "Invasive *Kingella Kingae* infection associated with stomatitis in children". *Pediatr Infect Dis J*, 17 (1998), pp. 757-758J.
- G. DUBNOV-RAZ, O. SCHEUERMAN, G. CHODICK, Y. FINKELSTEIN, Z. SAMRA, B.Z. GARTY. "Invasive *Kingella kingae* infections in children: Clinical and laboratory characteristics". *Pediatrics*, 122 (2008), pp. 1305.
- KIANG KM, OGUNMODEDE F, JUNI BA, BOXRUD DJ, GLENNEN A, BARTKUS JM, CEBELINSKI EA, HARRIMAN K, KOOP S, FAVILLE R, DANILA R, LYNFIELD R "Outbreak of osteomyelitis/septic arthritis caused by *Kingella kingae* among childcare center attendees". *Pediatric e206-e213*; agosto 2005,116 (2) DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2004-2051>.
- YAGUPSKY P, BEN-AMIY, TREFLER R, PORAT N "Outbreaks of Invasive *Kingella kingae* Infections in Closed Communities." *J Pediatr.* 2016 Feb.; 169: 135-9.e1. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.10.025. Epub Nov. 3. 2015.
- YAGUPSKY P, ERLICH Y, ARIELA S, TREFLER R, PORAT N. "Outbreak of *Kingella kingae* skeletal system infections in children in daycare." *Pediatr Infect Dis J*; 25(6):526-32. Jun. 2006.
- KIANG KM, OGUNMODEDE F, JUNI BA, BOXRUD DJ, GLENNEN A, BARTKUS JM, CEBELINSKI EA, HARRIMAN K, KOOP S, FAVILLE R ET AL. PEDIATRICS. "Outbreak of osteomyelitis/septic arthritis caused by *Kingella kingae* among child care center attendees". 2005 Ago.; 116(2):e206-13. Epub Jul. 15. 2005.
- EL HOUMAMI N, MINODIER P, DUBOURG G, MIRAND A, JOUVE JL, BASMACI R, CHARREL R, BONACORSI S, YAGUPSKY P, RAOULT D, ET AL. "Pediatr Patterns of *Kingella kingae* Disease Outbreaks". *Infect Dis J* 35(3):340-6. Mar. 2016.
- QUESADA-GÓMEZ C., "Infecciones producidas por *Bilophila wadsworthia*: anaerobio estricto, de crecimiento lento, difícil diagnóstico de laboratorio e importante resistencia contra los antimicrobianos". *Rev. Bioméd.* Vol. 23. N°2: 65-70; mayo-agosto 2012.
- AUCHER P, RICHARD L, GROLIER G., et al., "*Bilophila wadsworthia* isolated from acute pancreatitis". *Médecine et Maladies Infectieuses*. Vol. 28, Issue 3: 260-263, Marzo 1998.
- SCHUMACHER U., BÜCHELER M., "First isolation of *Bilophila wadsworthia* in otitis externa". *HNO*. N° 45, Issue 7: 567-569, Jul. 1997. Doi: <https://doi.org/10.1007/s001060050133>
- BRAHE L.K., LE CHATELIER E., PRIFTI E., PONS N., KENNEDY S., HANSEN T., PEDERSEN O., ASTRUP A., EHRlich S.D. AND LANSEN L.H., "Specific gut microbiota features and metabolic markers in postmenopausal women with obesity". *Nutrition & Diabetes* 5, e159; doi:10.1038/nutd.2015.9 Jun. 2015.
- FENG Z., LONG W., HAO H., et al. "A human stool-derived *Bilophila wadsworthia* strain caused systemic inflammation in

specific-pathogen-free mice". Gut Pathog. 9, 59:2-10. DOI:10.1186/s13099-017-0208-7. Oct. 2017.

20. NATIVIDAD J.M., LAMAS B., PHAM H., et al, "Bilophila wadsworthia aggravates high fat diet induced metabolic disfunctions in mice". Nat Commun 9, 2802:1-15; DOI:10.1038/s41467-018-05249-7. Julio 2018.

21. LAUE H., SMITS T.H.M., COOK A.M., et al., "Identification of Bilophila wadsworthia by specific PCR which targets the taurine: pyruvate aminotransferase gene". FEMS Microbiology letters. Vol. 261. Issue 1: 74-79; Ago. 2006.

22. AVIDAN O., KALTAGESER E., PECHATNIKOV I., et al, "Isolation and characterization of porins from Desulfovibrio piger and Bilophila wadsworthia: Structure and gene sequencing". Archives of Microbiology. 190: 641-650 DOI: 10.1007/s00203-008-0416-0 Ago. 2008.

23. MC ORIST A., WARHURST M., MC ORIST S., et al, "Colonic Infection By Bilophila wadsworthia in Pigs". J. of Clinical Microbiology. Vol. 39, N° 4: 1577-1579. DOI: 10.1128/JCM.39.4.1577-1579. Abril 2001.

**Contacto:**

*Correo electrónico (Marcelino Pablo Pignolo): mppignolo@gmail.com*