

Editorial

El microbioma respiratorio: más allá del cultivo

The respiratory microbiome: Beyond the culture

Eduard Monsó

Servei de Pneumologia, Hospital Universitari Parc Taulí, Ciber de Enfermedades Respiratorias-Ciberes, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España



Ante la negatividad de las muestras de cultivo obtenidas distalmente a la glotis, el árbol bronquial y el pulmón han sido considerados estériles en el sujeto sano. El uso de técnicas microbiológicas independientes del cultivo ha confirmado, sin embargo, que el árbol broncopulmonar aloja una gran cantidad de microorganismos, conocido como el microbioma, compuesto por bacterias, virus y hongos. Solo un 1% de este conjunto crece en cultivo.

El análisis de la composición bacteriana independiente del cultivo se ha basado hasta ahora en el gen que codifica el ARN ribosómico (16S rRNA). El ribosoma es esencial para la transcripción del ARN mensajero y, en las bacterias, el gen 16S rRNA se ha mantenido inalterado a lo largo de los siglos, ya que cualquier mutación limita su viabilidad. El análisis del gen 16S rRNA permite así la clasificación taxonómica de cada estirpe bacteriana y su secuenciación es utilizada para describir la composición de las bacterias presentes en un ecosistema¹. Las bases de datos de referencia del gen 16S rRNA permiten clasificar las secuencias en una muestra desde los niveles taxonómicos más altos (filo) hasta los inferiores (género), aunque en ocasiones se pueden mostrar insuficientes para alcanzar el nivel de especie. La identificación bacteriana se aborda utilizando el término de «unidad taxonómica funcional» (*operational taxonomic unit* [OTU]) y considerando como tal cada unidad taxonómica similar a la referencia. Así, una OTU se estimará como equivalente a género si su coincidencia con la referencia alcanza un 94%, o a especie, cuando llega al 97%. La composición del microbioma se expresa habitualmente como abundancia relativa, entendiendo como tal la proporción de copias del gen 16S rRNA que corresponden a cada OTU identificada. La limitación más importante del uso del análisis del gen 16S rRNA es la imposibilidad de obtener información de virus y hongos por esta vía.

El sujeto normal aloja una flora microbiana filogenéticamente diversa en el árbol broncopulmonar^{2,3}, con firmicutes, bacteroidetes y proteobacteria como sus filos más frecuentes, y una frecuencia baja de OTU correspondientes a microorganismos potencialmente patógenos como los del género *Haemophilus*⁴. Estudios recientes con muestreo de orofarínge y lavado broncoalveolar por procedimientos distintos, dirigidos a imposibilitar la contaminación cruzada de las muestras, y realizados en el mismo día, han confirmado la similitud entre el microbioma de la orofarínge y el árbol broncopulmonar

en el sujeto sano, paralelismo que se ha atribuido a la aspiración de secreciones durante el sueño^{5,6}.

La información sobre el efecto del humo de tabaco sobre el microbioma respiratorio en el sujeto sano es escasa. Estudios iniciales en muestras orofaríngeas han observado disbiosis, entendiendo como tal la presencia de uno o más géneros con abundancia relativa claramente elevada⁷. Los estudios de la flora respiratoria no han hallado diferencias entre fumadores y sujetos que nunca han fumado, sin embargo⁸, lo que indica que la respuesta a los componentes del humo del tabaco es más marcada en la flora orofaríngea que en la broncopulmonar.

La colonización bronquial por microorganismos potencialmente patógenos ha sido bien establecida por cultivo en la EPOC, y la aparición de los síntomas respiratorios en la exacerbación se ha relacionado principalmente con la incorporación de nuevas cepas a esta flora. Los estudios que han examinado el microbioma broncopulmonar en pacientes con EPOC estable han observado diferencias claras respecto a la flora propia del sujeto sano^{2,9}. Proteobacteria, bacteroidetes, acinetobacteria y firmicutes son más comunes en la EPOC, con *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella* y *Haemophilus* como géneros frecuentes en estos pacientes. Esta predominancia se ha obtenido tanto en muestras de mucosa bronquial como en lavado broncoalveolar o cepillo protegido, muestras que se han mostrado como equivalentes^{5,10}. Resultados similares se han obtenido en esputo, aunque esta muestra aborda una región diferente del aparato respiratorio y aloja una comunidad microbiana diferenciada¹⁰.

El estudio del microbioma en secreciones respiratorias durante la exacerbación identifica géneros que aumentan en su abundancia relativa, así como la flora colonizadora, que no se modifica¹¹. En una fracción de los episodios este incremento en la abundancia de la bacteria causal no es identificado por el cultivo, que únicamente recupera microorganismos sin cambios en su abundancia relativa respecto a las muestras obtenidas en estabilidad, aunque estos sean potencialmente patógenos, como *Pseudomonas aeruginosa*. Así, el examen del microbioma respiratorio confirma que en una parte de las exacerbaciones el aumento en un patógeno bacteriano pasa desapercibido para la microbiología convencional, por sus limitaciones de sensibilidad, mientras que el cultivo identifica microorganismos que en realidad son únicamente colonizantes, lo que da una información equívoca para el clínico. Estos cambios en la composición bacteriana del microbioma respiratorio durante la exacerbación se ven favorecidos por las infecciones virales, ya que

 Correo electrónico: emonso@tauli.cat

en las semanas inmediatas a un resfriado común la abundancia relativa de proteobacteria aumenta¹². El tratamiento antibiótico de la exacerbación de la EPOC reduce la abundancia de proteobacteria, aunque la terapia exclusivamente con corticoesteroides favorece la sobrerrepresentación de taxones específicos que incluyen géneros del filo proteobacteria¹³.

La reciente caracterización del microbioma respiratorio en la fibrosis pulmonar idiopática ha objetivado una sobrerrepresentación de microorganismos de los géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Prevotella*¹⁴. La presencia de disbiosis con predominancia de microorganismos de los filos proteobacterias o firmicutes en muestras de lavado broncoalveolar se asocia a respuesta inflamatoria, mientras que la sobrerrepresentación de bacteroidetes se asocia a remodelación¹⁵, lo que puede tener trascendencia en las enfermedades del parénquima pulmonar.

Aunque se empieza a conocer la composición microbiana de la flora respiratoria en las enfermedades respiratorias crónicas, la implicación del microbioma en su patogenia, especialmente en lo que hace a sus componentes considerados como no patógenos por la microbiología basada en el cultivo, es prácticamente desconocida. La pérdida de diversidad bacteriana, frecuentemente relacionada con un aumento en la abundancia relativa de proteobacteria, se asocia a una mayor gravedad en la mayoría de las enfermedades respiratorias crónicas, y es muy posible que este cambio en la composición del microbioma sea uno de los factores que influye en la su progresión, como ya ha sido demostrado en la fibrosis pulmonar idiopática¹⁴. El análisis del ARN bacteriano y la metagenómica, técnicas de reciente implementación, serán capaces de proporcionar información funcional del microbioma respiratorio, de detallar interacciones entre virus, hongos y bacterias, y, potencialmente, de facilitar el diseño de estudios de intervención dirigidos a conservar la flora microbiana que actúa como mutualista y facilita la funcionalidad del sistema respiratorio frente a los patógenos respiratorios que la sustituyen progresivamente cuando se desarrolla EPOC o fibrosis pulmonar idiopática.

Agradecimientos

Este editorial se ha preparado en parte con ayudas del Fondo de Investigación Sanitaria PI15/00167, SEPAR y la Fundación BRN.

Bibliografía

1. Woese CR, Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87:4576–9.
2. Erb-Downward JR, Thompson DL, Han MK, Freeman CM, McCloskey L, Schmidt LA, et al. Analysis of the lung microbiome in the healthy smoker and in COPD. *PLoS One*. 2011;6, e16384.
3. Charlson ES, Bittinger K, Chen J, Diamond JM, Li H, Collman RG, et al. Assessing bacterial populations in the lung by replicate analysis of samples from the upper and lower respiratory tracts. *PLoS One*. 2012;7, e42786.
4. Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, Fitzgerald AS, Frank I, Yadav A, et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184:957–63.
5. Dickson RP, Erb-Downward JR, Freeman CM, McCloskey L, Beck JM, Huffnagle GB, et al. Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12:821–30.
6. Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, Freeman CM, Schmidt TM, Young VB, et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *MBio*. 2015;6:e00037. <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00037-15>.
7. Wu J, Peters BA, Dominianni C, Zhang Y, Pei Z, Yang L, et al. Cigarette smoking and the oral microbiome in a large study of American adults. *ISME J*. 2016;10:2435–46.
8. Munck C, Helby J, Westergaard CG, Porsbjerg C, Backer V, Hansen LH. Smoking cessation and the microbiome in induced sputum samples from cigarette smoking asthma patients. *PLoS One*. 2016;11, e0158622.
9. Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, Davies J, et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One*. 2010;5, e8578.
10. Cabrera-Rubio R, Garcia-Nunez M, Seto L, Anto JM, Moya A, Monso E, et al. Microbiome diversity in the bronchial tracts of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Microbiol*. 2012;50:3562–8.
11. Millares L, Ferrari R, Gallego M, Garcia-Nunez M, Perez-Brocal V, Espasa M, et al. Bronchial microbiome of severe COPD patients colonised by *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33:1101–11.
12. Molyneux PL, Mallia P, Cox MJ, Footitt J, Willis-Owen SA, Homola D, et al. Outgrowth of the bacterial airway microbiome after rhinovirus exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188:1224–31.
13. Dy R, Sethi S. The lung microbiome and exacerbations of COPD. *Curr Opin Pulm Med*. 2016;22:196–202.
14. Molyneux PL, Maher TM. The role of infection in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir Rev*. 2013;22:376–81.
15. Bernasconi E, Pattaroni C, Koutsokera A, Pison C, Kessler R, Benden C, et al. Airway microbiota determines innate cell inflammatory or tissue remodeling profiles in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016.