



Colonización en EPOC

**Eva M. Carmona Porquera,
M.D., Ph.D.**

Senior Associate Consultant

Conflictos de interés

- Co-Investigator:
 - ReSAPH (Registry for patients with sarcoidosis and pulmonary hypertension). Gilead

Objetivos

- Evolución histórica del papel de la infección en la patogénesis de la EPOC.
- Organismos mas frecuentes en la colonización crónica (cultivos).
- Estudio del microbioma en pacientes con EPOC.
- Efecto de la presencia de microorganismos en el proceso inflamatorio de la EPOC.
- Susceptibilidad genética.

Evolución histórica del papel de la infección en el desarrollo de la EPOC

- Históricamente (1950s) la EPOC se asociado con procesos infecciosos (autopsia).
- Infección y el aumento de la producción de moco => desarrollo de bronquitis crónica.
- 60-70s se identifica el tabaco como una causa importante en el desarrollo de la EPOC.
- 1975 una revisión indica que no hay evidencia significativa entre la infección y el desarrollo de la bronquitis crónica.
- En los últimos 20 años múltiples estudios demuestran que la infección juega un papel muy importante en las agudizaciones.

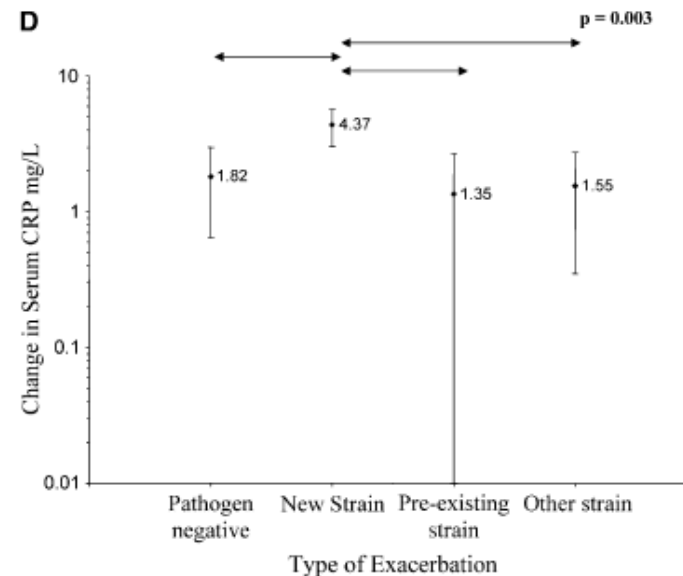
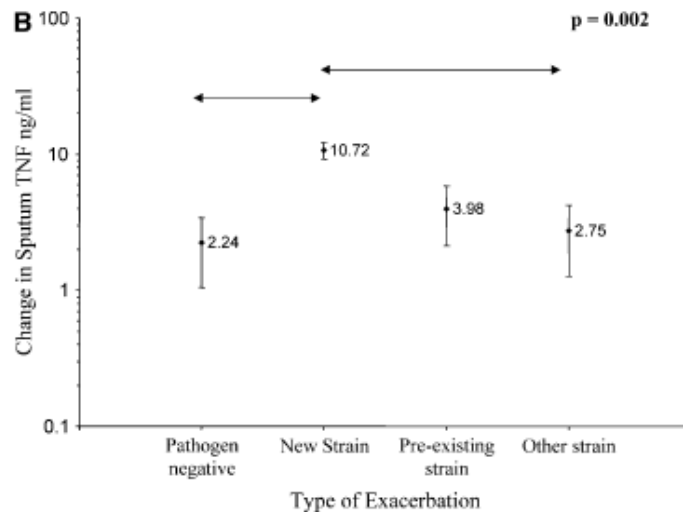
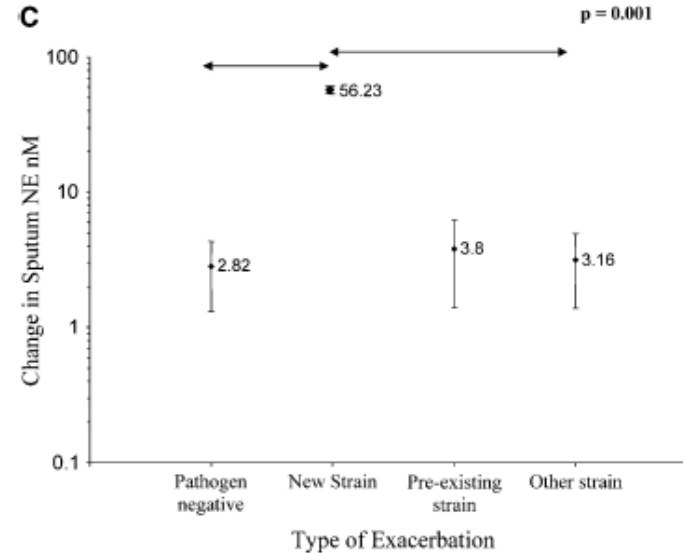
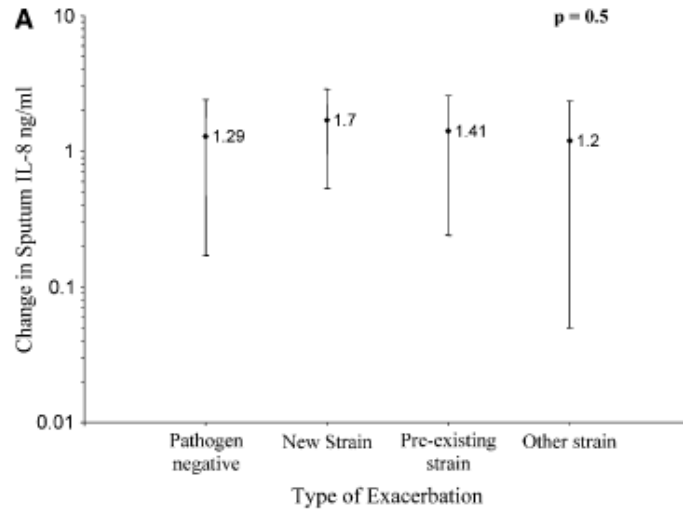
Microorganismos potencialmente patógenos (MPPs) en muestras respiratorias

- La adquisición de nuevas cepas se asocia a un aumento de la inflamación y al desarrollo de agudizaciones
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Moraxella catarrhalis*
 - *Streptococcus pneumoniae*
 - *Pseudomonas aeruginosa*

Inflammatory Profile of New Bacterial Strain Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease

TAB

New
(n =
Non
Strep
Mor
Pseu



cerbations
is = 2
nzae = 54

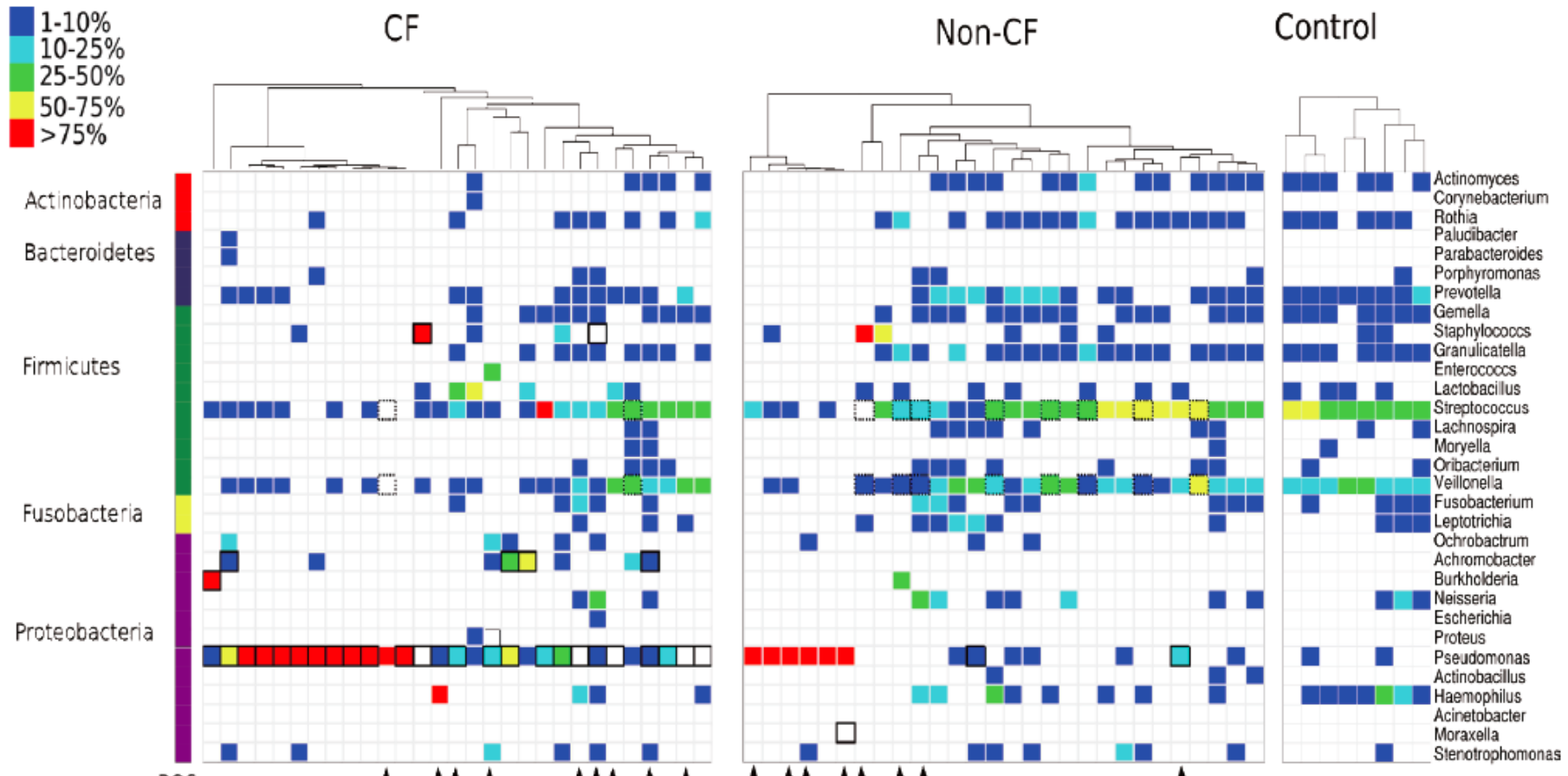
Colonización o Infección Bronquial Crónica

- En pacientes con EPOC establecida se detecta colonización hasta en un 50% de los casos en ausencia de agudizaciones.
- Los organismos que se aíslan con mas frecuencia:
 - *S. pneumoniae*
 - *H. influenzae*
 - *M. Catarrhalis*
- La presencia de “colonización” se asocia:
 - Aumento de agudizaciones
 - Deterioro de la función pulmonar
 - Presencia de marcadores de inflamación sistémica
 - Deterioro de general de la salud

Microbioma pulmonar

- El uso de técnicas moleculares permite evaluar la flora microbiológica de las vías respiratorias de manera mas profunda que el cultivo convencional.
- La técnica mas usada se basa en el análisis de ARNr 16S
 - La secuenciación del gen que codifica el ARNr 16S permite catalogar los organismos de forma rápida y precisa.
 - Para el análisis de las secuencias se usan plataformas de alta secuenciación.
 - Se compara las secuencias de las muestras con las depositadas en las bases de datos.
- Estas técnicas son mas usadas en la detección de bacteria que virus o hongos.

Microbioma

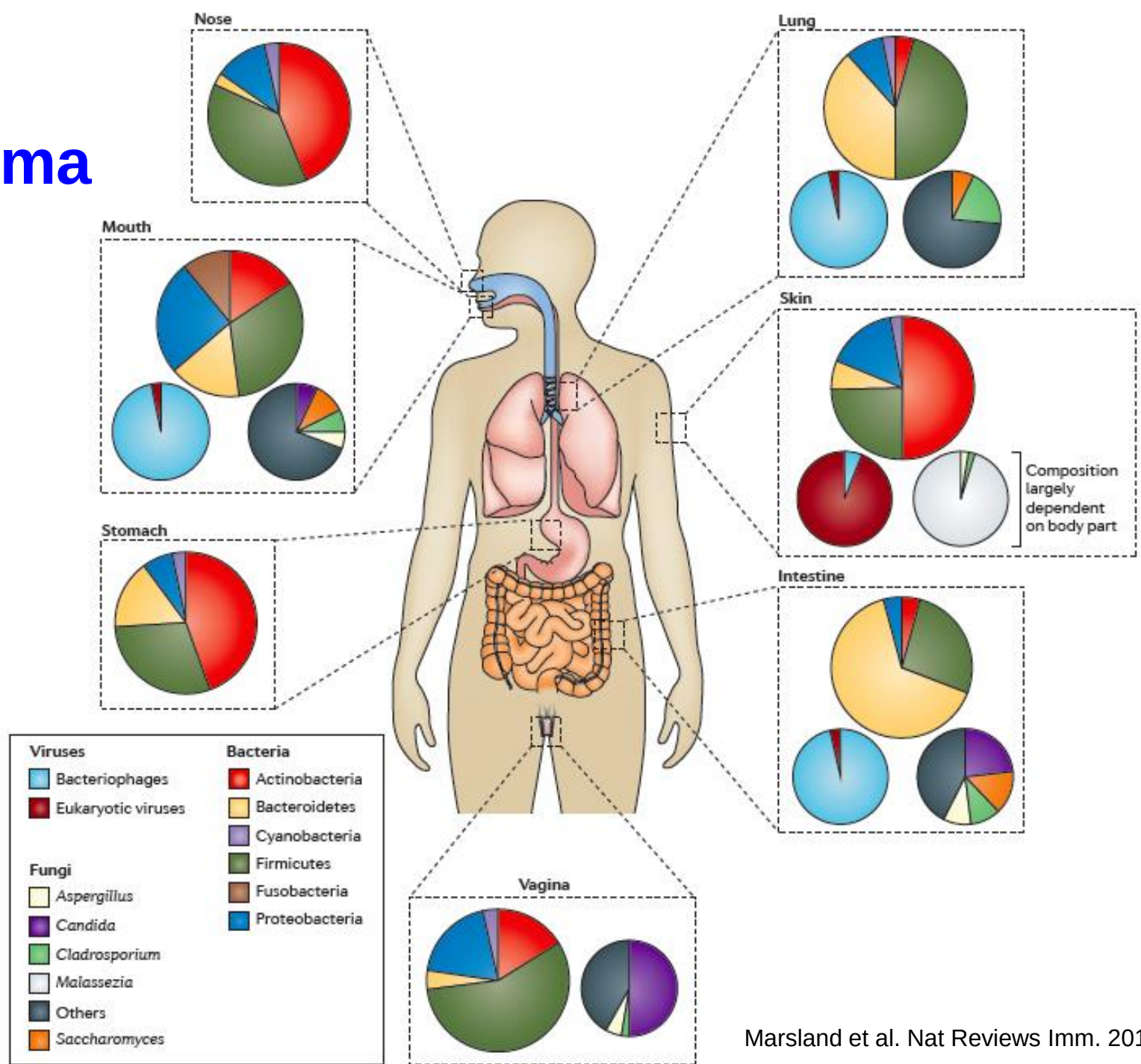


OTUs (Unidad taxonómica operacional): distinción microbiana cuando solo la secuencia del ADN esta disponible.

Abundancia: depende del numero de lecturas de esa secuencia

Indice de Shannon: Se usa para medir la biodiversidad (riqueza de especies). Valores 0.5-5 (valores normales 2-3)

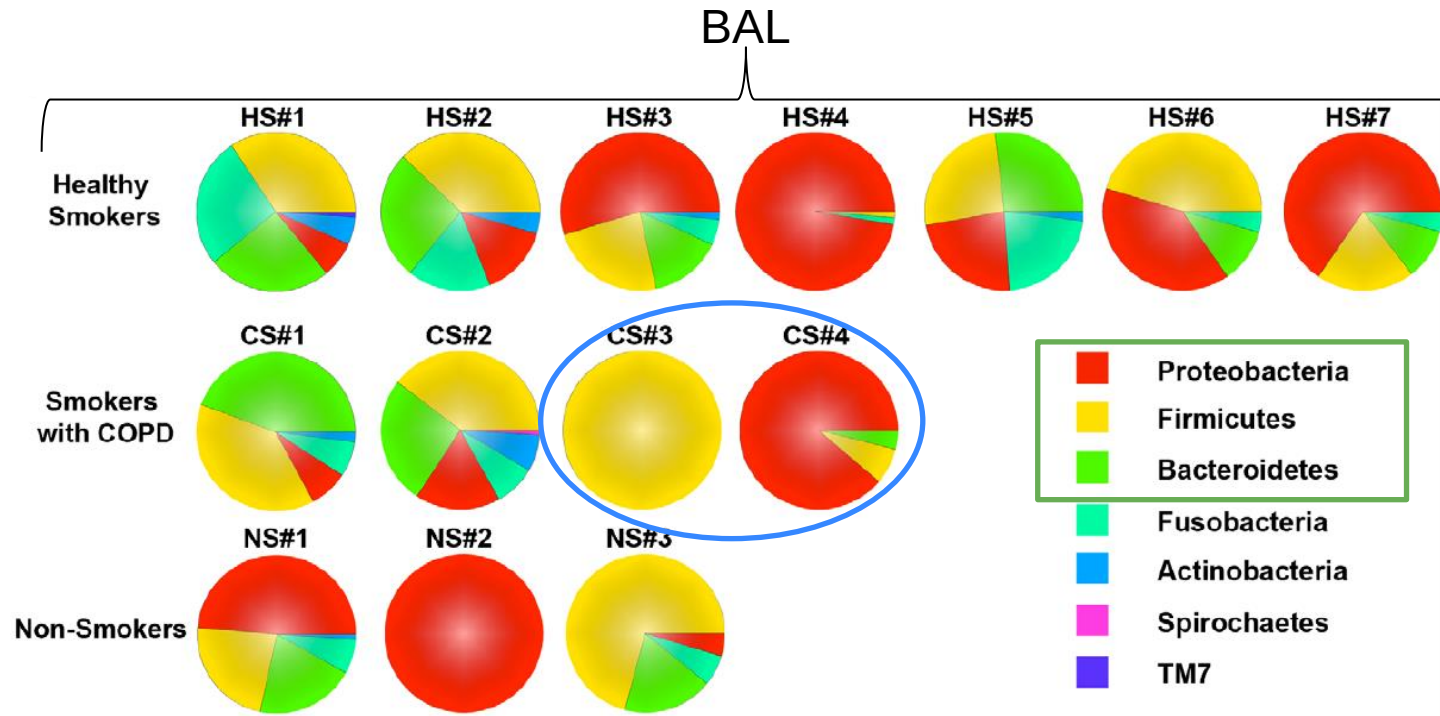
El microbioma humano



Microbioma en EPOC

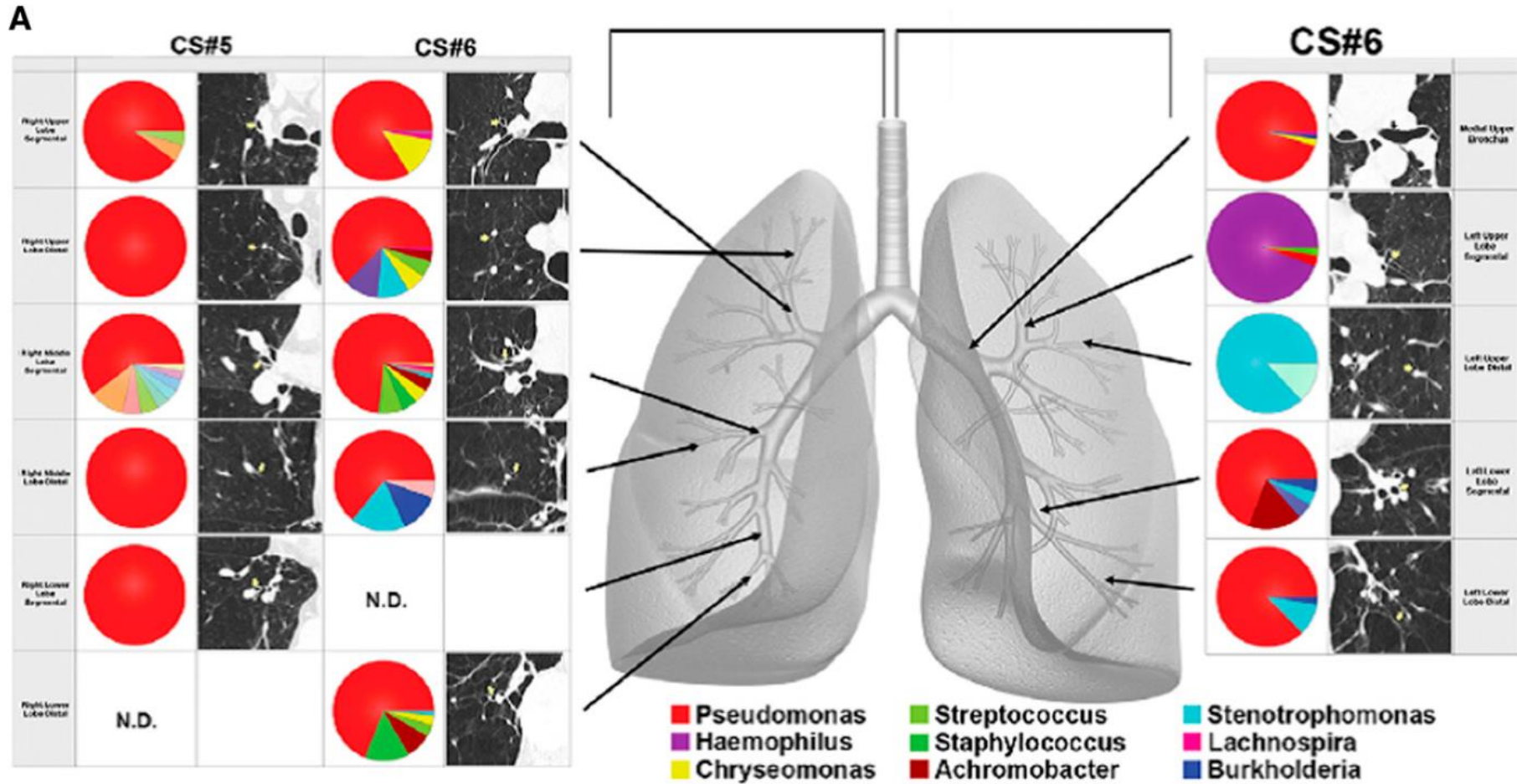
Análisis del microbioma en pacientes fumadores con y sin EPOC

- N=14 BAL (no-fumadores, fumadores sin EPOC y fumadores con EPOC)
- N=8 biopsia pulmonar en pacientes que se trasplantaron por EPOC



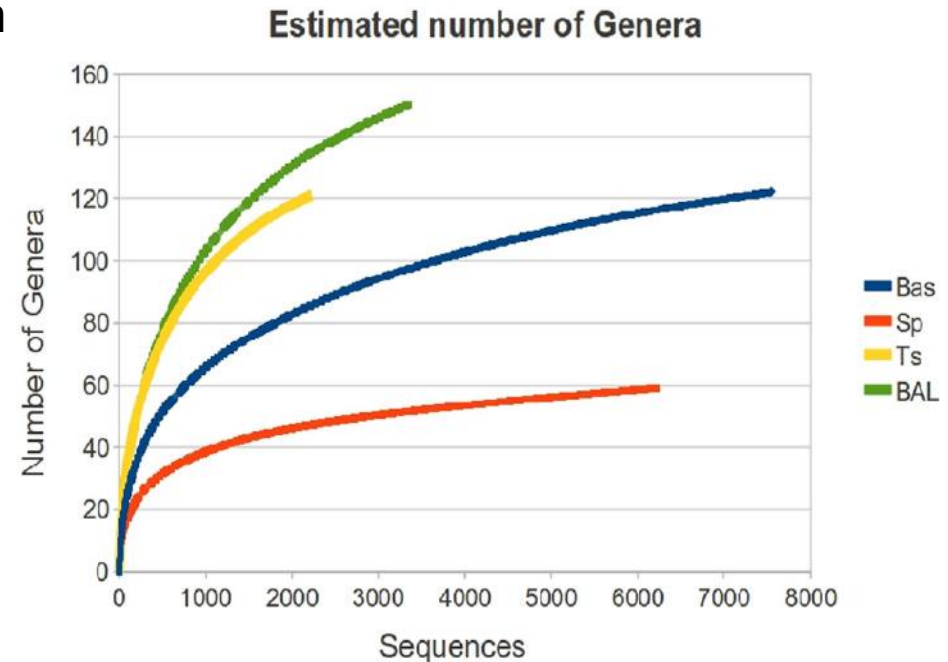
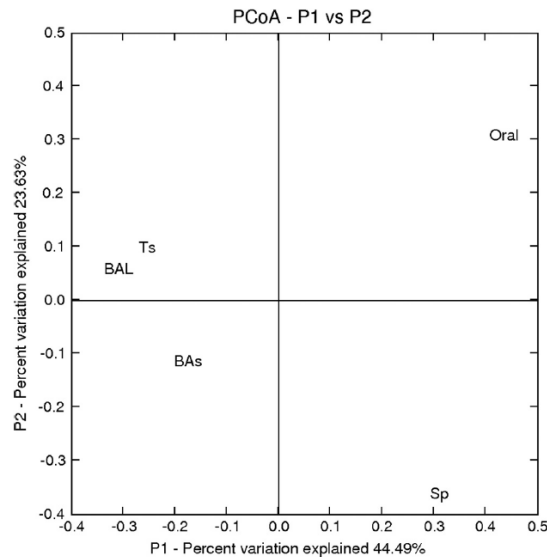
- En todas las muestras se detectaron niveles de bacteria
- Los pacientes con EPOC mas severa demostraron menos diversidad bacteriana

Distribución bacteriana según la localización anatómica



La diversidad del microbioma depende del lugar donde se tome la muestra

- N= 6 pacientes (5 hombres y 1 mujer)
- FEV1 ~66%
- 4 de los pacientes tenían bronquitis crón
- Tomaron diferentes muestras:
 - Esputo (Sp)
 - Aspirado bronquial (Bas)
 - BAL
 - Biopsia mucosa bronquial (Ts)



- Mas de 500 especies/muestra
- Composición bacteriana es similar en el mismo tipo de muestra

La diversidad microbiana según el grado de función pulmonar

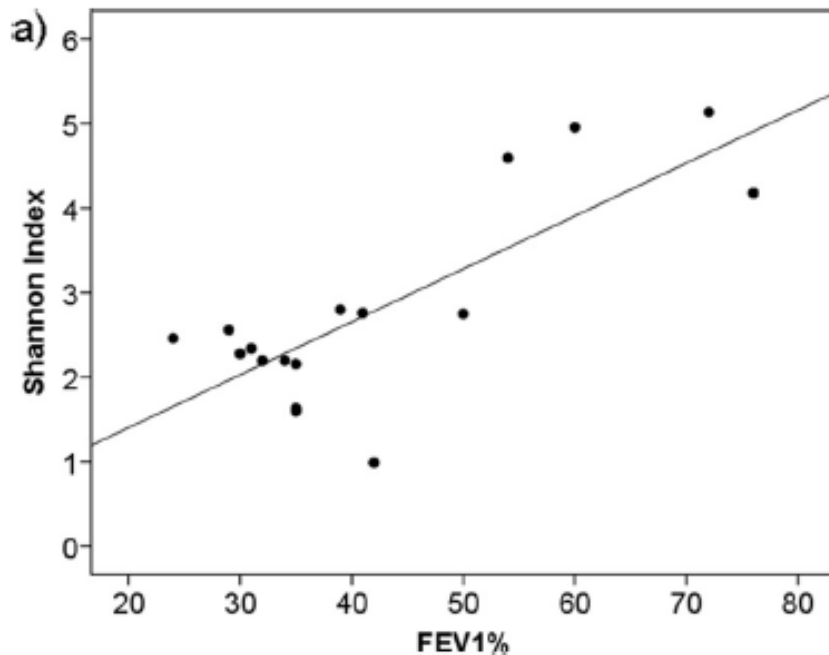
n= 17

Edad= 69 (66-75)

16 hombres

Muestras: esputo

> 1 mes sin antibióticos



Pacientes con obstrucción severa:

- Flora mas restringida (disminución de la diversidad)
- Con excesiva representación de microorganismos potencialmente patógenos (MPP)

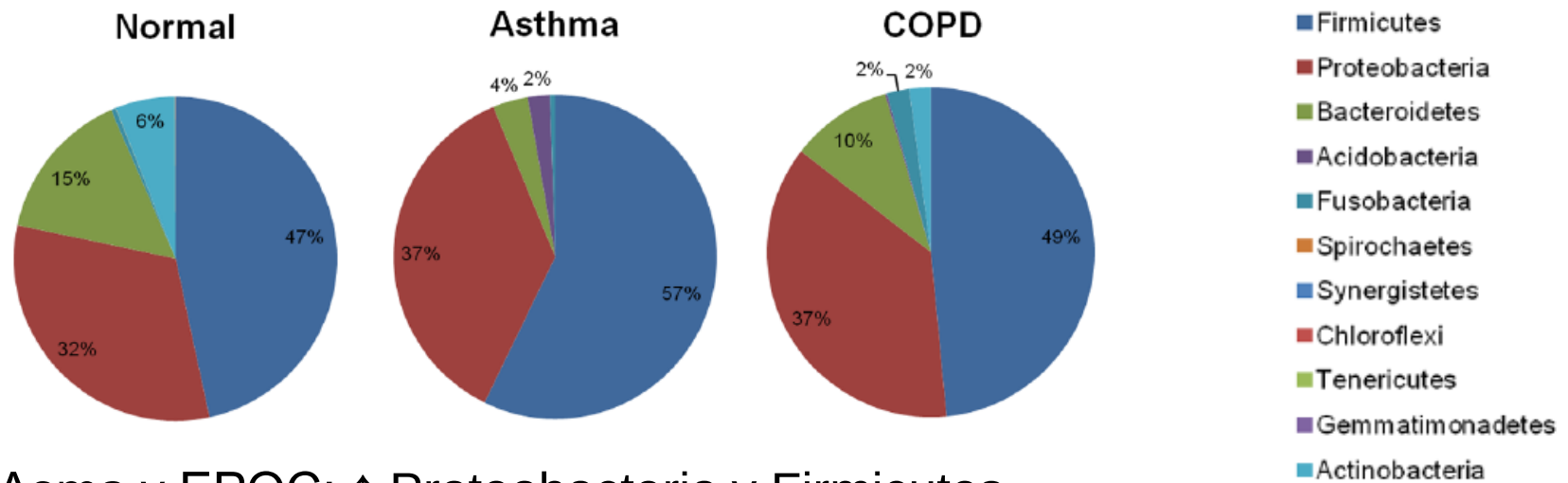
Diferencias entre Asma y EPOC

- Diagnostico reciente y leve
- n= 47 [18 pacientes Asma, 17 EPOC y 12 controles]
- Frotis oro-faríngeo

Sample	OTUs	Shannon Index
Normals	207±99	3.5±0.7
Asthma	128±73	2.4±1
COPD	157±100	2.9±1

- El grupo control tiene mas diversidad microbiana

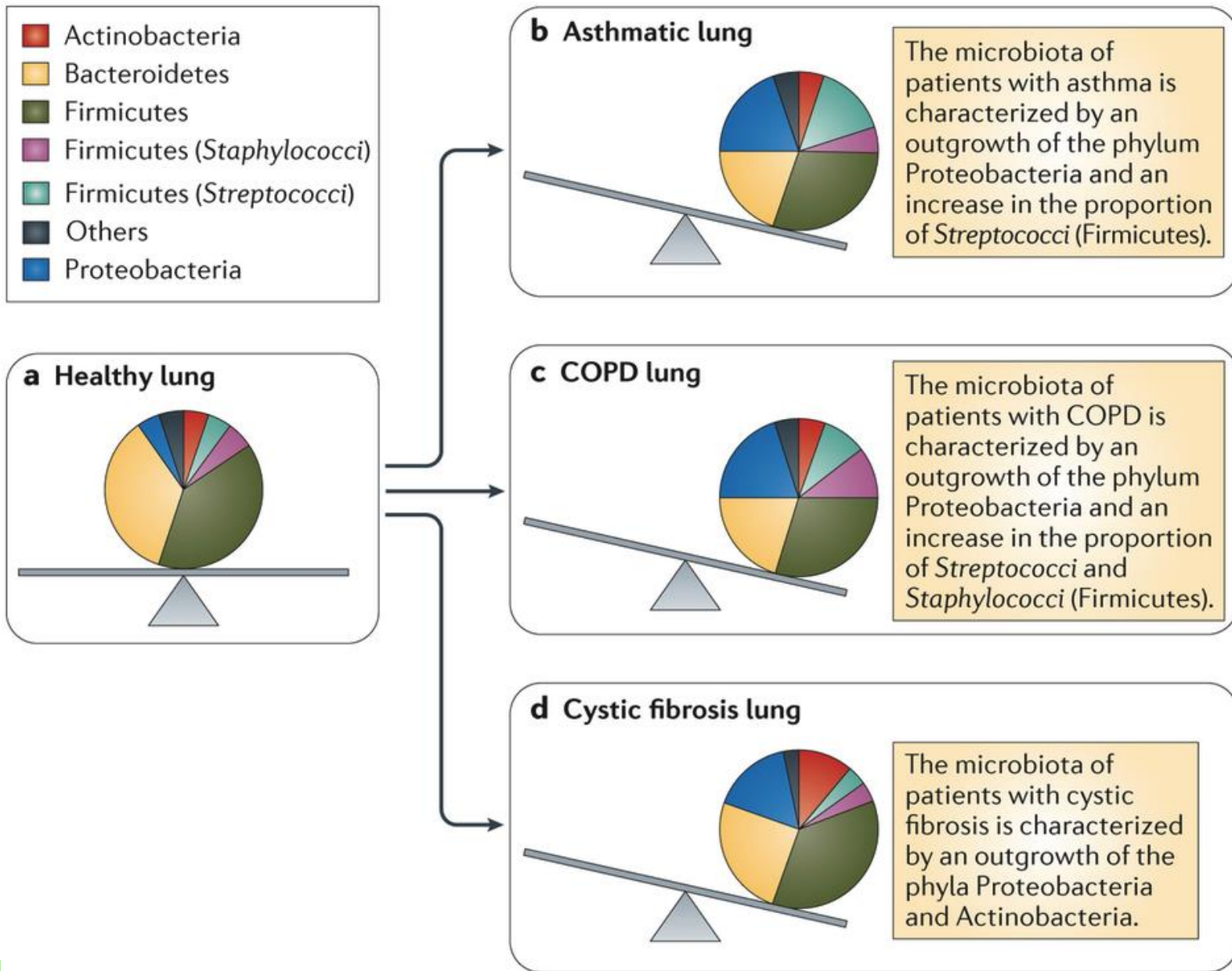
Diferencias entre Asma y EPOC (cont.)



- Asma y EPOC: ↑ Proteobacteria y Firmicutes
↓ Bacteroides

Controls	Asthma	COPD
● <i>Streptococcus</i> spp. (33%)	● <i>Lactobacillus</i> spp. (30%)	● <i>Lactobacillus</i> spp. (35%)
● <i>Neisseria</i> spp. (22%)	● <i>Streptococcus</i> spp. (28%)	● <i>Streptococcus</i> spp. (24%)
● <i>Prevotella</i> spp. (13%)	● <i>Pseudomonas</i> spp. (16%)	● <i>Pseudomonas</i> spp. (10%)
● <i>Veillonella</i> spp. (8%)	● <i>Neisseria</i> spp. (6%)	● <i>Neisseria</i> spp. (5%)

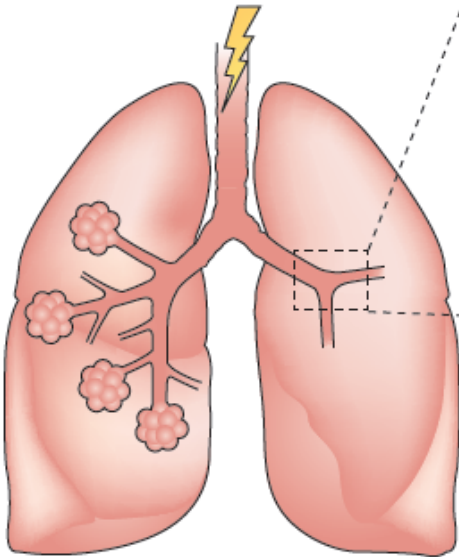
Bacterial dysbiosis



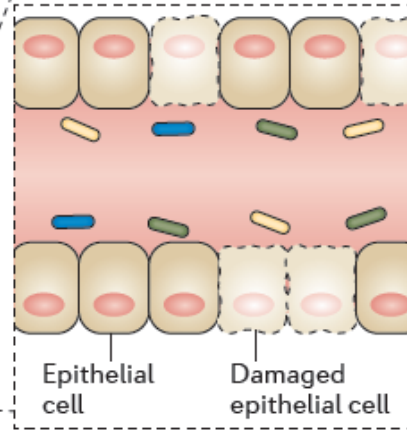
Mecanismo de la inflamación crónica

c Mechanisms of chronicity

Exposure to cigarette smoke and pollutants



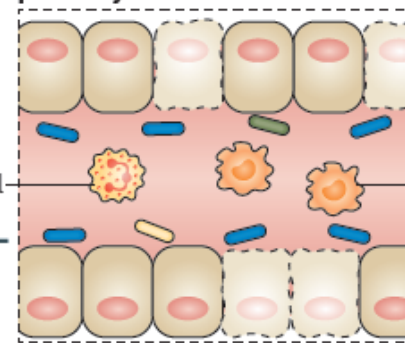
Tissue damage



Epithelial cell

Damaged epithelial cell

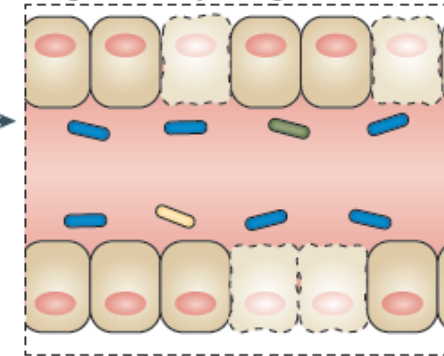
Promotion of inflammatory pathways



Neutrophil

Macrophage

Bacterial dysbiosis – outgrowth of pathogenic bacteria



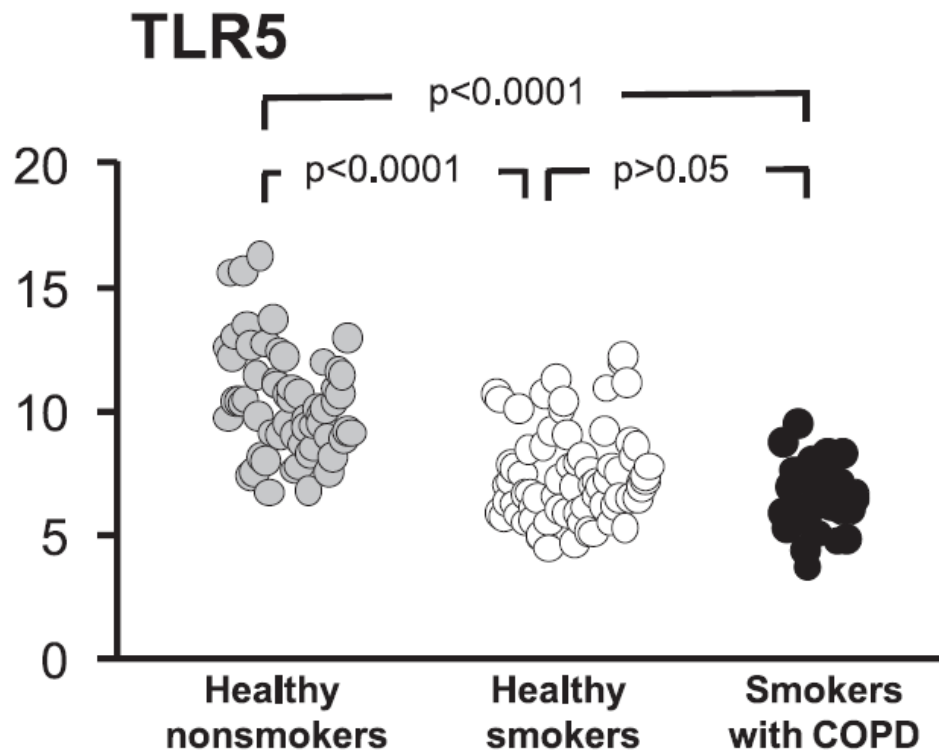
Microorganismos y Pattern Recognition Receptors (PRRs)

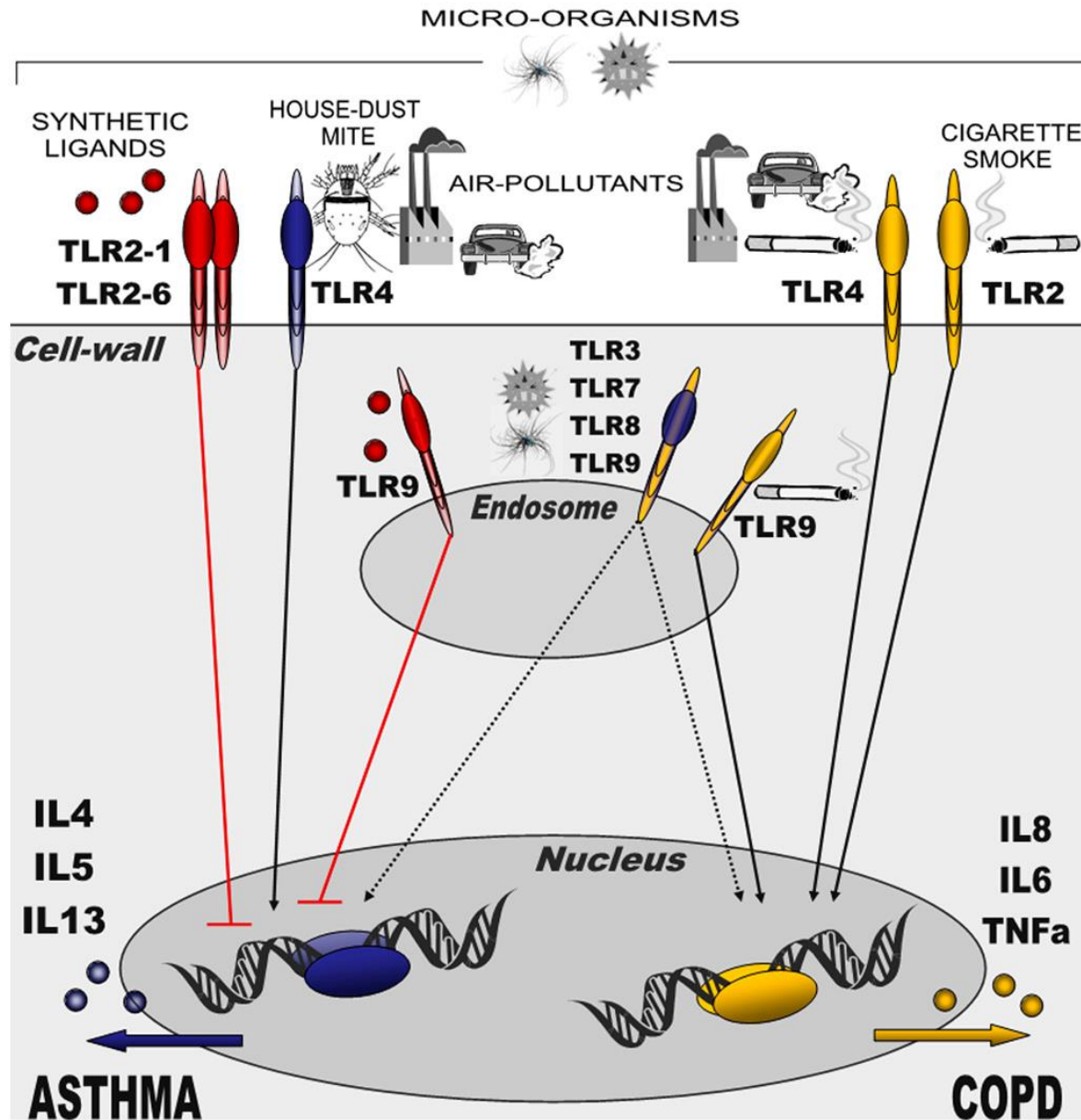
Table 2. Bacterial Ligands That Trigger Signal-Transduction Pathways in the Respiratory Tract through Pattern-Recognition Receptors.*

Pattern-Recognition Receptor	Bacterial Ligand	Bacterial Species
TLR1	—	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
TLR2	P6, P2 porin, lipoproteins	<i>Haemophilus influenzae</i>
	Lipoteichoic acid, pneumolysin	<i>S. pneumoniae</i>
TLR4	Lipo-oligosaccharide	<i>H. influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Pneumolysin, lipoteichoic acid	<i>S. pneumoniae</i>
CD14	Lipo-oligosaccharide	<i>H. influenzae</i>
Lipopolysaccharide-binding protein	Lipo-oligosaccharide	<i>H. influenzae</i>
	Peptidoglycan	<i>S. pneumoniae</i>
TLR-5	Flagellin	<i>P. aeruginosa</i>
TLR-7	—	<i>H. influenzae</i>
TLR-9	CpG dinucleotides	<i>S. pneumoniae</i>
NOD 1, NOD 2	Ubiquitous surface protein A1	<i>M. catarrhalis</i>
	Peptidoglycan	<i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i>
Carcinoembryonic antigen-related cell-adhesion molecule 1	Ubiquitous surface protein A1	<i>M. catarrhalis</i>
Platelet-activating factor receptor	Pneumolysin, lipoteichoic acid	<i>S. pneumoniae</i>
	Ubiquitous surface protein A2	<i>M. catarrhalis</i>
C-reactive protein	Phosphorylcholine	<i>S. pneumoniae</i>

Airway Epithelial Expression of TLR5 Is Downregulated in Healthy Smokers and Smokers with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Rui Wang,^{*,1} Joumana Ahmed,^{*,1} Guoqing Wang,^{*} Ibrahim Hassan,[†] Yael Strulovici-Barel,^{*} Jacqueline Salit,^{*} Jason G. Mezey,^{*,‡} and Ronald G. Crystal^{*}





Tolerancia

- Pacientes con fibrosis quística que tienen colonización crónica con *Pseudomonas* tienen un aumento de Monocitos tipo 2 (M2)
- M2 tienen una expresión reducida de citoquinas inflamatorias ($\text{TNF}\alpha$) y aumento de citoquinas anti-inflamatorias (IL-10)
- M2 tienen una capacidad reducida de presentar antígenos y de responder a endotoxinas.
- Pacientes con tolerancia a *Pseudomonas* tienen mejor tolerancia al trasplante

“Hipótesis del círculo vicioso”

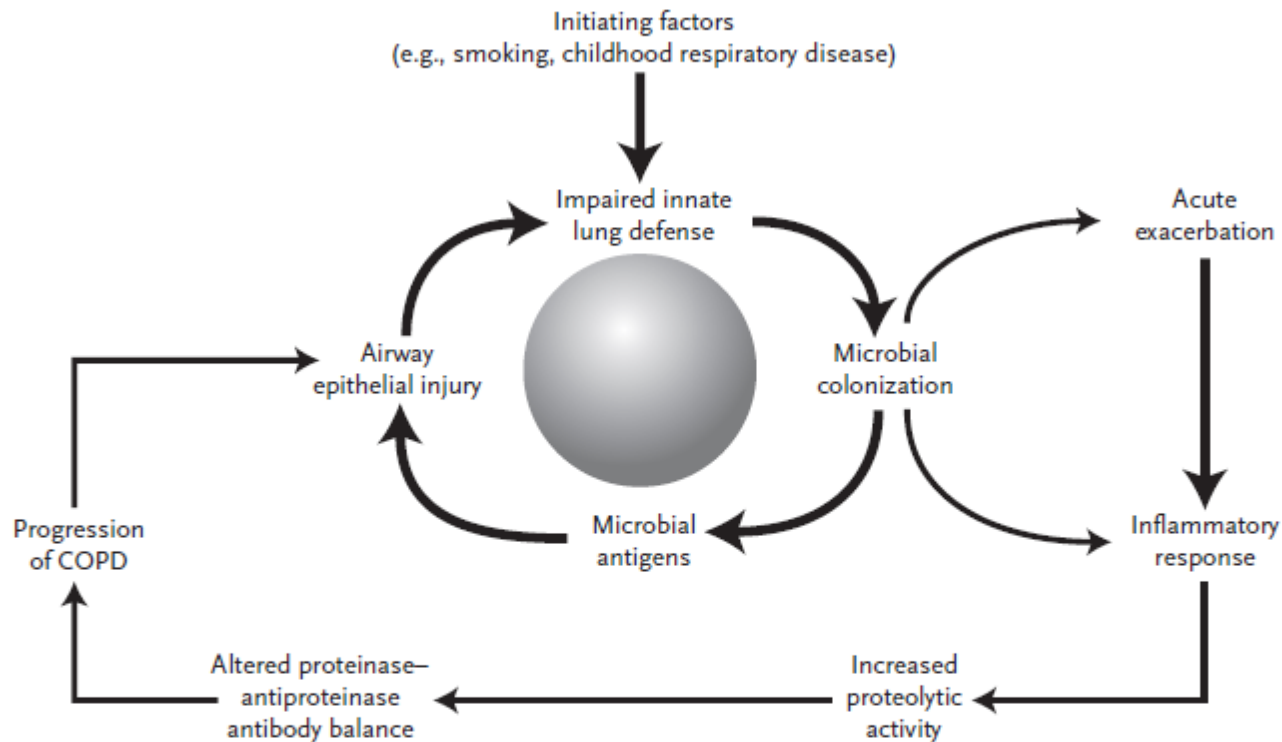


Figure 3. The Vicious-Circle Hypothesis of Infection and Inflammation in COPD.

After the initial insult impairs innate lung defense, microbial colonization perpetuates a cyclical sequence of events that contributes to the persistent inflammation and infection that are characteristic of COPD.

Conclusiones

- El aparato respiratorio no es estéril.
- La flora microbiana es diversa y varia dependiendo de la localización anatómica.
- Los pacientes con EPOC severa tienden a tener menos diversidad microbiológica.
- Tabaco y otros irritantes afectan el sistema inmune y favorecen la dysbiosis.
- Individualidad genética es muy probable que influya en el mecanismo inmune.



MAYO CLINIC 1914

MUCHAS GRACIAS

Microorganismos en COPD

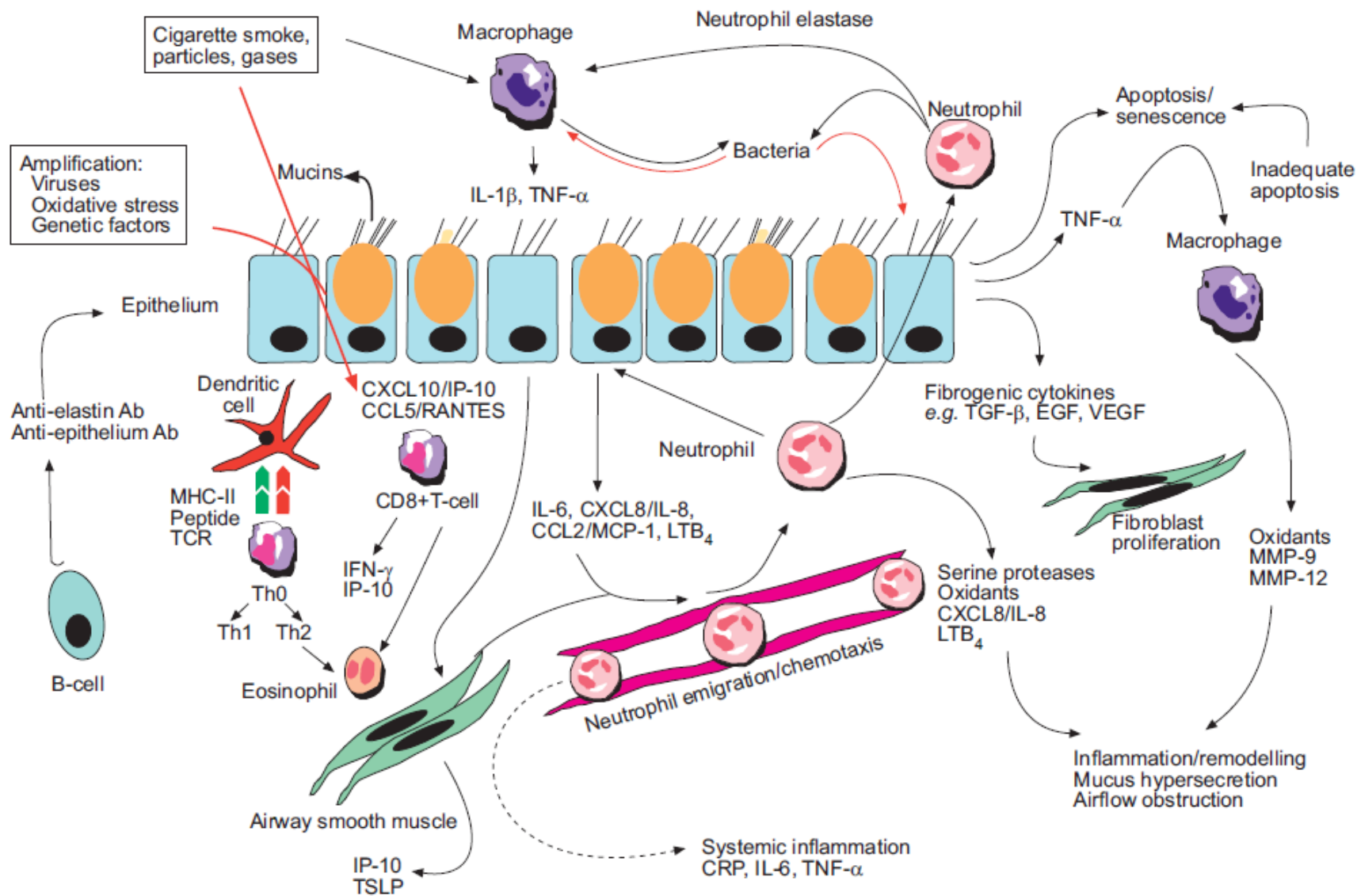
Table 1. Microbial Pathogens in COPD.*

Microbe	Role in Exacerbations	Role in Stable Disease
Bacteria		
<i>Haemophilus influenzae</i>	20–30% of exacerbations	Major role
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10–15% of exacerbations	Minor role
<i>Moraxella catarrhalis</i>	10–15% of exacerbations	Minor role
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5–10% of exacerbations, prevalent in advanced disease	Probably important in advanced disease
Enterobacteriaceae	Isolated in advanced disease, pathogenic significance undefined	Undefined
<i>H. haemolyticus</i>	Isolated frequently, unlikely cause	Unlikely
<i>H. parainfluenzae</i>	Isolated frequently, unlikely cause	Unlikely
<i>Staphylococcus aureus</i>	Isolated infrequently, unlikely cause	Unlikely
Viruses		
Rhinovirus	20–25% of exacerbations	Unlikely
Parainfluenza virus	5–10% of exacerbations	Unlikely
Influenza virus	5–10% of exacerbations	Unlikely
Respiratory syncytial virus	5–10% of exacerbations	Controversial
Coronavirus	5–10% of exacerbations	Unlikely
Adenovirus	3–5% of exacerbations	Latent infection seen, pathogenic significance undefined
Human metapneumovirus	3–5% of exacerbations	Unlikely
Atypical bacteria		
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	3–5% of exacerbations	Commonly detected, pathogenic significance undefined
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1–2% of exacerbations	Unlikely
Fungi		
<i>Pneumocystis jiroveci</i>	Undefined	Commonly detected, pathogenic significance undefined

Sumario

- Los estudios son muy diversos (Grado de severidad de la enfermedad, Uso de tabaco, Tipo de muestra, Lugar de la muestra, Estudio bioinformático)
- El aparato respiratorio no es estéril.
- La flora microbiana cambia dependiendo de la localización anatómica.
- Los pacientes con EPOC severa tienden a tener menos diversidad microbiológica.
- Individualidad genética es muy probable que influya en el mecanismo inmune.

Inflamación en EPOC



Microorganismos e inflamación

- Diferentes microorganismos (o antígenos de esos organismos) contribuyen al desarrollo de la inflamación de forma directa o indirecta amplificando la respuesta inflamatoria del huésped.

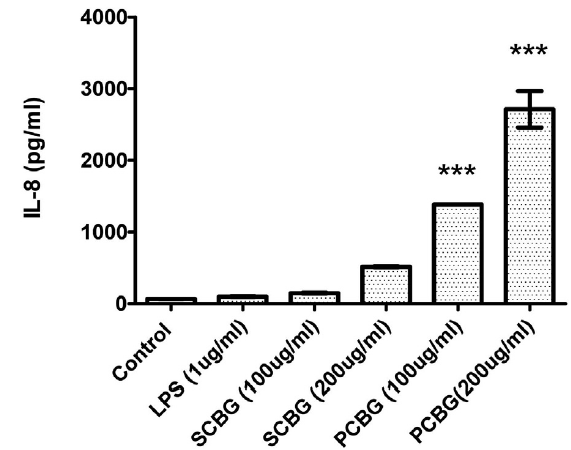
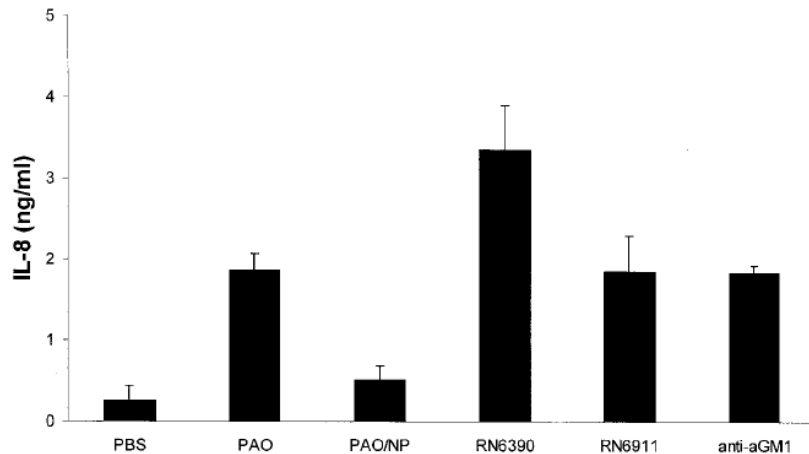
Cystic Fibrosis Pathogens Activate Ca^{2+} -dependent Mitogen-activated Protein Kinase Signaling Pathways in Airway Epithelial Cells*

Vol. 276, No. 22, Issue of June 1, pp. 19267–19275, 2001

THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY

Pneumocystis cell wall β -glucan stimulates calcium-dependent signaling of IL-8 secretion by human airway epithelial cells

Carmona et al. *Respiratory Research* 2010, 11:95



Diferentes géneros

B

