



Septiembre 2023

Grupo de Trabajo de Infecciones Respiratorias

Revisor

Cristian Launes

Referencia del artículo

Kelly MS, Plunkett C, Yu Y, et al. Non-diphtheriae *Corynebacterium* species are associated with decreased risk of pneumococcal colonization during infancy. *ISME J.* 2022;16:655-665.

Pregunta y tipo de estudio

Se ha demostrado que la microbiota, el conjunto de microorganismos que viven en nuestro cuerpo, desempeña un papel importante en la salud y la enfermedad. El tracto respiratorio alberga una comunidad diversa de microorganismos, incluidas bacterias, virus, hongos y arqueas. Algunos estudios sugieren que estos microorganismos podrían desempeñar una serie de funciones importantes regulando la salud respiratoria mediante la modulación de la respuesta inflamatoria y la regulación de la inmunidad.

En este estudio, se recolectaron muestras de frotis nasofaríngeo de 179 unidades familiares (madre-bebé) en Botswana. Las unidades familiares fueron seguidas desde el nacimiento hasta los 12 meses de edad, recogiendo frotis nasofaríngeos y cuestionarios de hábitos de salud mensualmente entre los 0 y 6 meses de vida y cada dos meses, después.

Los autores describen la evolución de la microbiota de estas unidades familiares a lo largo de los primeros 12 meses de vida, evalúan la estabilidad de la microbiota en base a biotipos o perfiles, identifican factores externos que pueden modificarlos, y analizan las relaciones sinérgicas o antagónicas con *S. pneumoniae*.

En todas las muestras se realizó análisis de microbiota mediante secuenciación del RNA 16S ribosomal y también detección de *S. pneumoniae* por PCR específica. Para describir mejor los biotipos, los autores clasificaron cada muestra nasofaríngea según si un género único representaba el 50% o más de las lecturas de secuenciación en esa muestra. Las muestras en las que ningún género cumplía este umbral de abundancia relativa se categorizaron como "biodiversas". Consideraron que el perfil de una muestra era "estable" si la siguiente muestra de ese individuo se clasificaba como el mismo biotipo.

Finalmente, se cultivaron en medios líquidos algunas de las diferentes especies de *Corynebacterium* aisladas muestras nasofaríngeas de los niños, y se centrifugaron para enfrentar el sobrenadante con medios de cultivo con *S.pneumoniae*.

Resumen

Corynebacterium, *Dolosigranulum*, *Haemophilus*, *Moraxella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*, representaron más del 90% de las lecturas de secuenciación identificadas en las muestras nasofaríngeas de bebés recopiladas a partir de un mes de edad. Sólo en la visita de nacimiento (primeras 72 horas de vida) fueron abundantes otros géneros bacterianos, como *Acinetobacter*, *Gardnerella*, *Lactobacillus* y *Sneathia*. La composición en cada visita del estudio difirió de la visita anterior, desde el nacimiento hasta los cinco meses de edad. Si bien la composición de la microbiota materna en la visita de nacimiento era diferente a la composición infantil en todas las visitas del estudio, esa disparidad aumentaba con la edad, lo que indica una divergencia progresiva del perfil de los niños con respecto a los adultos durante los primeros 12 meses de vida.

Los biotipos microbiológicos más comunes fueron: biodiverso (n = 524; 38%), dominado por *Moraxella* (n = 343; 25%), dominado por *Corynebacterium* (n = 153; 11%) y dominado por *Staphylococcus* (n = 142; 10%). En comparación con el perfil de microbiota biodiversa, se observó una tendencia a una mayor estabilidad a lo largo de las sucesivas visitas con un biotipo dominado por *Moraxella*, mientras que se observó una menor estabilidad con los biotipos dominados por *Dolosigranulum*, *Haemophilus* y *Streptococcus*. Los cambios más sustanciales en la composición estuvieron asociados con la exposición reciente a antibióticos, haber recibido la vacuna conjugada neumocócica 13-valente (PCV13), la lactancia materna y haber recogido el frotis en la estación de invierno. Las exposiciones a antibióticos se asociaron con disminuciones en las abundancias relativas de *Corynebacterium* y *Lactobacillus*, y aumentos en las abundancias relativas de *Haemophilus*, *Moraxella*, *Streptococcus*. Del mismo modo, durante los meses de invierno, la abundancia relativa de *Corynebacterium* disminuyó y se acompañó de un aumento en la abundancia relativa de *Haemophilus*. La lactancia materna se asoció con un aumento en la abundancia relativa de *Corynebacterium* y disminuciones en las abundancias relativas de *Haemophilus*, *Moraxella* y *Streptococcus*.

Para identificar las características de la microbiota que estaban relacionadas con la colonización por *S. pneumoniae*, se realizó un subestudio en el que se evaluaron los biotipos y su asociación con la adquisición de *S. pneumoniae* en visitas posteriores. Se encontró que un biotipo dominado por *Corynebacterium* se asoció con un menor riesgo de colonización por *S. pneumoniae*, mientras que el riesgo aumentó durante los meses de invierno y con cada miembro adicional en el hogar. Además, se observó que la administración de dosis de la vacuna PCV-13 redujo el riesgo de colonización. Para explorar aún más la asociación negativa entre las especies de *Corynebacterium* y *S. pneumoniae*, los autores clasificaron las muestras en cuartiles según la abundancia relativa (fracción que representaba respecto al total de microorganismos presentes en la muestra) de *Corynebacterium*. El cociente de riesgos para la colonización neumocócica disminuyó con cada aumento sucesivo en el cuartil.

Para finalizar, investigaron más a fondo la inhibición de *S. pneumoniae* por especies de *Corynebacterium*, mediante el cultivo de muestras nasofaríngeas de estos bebés en medios selectivos. Se consiguieron aislar 35 cepas morfológicamente distintas de *Corynebacterium* correspondientes a 21 lactantes, que incluyeron cepas de *C. accolens* (n = 21), *C.*

tuberculostearicum (n = 5), *C. pseudodiphtheriticum* (n = 4), *C. coyleae* (n = 2), *C. propinquum* (n = 2) y *C. striatum* (n = 1). Se observó inhibición del crecimiento neumocócico en las especies *accolens*, *tuberculostearicum*, *coyleae* y *striatum*.

Comentario del revisor: qué aporta e implicaciones clínicas y de investigación

En los últimos 10 años especialmente, diversos grupos de investigación han estudiado el rol de la microbiota nasofaríngea como potencial elemento modulador de la gravedad de las infecciones virales y bacterianas respiratorias. Se han postulado como potenciales mecanismos causales de esta modulación la regulación del sistema inmune -en los dos sentidos: con microbiotas que promueven un estado protector y otras, proinflamatorias (1, 2)-, la protección del epitelio respiratorio (3), y la prevención del sobrecrecimiento de patobiontes o colonizadores potencialmente patógenos (4). Existen microbiotas de riesgo para presentar una enfermedad más grave descritas para diversas infecciones, como VRS (5), rinovirus (6), neumococo (7), SARS-CoV-2 (8) y, en general, infecciones virales y el desarrollo de asma (9).

Si bien existen múltiples estudios que describen la microbiota en situaciones de infección, habitualmente se describen cortes transversales y hasta estos últimos 2-3 años, no ha sido tan frecuente la bibliografía que realizara seguimientos longitudinales, aun menos en países en vías de desarrollo. A pesar de ser un estudio realizado en un medio tan diferente, los hallazgos descritos en esta población (sobre todo los relativos a la composición) son similares a los observados en países desarrollados. Un “starter kit” dominado por microbiota vaginal, rectal y cutánea de la madre, pasa rápidamente a un biotipo donde *Staphylococcus* es el dominante las primeras semanas de vida, y dando paso posteriormente a *Corynebacterium*, *Dolosigranulum* y, como biotipo principal ya a partir de los 6 meses, el dominante en *Moraxella*. Un elemento a tener en cuenta, por sus implicaciones clínicas, es que una transición lenta con un paso más prolongado por el estado de dominancia de *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* se ha descrito como protector de infecciones respiratorias del tracto inferior (10). En cuanto a los hallazgos ambientales asociados a esta microbiota saludable, al igual que en este estudio, en la literatura internacional destacan la lactancia materna, el parto vaginal, la ausencia de tratamientos antibióticos previos, y las vacunaciones (11). Las similitudes entre las microbiotas de países tan diferentes pueden ser explicables por el hecho de que la lactancia materna, de donde proviene la microbiota de los primeros meses de vida, suponga el nexo común entre ambas poblaciones.

Otro elemento que pone en valor este estudio es que intenta establecer si la asociación negativa observada entre el biotipo rico en *Corynebacterium* y la colonización por *S. pneumoniae* cumple criterios de causalidad al cuantificar el riesgo por cuartiles según el % o dominancia de *Corynebacterium* sobre el resto de microorganismos, y también haciendo el test de inhibición en medios de cultivo. Además, es bien conocido que una de las limitaciones de los estudios de microbiota es que habitualmente ofrecen información sobre géneros, pero no puede llegarse a la tipificación precisa de especie con el análisis bioinformático habitual. Los autores se sobreponen a esa limitación gracias, especialmente, a los cultivos; con lo que consiguen concretar qué especies de *Corynebacterium* son las que producen esta inhibición. Por todo ello, además, de la secuencia temporal observada en dicha asociación, pueden establecer con seguridad qué microbiota resulta protectora de la

colonización por neumoco, y los propios autores lo describen como un potencial abordaje preventivo de la infección invasiva neumocócica en el futuro.

A parte de los potenciales abordajes preventivos o terapéuticos que pueda ofrecer la investigación en microbiota, con resultados prometedores en el campo de la intestinal, pero aún muy pocas incursiones en la respiratoria, en lo que coinciden los estudios es en destacar su utilidad como “biomarcador” de riesgo de las infecciones respiratorias virales, así como poder identificar si determinadas detecciones virales son patógenas o coincidentales, todo ello según el perfil de microbiota (6, 11).

Entre las principales limitaciones de este estudio está que no realizó determinación de virus respiratorios, lo que hubiera sido especialmente interesante para ver si la estacionalidad como factor que observaron que influía en la composición de la microbiota se pudiera explicar por las infecciones virales estacionales. Por otro lado, también excluyeron los niños nacidos por cesárea.

En resumen, este estudio demuestra que ciertas especies de *Corynebacterium* pueden inhibir el crecimiento de *S. pneumoniae*, lo que sugiere un posible enfoque preventivo para la infección invasiva neumocócica. La investigación en microbiota nasofaríngea ofrece perspectivas prometedoras como biomarcador de riesgo y como base para enfoques preventivos y terapéuticos en las enfermedades respiratorias.

Bibliografía

1. Gollwitzer ES, Saglani S, Trompette A, Yadava K, Sherburn R, McCoy KD, Nicod LP, Lloyd CM, Marsland BJ. Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nat Med* 2014;20:642–647.
2. Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, Glickman JN, Siebert R, Baron RM, Kasper DL, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 2012;336:489–493.
3. Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012;336:1268–1273.
4. Man WH, de Steenhuijsen Piters WAA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol* 2017;8:51.
5. de Steenhuijsen Piters WAA, Heinonen S, Hasrat R, Bunsow E, Smith B, Suarez-Arrabal M-C, Chaussabel D, Cohen DM, Sanders EAM, Ramilo O, et al. Nasopharyngeal microbiota, host transcriptome, and disease severity in children with respiratory syncytial virus infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;194:1104–1115.
6. Penela-Sánchez D, Rocafort M, Henares D, et al. Impact of the bacterial nasopharyngeal microbiota on the severity of genus enterovirus lower respiratory tract infection in children: A case-control study. *Pediatr Pulmonol.* 2023;58:1728-1737.
7. Henares, D., Brotons, P., de Sevilla, M. F., Fernandez-Lopez, A., Hernandez-Bou, S., Perez-Argüello, A., Mira, A., Muñoz-Almagro, C., & Cabrera-Rubio, R. (2021). Differential nasopharyngeal microbiota composition in children according to respiratory health status. *Microbial genomics*, 7:000661.

8. Hurst, J. H., McCumber, A. W., Aquino, J. N., Rodriguez, J., Heston, S. M., Lugo, D. J., Rotta, A. T., Turner, N. A., Pfeiffer, T. S., Gurley, T. C., Moody, M. A., Denny, T. N., Rawls, J. F., Clark, J. S., Woods, C. W., & Kelly, M. S. (2022). Age-Related Changes in the Nasopharyngeal Microbiome Are Associated With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection and Symptoms Among Children, Adolescents, and Young Adults. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 75, e928–e937.
9. Teo SM, Mok D, Pham K, Kusel M, Serralha M, Troy N, Holt BJ, Hales BJ, Walker ML, Hollams E, et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host Microbe* 2015;17:704–715.
10. Bosch AATM, de Steenhuijsen Piteurs WAA, van Houten MA, et al. Maturation of the Infant Respiratory Microbiota, Environmental Drivers, and Health Consequences. A Prospective Cohort Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196:1582-1590.
11. Koenen MH, de Steenhuijsen Piteurs WAA, Bogaert D, Verhagen LM. The microbiota in respiratory tract infections: from association to intervention. *Curr Opin Infect Dis*. 2022;35:215-222.