

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA RESPIRATORIO EN
PACIENTES CON BRONQUIECTASIAS Y SU IMPACTO EN EL
CURSO DE LA ENFERMEDAD
PROYECTO BRONCHI-OMICS**

Autor:

FILIPPE GONÇALVES DOS SANTOS CARVALHO

TESIS DOCTORAL

Directores:

Alicia Marín Tapia
Cristina Prat Aymerich

Tutor:

Ignasi García Olivé

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

Universidad Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2024

Dedicada a mi mentora y referencia, Alicia Marín

Why do we fall, sir?
So that we can learn to pick ourselves up!

Agradecimientos...

*A mis directoras de tesis, **Alicia Marín** y **Cristina Prat**, así como a mis dos tutores, **Eduard Monsó** y **Nacho García**. Todos han sido fundamentales en el desarrollo de esta tesis.*

***Alicia**, a ti debo esta tesis. Has sido y serás siempre mi mentora, mi referencia como profesional y como persona, una luchadora durante toda vida. Y a pesar de todas las vicisitudes que viviste a nivel personal, y que vivimos estos años con el desarrollo del proyecto, has sabido siempre levantar cabeza y tirar adelante. Gracias por confiarme la responsabilidad del enorme proyecto que es Bronchi-Omics. A ti debo gran parte de mis logros profesionales de los últimos años y por esto te estaré eternamente agradecido.*

***Cristina**, también un agradecimiento muy especial. Sin tu colaboración, esto hubiese sido enormemente más difícil. A pesar de la distancia, has estado siempre muy pendiente de los avances del proyecto. Tu capacidad de trabajo es impresionante y contagia.*

***Eduard**, muchas gracias por todo el apoyo. Tu larga experiencia en la investigación y tú talento innato en la interpretación de la ciencia nos ha inspirado y ha contribuido al alto nivel que tiene este proyecto.*

***Nacho**, “mi jefe” y compañero de carreras por la montaña. Muchas gracias por haber aceptado formar parte de este proyecto. Has sido, desde el inicio, otra pieza fundamental, tanto en Bronchi-Omics, como en el desarrollo de esta tesis. Tus consejos, pragmatismo y sentido común me han guiado a lo largo de estos años.*

*A todos los que participaron, de alguna forma, en Bronchi-Omics: a **Natalia**, por el apoyo fundamental en el proyecto y en todas las “becas”; a nuestras biólogas **Laura** y **Marina**, y más recientemente **Sara** y **Elisenda** y a los bioinformáticos **Cristian** y **João**, por su ayuda y predisposición en la última etapa; a **Alicia Francoso** por el soporte al inicio del proyecto; a todos los **investigadores principales** y sus **colaboradores** de todos los hospitales que participaron en este estudio; a **Laurita** y **Helena** por vuestra continua contribución y colaboración; a nuestras enfermeras de Hospital de Día **Montse** y **Cristina**, siempre predispuestas a “echarme una mano”; a nuestras enfermeras de pruebas funcionales respiratorias **Magalí** y **Pilar**, también siempre disponibles para ayudarme; a los microbiólogos **Alicia Lacoma** y **Adri**, nuestro microbiólogo de referencia, siempre con buena disposición y paciencia para mis “infinitas dudas microbiológicas”.*

A **Toni Z.** y a **Maca**, que nos apoyaron en momentos complicados del proyecto, rellanando esas “eternas” bases de datos.

A los compañeros de la planta de Neumología: los “mosqueteros y Milady de Winter”: **Carlos, Zoran, Nacho** (una vez más) y **Saló**. Me considero un privilegiado por formar parte de este maravilloso equipo y poder compartir mis batallas de “plantero” con cada uno de vosotros. Habéis sido fundamentales, sobre todo en la recta final de esta tesis. Muchas gracias por vuestra incasable disponibilidad.

Al **Servicio de Neumología de Can Ruti: enfermería, fisioterapia, administrativas**, a nuestros **residentes**, con especial agradecimiento a **los que rotaron conmigo** y a todos los **compañeros Neumólogos**. Este grupo de personas fantásticas hace que cada día en el hospital sea más fácil y ameno. A mi jefe **Jorge Abad**, un agradecimiento muy especial. **Jorge**, si he podido desarrollar este proyecto y logrado llegar a dónde estoy, en buena parte es gracias a ti. Jamás olvidaré tu frase, un día en tu despacho: “ten paciencia... yo no me olvido de ti”. Al “jefe” **Juan Ruíz**, excelente médico y persona, siempre acompañando mis logros profesionales y personales. A **Toni Rosell**, por el apoyo estos últimos años y por incentivarnos a ir siempre más allá.

A mis viejos, **Sonia** y **Carlos**, mi familia de Barcelona. **Sonia**, mi co-R favorita. Muchas gracias todo lo que me has apoyado en esta tesis, a lo largo de estos 5 años. Señor **Carlos**. A pesar de estar lejos, usted sabe lo importante que es para mí, porque compartir buenos momentos hace que todo esto sea más fácil. A **Adela**, mi segunda mamá de Barcelona. Amiga y siempre atenta con nosotros. Muchas gracias por cuidarme tanto.

A mis vitellos **Carlos, Dani** y **Nacho** y a mis queridas **Gabi, Andrea, Margarida** y **Elena**. Compañer@s del hospital y de amig@s de la vida.

Aos meus **amigos do Ourondo**, camaradas de outras “batalhas”, lá bem longe, mas sempre presentes!

A toda a minha família maravilhosa, em especial ao meu avô **Joaquim**, por todos os seus ensinamentos, aos meus falecidos avós **Olinda, Irene** e **Henrique** e à minha querida e falecida tia **Isolina**. Aos meus pais **José** e **Gabriela**. Ambos incansáveis nesse momento chave que foi a inscrição na faculdade de Salamanca. Esse esforço permitiu que eu começasse o longo caminho da Medicina que culminou nesta tese. **Pai**, és um dos principais responsáveis para que eu pudesse chegar onde cheguei, com a tua capacidade de conseguir alcançar

*coisas que, para mim, seriam totalmente impossíveis. E **Mãe**, com esse teu dom especial, que nos momentos de mais stress conseguiste sempre tirar o peso dos meus ombros e proporcionar-me a tranquilidade necessária que permitiu alcançar todos os meus objetivos.*

*Aos meus manos, **Marta, David e Nuno**. Obrigado por cuidarem sempre tão bem do “menino xalipe” e por estarem pendentes da nossa família. E aos meus cunhados **Cristina, Paulo e Carolina**, ao meu afilhado **Gonçalo** e às minhas sobrinhas **Maria, Daniela e Júlia**, pela boa disposição e alegria que trazem à minha vida.*

*A mi **Martita**, mi querida esposa y compañera de vida. HoLa. También tienes tu parte en esta tesis. Gracias por todo el apoyo y paciencia, sobre todo en los últimos meses. Sin ti, este camino hubiese sido mucho más difícil. Gracias por hacerme tan feliz. Te quiero muchísimo.*

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARNr	Ácido ribonucleico ribosomal
ASV	Variantes de secuencia de amplicones
BHQ	Bronchiectasis Health Questionnaire
BQ	Bronquiectasias
BSI	Bronchiectasis Severity Index
CAT	COPD Assessment Test
CFTR	Regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística
CRG	Centro de Regulación Genómica de Barcelona
DCP	Discinesia ciliar primaria
E-FACED	Escala de gravedad multidimensional en bronquiectasias
EN	Elastasa del neutrófilo
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
FEF ₂₅₋₇₅	Flujo espiratorio forzado entre el 25 y el 75%
FEV ₁	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FQ	Fibrosis quística
FVC	Capacidad vital forzada
IBC	Infección bronquial crónica
IL	Interleuquina
MMP	Metaloproteinasa
mMRC	Escala de disnea modificada de la Medical Research Council
MNT	Micobacterias no tuberculosas
MPP	Microorganismo potencialmente patógeno
NET	Trampas extracelulares de neutrófilos
NGS	Secuenciación de nueva generación
OTU	Unidad taxonómica operativa
RGE	Reflujo gastroesofágico
RV	Volumen residual
Rx	Radiografía simples
SGRQ	St. George's Respiratory Questionnaire
TCAR	Tomografía computarizada de alta resolución
TIMP	Inhibidor tisular de metaloproteína
TLC	Capacidad pulmonar total

ÍNDICE

RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	19
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	21
1.1. Breves apuntes históricos de las bronquiectasias.....	21
1.2. Definición y Fisiopatología.....	22
1.2.1. Inflamación de las vías respiratorias y disfunción inmunológica.....	26
1.2.2. Disfunción del aclaramiento mucociliar.....	28
1.2.3. Daño pulmonar estructural.....	28
1.2.4. Infección de la vía aérea.....	29
1.3. Epidemiología y relevancia de las bronquiectasias como problema de salud pública.....	30
1.4. Diagnóstico de las bronquiectasias.....	30
1.5. Evaluación del paciente con bronquiectasias.....	32
1.5.1. Evaluación etiológica.....	32
1.5.2. Evaluación de la función pulmonar.....	34
1.5.3. Evaluación de la calidad de vida.....	34
1.5.4. Evaluación de la gravedad.....	35
1.6. Etiología de las bronquiectasias en adultos.....	36
1.6.1. Idiopáticas.....	38
1.6.2. Postinfecciosas.....	38
1.6.3. Asociadas a micobacterias no tuberculosas (MNT).....	38
1.6.4. Asociadas a enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).....	39
1.6.5. Asociadas a asma bronquial.....	39
1.6.6. Asociadas a inmunodeficiencias.....	39
1.6.7. Asociadas a discinesia ciliar.....	40
1.6.8. Asociadas a aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA).....	40
1.7. Manejo clínico de las bronquiectasias.....	41
1.7.1. Exacerbaciones.....	41
1.8. La infección en bronquiectasias.....	45
1.9. Técnicas microbiológicas independientes de cultivo.....	48

1.10.	El microbioma.....	49
1.11.	Análisis y evaluación del microbioma.....	49
1.11.1.	Análisis del bacterioma.....	49
1.11.2.	Análisis del micobioma.....	51
1.11.3.	Ecología: terminología y métricas.....	51
1.12.	Microbioma del pulmón sano.....	54
1.13.	Microbioma en bronquiectasias.....	56
2.	HIPÓTESIS.....	59
3.	OBJETIVOS.....	61
4.	METODOLOGÍA.....	63
4.1.	Diseño del estudio.....	63
4.2.	Población del estudio.....	63
4.2.1.	Centros participantes.....	63
4.2.2.	Criterios de inclusión.....	63
4.2.3.	Criterios de exclusión.....	63
4.2.4.	Definición del tamaño muestral.....	64
4.2.5.	Aspectos éticos.....	64
4.3.	Diagnóstico etiológico.....	64
4.4.	Visitas.....	68
4.5.	Variables clínicas y funcionales.....	68
4.5.1.	Visita basal (V0).....	68
4.5.2.	Visitas de seguimiento (V1-V2).....	69
4.5.3.	Visita 3 (V3).....	69
4.5.4.	Visita de exacerbación (VE).....	70
4.6.	Recogida, procesamiento y análisis de muestras.....	70
4.6.1.	Muestras de sangre.....	70
4.6.2.	Muestras de esputo.....	70
4.6.3.	Análisis de los marcadores de inflamación bronquial.....	72
4.6.4.	Análisis del microbioma respiratorio mediante amplificación y secuenciación.....	72
4.6.5.	Preparación de la librería para la determinación del microbioma bacteriano.....	73
4.6.6.	Preparación de la librería para la determinación del micobioma.....	74

4.6.7. Controles.....	75
4.6.8. Secuenciación.....	75
4.6.9. Evaluación del microbioma.....	75
4.7. Análisis estadístico.....	76
5. RESULTADOS.....	79
5.1. Características de la población del estudio.....	79
5.2. Análisis de la visita basal.....	83
5.2.1. Composición del microbioma.....	83
5.2.1.1. Composición del bacterioma.....	83
5.2.1.2. Composición del micobioma.....	89
5.2.2. Asociación entre microbioma y etiología de las bronquiectasias.....	90
5.2.3. Asociación entre microbioma y características de la enfermedad.....	92
5.2.3.1. Diversidad del microbioma y características de la enfermedad.....	92
5.2.3.2. Composición del microbioma y características de la enfermedad..	94
5.2.4. Asociación entre microbioma, inflamación y remodelado bronquial....	98
5.2.5. Asociación entre bacterioma y micobioma.....	104
5.3. Análisis de las visitas de seguimiento.....	105
5.3.1. Evolución del microbioma bacteriano en el tiempo.....	105
5.3.2. Asociación entre dominancia de género basal y la evolución clínica..	110
6. DISCUSIÓN.....	121
7. CONCLUSIONES.....	133
8. LÍNEAS DE FUTURO.....	135
9. BIBLIOGRAFÍA.....	137
10. ANEXOS.....	155
10.1. ANEXO I. Aprobación Comité de Ética de centros participantes.....	155
10.2. ANEXO II. Consentimiento informado.....	167
10.3. ANEXO III. Formularios de las visitas (V0, V1, V2, VE).....	173
10.4. ANEXO IV. Protocolo de recogida de muestras.....	207
10.5. ANEXO V. Diagrama de microbiología.....	213
10.6. ANEXO VI. Escala De Murray cuantificada y codificación de etiquetas y muestras.....	215
10.7. ANEXO VII. Premios.....	217

10.8. ANEXO VIII. Abstracts y Posters en congresos científicos nacionales e internacionales.....	219
10.8.1. Abstract 1. Microbiome characterization in patients with bronchiectasis and its association with severity and bronchial inflammation. Bronchi-Omics Project.....	219
10.8.2. Abstract 2. Caracterización del microbioma en los pacientes con bronquiectasias y su relación con la gravedad y la inflamación bronquial. Estudio Bronchi-Omics.....	221
10.8.3. Poster 1. Microbiome characterization in patients with bronchiectasis and its association with severity and bronchial inflammation. Bronchi-Omics Project.....	225
10.9. ANEXO IX. Otras publicaciones relevantes.....	227
10.9.1. Publicación 1. Profile of Clinical and Analytical Parameters in Bronchiectasis Patients during the COVID-19 Pandemic: A One-Year Follow-Up Pilot Study.....	227
10.9.2. Publicación 2. Advances in diagnostic tools for respiratory tract infections: ¿from tuberculosis to COVID-19 - changing paradigms?....	247
10.10. ANEXO X. Becas otorgadas y ayudas al grupo de investigación.....	263

RESUMEN

La infección bronquial desempeña un papel fundamental en la fisiopatología y progresión de las bronquiectasias. Los avances en las técnicas moleculares independientes del cultivo han mejorado nuestra comprensión de este proceso.

Esta tesis presenta el proyecto Bronchi-Omics que tiene como objetivo caracterizar el bacterioma y microbioma en pacientes con bronquiectasias, explorando posibles las asociaciones con la etiología de la enfermedad, resultados clínicos, patrones inflamatorios y remodelado bronquial, así como su impacto en la evolución de la enfermedad.

Para llevarlo a cabo se ha realizado un estudio multicéntrico y prospectivo en el que han participado nueve hospitales españoles y se han involucrado a 153 pacientes con bronquiectasias. Se recogieron muestras de esputo y sangre y se llevó a cabo el análisis del microbioma utilizando tecnología de secuenciación de nueva generación, dirigida a las regiones 16S rRNA bacteriana y ITS fúngica. Se evaluaron marcadores inflamatorios y de remodelado bronquial, así como de inflamación sistémica.

Los principales resultados del estudio revelaron que la composición del microbioma respiratorio en pacientes con bronquiectasias varía según la etiología de la enfermedad y está estrechamente relacionada con la gravedad clínica y los patrones inflamatorios.

En cuanto a los géneros dominantes, *Pseudomonas* y *Haemophilus*, ambos vinculados a una baja diversidad microbiana, mostraron asociaciones clínicas opuestas. Mientras que la dominancia de *Pseudomonas* se correlacionó con una mayor gravedad de la enfermedad y con una evolución menos favorable en el tiempo, *Haemophilus* se asoció con resultados clínicos más favorables, a pesar de su relación con un aumento en la inflamación y el remodelado bronquial. Por otro lado, el predominio de *Streptococcus* se relacionó con una alta diversidad microbiana y mejores resultados clínicos, con menor inflamación. A nivel fúngico, el equilibrio entre *Ascomycota* y *Basidiomycota* también influyó en la estabilidad del microbioma. También se observó que las medidas de distanciamiento social durante la pandemia de COVID-19 podrían haber afectado la diversidad del microbioma en los pacientes.

Estos hallazgos sugieren que tanto el bacterioma como el microbioma desempeñan un papel crucial en la evolución clínica de las bronquiectasias. Como tal, el microbioma puede ser una

herramienta valiosa para la estratificación de los pacientes y su análisis se podría integrar en estrategias de abordaje personalizado para las bronquiectasias.

ABSTRACT

Bronchial infection plays a crucial role in the pathophysiology and progression of bronchiectasis. Advances in culture-independent molecular techniques have enhanced our understanding of this process. This thesis presents the Bronchi-Omics project, which aims to characterize the bacteriome and mycobiome in patients with bronchiectasis, exploring potential associations with disease aetiology, clinical outcomes, inflammatory patterns, bronchial remodelling, and their impact on disease progression.

A multicentre, prospective study was conducted across nine hospitals in Spain, involving 153 patients with bronchiectasis. Sputum and blood samples were collected, and microbiome analysis was performed using next-generation sequencing technologies, targeting bacterial 16S rRNA regions and fungal ITS regions. Inflammatory and bronchial remodelling markers, as well as systemic inflammation markers, were assessed.

The main findings revealed that the composition of the respiratory microbiome in bronchiectasis patients varies according to the disease aetiology and is closely related to clinical severity and inflammatory patterns. Regarding dominant genera, *Pseudomonas* and *Haemophilus*, both linked to low microbial diversity, showed contrasting clinical associations. While *Pseudomonas* dominance correlated with greater disease severity and poorer longitudinal outcomes, *Haemophilus* was associated with more favourable clinical outcomes, despite its link to increased inflammation and bronchial remodelling. Conversely, *Streptococcus* dominance was associated with high microbial diversity and better clinical outcomes, with lower inflammation. On the fungal level, the balance between Ascomycota and Basidiomycota also influenced microbiome stability. Additionally, social isolation measures during the COVID-19 pandemic were observed to potentially influence microbiome diversity in these patients.

These findings suggest that both the bacteriome and mycobiome play a crucial role in the clinical evolution of bronchiectasis and underscore the importance of microbiome profiling in patient stratification and the potential for microbiome-based interventions in disease management.

1. INTRODUCCIÓN

Las bronquiectasias (BQ) no debidas a fibrosis quística (FQ) son una enfermedad pulmonar crónica caracterizada por la dilatación permanente de los bronquios que puede producirse por diferentes causas. Son consecuencia de un círculo vicioso que produce destrucción progresiva del parénquima que comprende la alteración del aclaramiento mucociliar, la inflamación, la infección y la reparación de la vía aérea, con diferencias según la etiología específica que desencadena la alteración inicial (1,2). El daño del sistema mucociliar dificulta la eliminación de las secreciones y facilita el crecimiento bacteriano, con consecuente infección e inflamación bronquial, responsables del daño estructural bronquial y de la perpetuación del círculo vicioso patogénico. Clínicamente suelen aparecer con tos crónica, expectoración y disnea (3), así como con exacerbaciones recurrentes de perfil infeccioso caracterizadas por síntomas de fiebre, expectoración mucopurulenta y disnea progresiva que se asocian con un empeoramiento de la calidad del vida y mayor morbilidad y mortalidad (4). La infección de las vías respiratorias, tanto aguda como crónica, desempeña un papel central en la fisiopatología de las BQ, en la progresión de la enfermedad y consecuentemente en la calidad de vida del paciente. Por lo tanto, el estudio del microbioma bronquial mediante técnicas de genómica puede contribuir a una mejor comprensión de la relación entre la microbiota bronquial y las BQ.

1.1. Breves apuntes históricos

Nos remontamos a hace más de dos siglos, cuando Laënnec describe por primera vez, en 1819, un paciente con BQ. Según él, se trataba de una *“...afección de los bronquios siempre producida por un catarro crónico, o por alguna otra enfermedad que produzca largos, violentos y repetidos golpes de tos”* (5). A lo largo del tiempo se han ido describiendo con más detalles las características de esta enfermedad, y algunos hitos han marcado su historia:

- En 1901, se realiza la primera resección quirúrgica con éxito en un paciente con BQ (6);
- En 1922, Jean Athanase Sicard introduce la técnica de la broncografía con contraste lo que supuso un enorme avance en la identificación de las BQ, por aquel entonces una enfermedad mortal;

- En 1950, Reid propone la primera clasificación de las BQ en tres tipos: cilíndricas, varicosas y quísticas, tras comparar los hallazgos broncográficos con las muestras histológicas, clasificación que aún seguimos utilizando a día de hoy (7).

Desde entonces, la situación ha cambiado considerablemente. La alta mortalidad que caracterizaba a las BQ hace un siglo, con formas quísticas extensas y hemoptisis severas – probablemente relacionadas con enfermedades endémicas como la tuberculosis pulmonar – ha dado paso a un panorama más esperanzador. Los progresos en el campo médico han contribuido a una mejoría significativa en la severidad y el pronóstico de la enfermedad. Las formas menos graves de BQ son ahora más prevalentes, y la mortalidad se ha reducido considerablemente. Por un lado, la disponibilidad de técnicas de diagnóstico más precisas, como la tomografía computarizada de alta resolución (TCAR), facilita la detección temprana de la enfermedad, permitiendo iniciar el tratamiento de forma oportuna. Por otro, el desarrollo de vacunas y antimicrobianos, y la incorporación de otros tratamientos, como la fisioterapia respiratoria han logrado un control más eficaz de las infecciones pulmonares, una de las principales causas de las BQ y han contribuido a mejorar la calidad de vida de los pacientes con BQ. Los avances en la investigación han permitido comprender mejor las causas y mecanismos fisiopatológicos de las BQ, lo que ha abierto nuevas posibilidades para el desarrollo de tratamientos más específicos y eficaces (8).

A pesar de todo, aún queda mucho camino por recorrer en la lucha contra las BQ. La investigación continúa buscando nuevas estrategias para prevenir la progresión de la enfermedad, mejorar la función pulmonar y la calidad de vida de los pacientes.

1.2. Definición y Fisiopatología

En definitiva, las BQ son una alteración de la anatomía bronquial, acompañada de unos cambios histológicos concretos. Macroscópicamente se caracterizan por dilataciones anormales e irreversibles de los bronquios (7). Se sabe que después de un episodio infeccioso o inflamatorio bronquial, sobre todo en niños (9), se han observado en ocasiones dilataciones bronquiales que pueden persistir hasta 3 o 4 meses y posteriormente desaparecer (10). Como tal, el diagnóstico de BQ debe confirmarse transcurridos 6 meses tras la resolución definitiva de la infección. Según la morfología de la dilatación bronquial, las BQ se clasifican como:

- ✓ Cilíndricas, si la dilatación bronquial es homogénea,
- ✓ Varicosas, si la dilatación es irregular,
- ✓ Quísticas, si la dilatación bronquial es sacular.

Histológicamente: los hallazgos son variados, desde cambios mínimos hasta inflamación aguda y crónica, acompañados frecuentemente de signos de fibrosis. A nivel de la luz bronquial, es característica la presencia de moco acompañado de células inflamatorias, indicativo de un estado patológico activo. En algunos casos, la mucosa bronquial puede presentar ulceraciones, erosiones o descamación, signos claros del daño crónico infligido por episodios recurrentes de inflamación. Además, se observa metaplasia epitelial, donde el epitelio bronquial normal es reemplazado por un tipo celular metaplásico, alterando así la función y estructura de las vías respiratorias (8).

Profundizando en la pared bronquial, la inflamación crónica se manifiesta por un denso infiltrado de células inmunitarias, incluyendo linfocitos, macrófagos y neutrófilos. Esta inflamación persistente puede evolucionar hacia la fibrosis, un proceso donde el tejido cicatricial reemplaza a los tejidos normales, comprometiendo la funcionalidad bronquial. En los casos más severos, esta situación puede escalar hasta la destrucción completa de la pared bronquial, afectando todas sus capas: mucosa, submucosa, capa muscular y cartilaginosa (8).

Los bronquiolos, estructuras distales a los bronquios principales, no escapan al impacto de esta enfermedad y pueden presentar patologías similares a las observadas en los bronquios, incluyendo inflamación, fibrosis y metaplasia epitelial. Adicionalmente, se puede producir la obliteración bronquiolar, donde los bronquiolos quedan parcial o completamente obstruidos, deteriorando severamente el flujo de aire. También es notable el incremento en el número de células neuroendocrinas dentro de los bronquiolos, un cambio que podría tener implicaciones significativas en la regulación local de las respuestas inflamatorias y vasculares (8).

A nivel alveolar, la actividad de la enfermedad determina la presencia y severidad de varios cambios patológicos. Puede observarse bronconeumonía, tanto en formas agudas como organizadas, con inflamación notable y daño al tejido alveolar. En ciertos casos, la fibrosis septal emerge, engrosando las paredes alveolares y comprometiendo el intercambio gaseoso. Otros cambios incluyen fenómenos obstructivos en el alveolo, enfisema con hiperinsuflación, atelectasias e hiperplasia linfoide, que reflejan la extensión y gravedad de la enfermedad (8).

Las alteraciones vasculares también son evidentes en este contexto, con la endarteritis obliterante manifestándose en las arterias pulmonares de zonas fibrosas, lo cual reduce el flujo sanguíneo y puede contribuir al desarrollo de hipertensión pulmonar. Adicionalmente, tanto las arterias como las venas bronquiales pueden presentar hipertrofia, indicativo de una respuesta vascular adaptativa o patológica a la enfermedad crónica subyacente (11).

Cole et al proponen una explicación de la fisiopatología de las BQ mediante la hipótesis del círculo vicioso, que todavía nos guía en la actualidad (12). Este concepto se fundamenta en cuatro componentes diferentes: inflamación, daño estructural de las vías respiratorias, alteraciones del aclaramiento mucociliar e infección. Inicialmente se planteaba que el círculo vicioso se ponía en marcha por un daño estructural que conducía a las BQ, luego seguido por inflamación e infección. Pero este concepto ha ido evolucionando sobre todo por trabajos en los que se identificaron niños con una condición previa a las BQ llamada bronquitis bacteriana persistente que consiste en episodios de tos húmeda que no están, al menos inicialmente, asociadas con daño pulmonar estructural (13,14). Estos pacientes mostraban evidencia de una inflamación neutrofílica e infección de las vías respiratorias similares a los pacientes con BQ establecidas, lo que sugiere claramente que el círculo puede iniciarse en cualquiera de sus cuatro componentes principales.

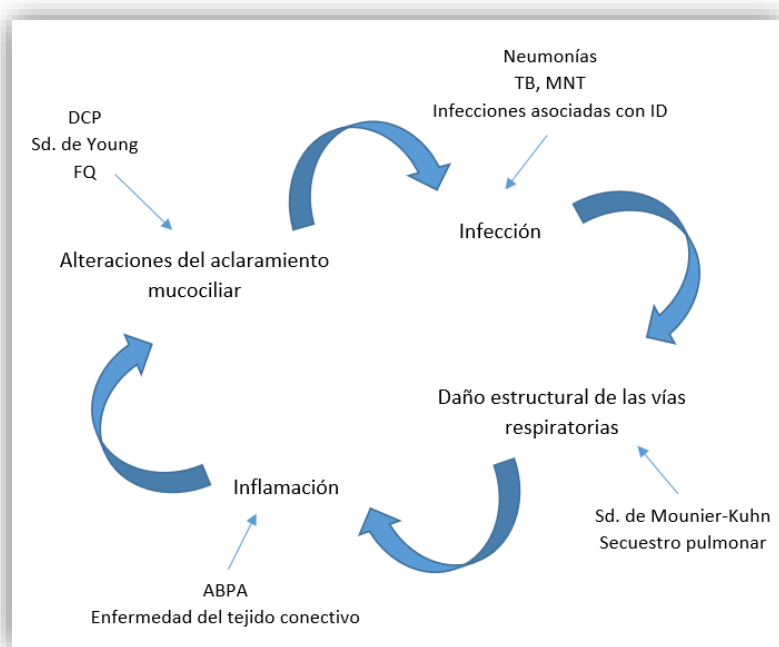


Figura 1: Componentes clave del círculo vicioso de las bronquiectasias, con el punto de entrada al ciclo, en función de la etiología. DCP: discinesia ciliar primaria; Sd.: síndrome; FQ: fibrosis quística; TB: tuberculosis; MNT: micobacterias no tuberculosas; ID: inmunodeficiencia; ABPA: aspergilosis broncopulmonar alérgica (modificada de (15)).

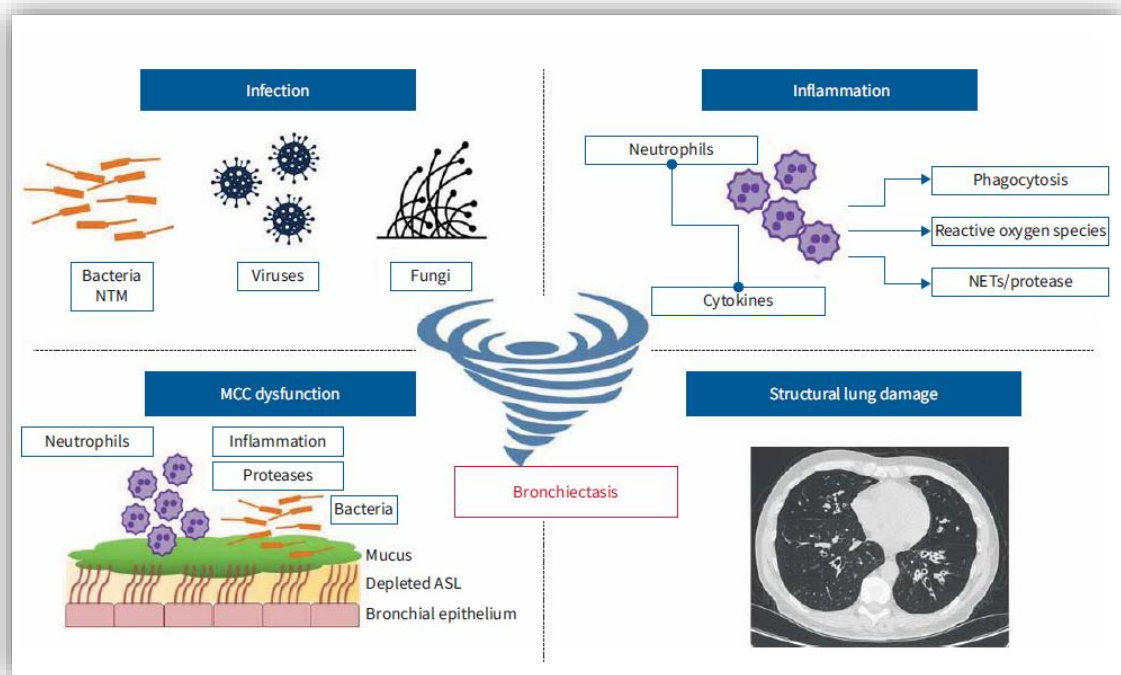


Figura 2: Los cuatro factores clave en BQ: infección, inflamación, la disfunción del aclaramiento mucociliar y el daño estructural pulmonar. Estos elementos están interrelacionados de manera compleja, y cada uno puede influir en los otros, lo que se describe como un "círculo vicioso". ASL: líquido de superficie aérea; NET: trampa extracelular de neutrófilos; NTM: micobacterias no tuberculosas (16)

En resumen, las BQ son el resultado final de enfermedades o agresiones que afectan a la vía aérea, y que, independientemente de la etiología que las provoca, presentan una fisiopatología común. Además, su gravedad dependerá, en gran medida, de la causa inicial y de la posibilidad de tratarla para lograr frenar la evolución de la enfermedad. Sin embargo, una vez establecidas las BQ, la infección e inflamación perpetúan el círculo vicioso, y, por lo tanto, promueven la progresión de la enfermedad. Intentar "romper" este círculo es una de las dianas terapéuticas actuales en las BQ, como los antibióticos inhalados y los fármacos antiinflamatorios. Y además de tratar de romper este círculo vicioso en un solo punto, que sabemos que no evita eficazmente su perpetuidad, se plantea cada vez más un manejo integral de los "rasgos tratables", como en otras enfermedades respiratorias crónicas (17). Este abordaje propone un manejo más personalizado del paciente, potencialmente guiado por biomarcadores específicos de la enfermedad, que se expondrán con más detalle en el siguiente apartado.

1.2.1. Inflamación de las vías respiratorias y disfunción inmunológica

La presencia de microorganismos potencialmente patógenos en la vía aérea de los pacientes con BQ activa la respuesta inmune con la consiguiente respuesta inflamatoria persistente responsable de gran parte de la fisiopatología de esta enfermedad (18). Además, se sabe que la carga bacteriana se correlaciona con marcadores de inflamación de las vías respiratorias (19). Los pacientes con BQ, concretamente aquellos con enfermedad grave, muestran una infiltración extensa de las vías respiratorias por células inflamatorias, y el esputo de los pacientes con BQ contiene abundantes neutrófilos y otras células inflamatorias (20). Este infiltrado inflamatorio representa el resultado final de una serie de respuestas coordinadas, incluido el reclutamiento, la activación y la retención de células inflamatorias (respuestas proinflamatorias) y el fracaso de las respuestas antiinflamatorias, como la apoptosis de las células inflamatorias, la eliminación de las células apoptóticas y la resolución de la liberación de mediadores inflamatorios y la reparación epitelial (21–23).

En las BQ, los neutrófilos emergen como las células inflamatorias más abundantes en las vías respiratorias y se consideran determinantes clave en la severidad y evolución de la patología. Estos leucocitos se reclutan en los pulmones en respuesta a una gama de citoquinas incluyendo la interleuquina (IL)-8, IL-1 β , IL-17 y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), además de factores quimiotácticos (24,25). Su función principal es orquestar la defensa inmunológica a través de la fagocitosis de bacterias, un proceso crítico para limitar la propagación de infecciones. Sin embargo, los neutrófilos también participan en la degranulación, liberando especies reactivas de oxígeno y proteasas como la elastasa del neutrófilo (EN), que si bien son esenciales para la destrucción de patógenos, también pueden provocar un daño tisular considerable si se liberan de forma descontrolada (26).

La EN es una proteasa potente que puede escindir e inactivar diversas proteínas del huésped, incluidos los receptores celulares implicados en la eferocitosis, proceso por el cual los macrófagos reconocen y eliminan células moribundas, los péptidos antimicrobianos y las proteínas estructurales de la matriz extracelular. Estos mecanismos contribuyen a un entorno inflamatorio sostenido y a una degradación tisular progresiva.

Adicionalmente, los neutrófilos pueden formar trampas extracelulares de neutrófilos (NET, del inglés *neutrophil extracellular traps*), que son redes compuestas por ADN, proteínas histonas y proteasas. Estas estructuras juegan un rol crucial en atrapar y eliminar

microorganismos; no obstante, su formación excesiva se asocia con formas más severas de BQ debido al daño colateral que pueden causar en los tejidos pulmonares. Los avances recientes sugieren que las NET contribuyen no solo a la captura de patógenos sino también a la perpetuación de un ambiente inflamatorio crónico, que favorece el desarrollo de la fibrosis pulmonar y exacerbaciones de la enfermedad (27–29).

Además, patógenos comunes en las BQ, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* y *Staphylococcus aureus*, están involucrados en la formación y función de NET. Estos microorganismos no solo promueven la formación de NET sino que también pueden utilizar el ADN extracelular de las NET para la formación de biopelículas (en inglés *biofilms*), que son estructuras que protegen a las comunidades bacterianas de las respuestas inmunitarias del huésped y los tratamientos antibióticos (30–34). Más aún, algunos patógenos tienen la capacidad de degradar las NET, evitando así su efecto antimicrobiano y facilitando la evasión de la respuesta inmunitaria (35,36). Este fenómeno representa un desafío significativo en el manejo clínico de las BQ, pues la persistencia y virulencia de estos patógenos pueden exacerbar la inflamación y el daño pulmonar. Esta compleja interacción entre los neutrófilos y los patógenos subraya la necesidad de estrategias terapéuticas que no solo se enfoquen en controlar la inflamación y la infección, sino también en corregir las disfunciones inmunitarias subyacentes. Actualmente las investigaciones van dirigidas a identificar biomarcadores inflamatorios y estrategias para regular la actividad de las proteasas como la EN, lo que está generando nuevas vías para el tratamiento de las BQ (37). Por último, los eosinófilos, aunque menos predominantes, también desempeñan un papel relevante en las BQ, especialmente en contextos donde la inflamación es mediada por células T-helper tipo 2 (Th2). Se ha observado que hasta un 30% de los pacientes con BQ presentan un recuento elevado de eosinófilos en sangre y otros marcadores de inflamación Th2, lo que sugiere una variabilidad en los perfiles inflamatorios subyacentes de estos pacientes. Esta heterogeneidad en la respuesta inflamatoria puede influir en la elección de estrategias terapéuticas, subrayando la importancia de personalizar el tratamiento en función del perfil inflamatorio específico del paciente (38).

1.2.2. Disfunción del aclaramiento mucociliar

El epitelio respiratorio de individuos sanos está alineado con múltiples cilios móviles que agitan continuamente de forma coordinada, estableciendo así un sistema de transporte eficaz conocido como el ascensor mucociliar. Este sistema es fundamental para eliminar el moco, que atrapa bacterias, virus y partículas inhaladas y representa una de las primeras líneas de defensa contra infecciones en las vías respiratorias (39). Sin embargo, en las BQ se observa una disfunción notable de este sistema. La disfunción ciliar, junto con un incremento en la producción de moco, expone el epitelio respiratorio a infecciones recurrentes y crónicas. Esta disfunción puede ser inherente, como en los casos de discinesia ciliar primaria (DCP), que representa entre el 2% y el 10% de los casos de BQ y conduce a su aparición en la mayoría de los adultos afectados (40–42).

Además de las condiciones hereditarias como la DCP, factores ambientales y fisiológicos interconectados contribuyen a un aclaramiento mucociliar ineficaz en la mayoría de los pacientes con BQ. Estudios recientes indican que la inflamación crónica y las infecciones bacterianas, especialmente aquellas causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, disminuyen la frecuencia del batido ciliar y aumentan la producción de moco. Además, la EN también puede dañar el epitelio ciliado, reduciendo aún más la eficiencia del aclaramiento mucociliar (43,44).

1.2.3. Daño estructural de las vías respiratorias

Las BQ son intrínsecamente una anomalía estructural caracterizada por la dilatación de los bronquios, reflejando daños significativos en la pared bronquial. Este daño estructural puede actuar tanto como causa como consecuencia de las BQ. Entre los factores etiológicos se encuentran condiciones genéticas como la FQ y la DCP, así como malformaciones congénitas, obstrucción bronquial, enfermedades del tejido conectivo, o daños secundarios a infecciones, como la neumonía o la tuberculosis. Como resultado de las BQ, el daño estructural puede estar ligado a infecciones, ejemplificado por la citotoxicidad y el deterioro funcional ciliar provocados por productos bacterianos, respuestas inflamatorias exacerbadas, como el aumento de EN y la disfunción de las NET, y un aclaramiento mucociliar deficiente agravado tanto por infecciones como por inflamación.

Se ha documentado que las BQ están asociadas con una pérdida progresiva de elastina y colágeno, mediada en gran parte por proteasas del huésped, incluyendo serina, cisteína y metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP, del inglés *matrix metalloproteinase*) (45). Estas enzimas tienden a estar elevadas en enfermedades pulmonares relacionadas con las BQ. Tal como hemos mencionado anteriormente, los niveles elevados de EN en el pulmón se correlacionan con una aparición temprana de BQ. Esta enzima no solo degrada elastina y colágeno, sino que también compromete la arquitectura de las vías respiratorias al degradar proteínas estructurales clave como la laminina y la fibronectina; comportamientos similares se observan en las catepsinas S y C (46,47).

Por otro lado, las MMP regulan la respuesta inmune local y son capaces de degradar componentes de la matriz extracelular de las vías respiratorias, jugando roles en la inflamación, la remodelación y la reparación tisular. A pesar de que la función reparadora de algunas proteasas puede ser beneficiosa, datos recientes sugieren que es el equilibrio entre los niveles de proteasas y sus inhibidores, conocidos como inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP, del inglés *tissue inhibitor of metalloproteinases*), lo que finalmente determina si los efectos resultantes son destructivos o beneficiosos. Este equilibrio crítico entre las MMP y los TIMP juega un papel clave en la patogénesis de las BQ y tiene implicaciones significativas en el remodelado bronquial (48). Por ejemplo, se ha identificado que MMP-7 juega un papel crucial en la reepitelización tras lesiones y facilita el cierre de heridas a través de la interacción sindecan-1/ $\alpha 2\beta 1$ integrina, demostrando cómo la actividad de las MMP, más que sus niveles absolutos, es crucial para determinar los resultados tisulares (16).

1.2.4. Infección de la vía aérea

Dado que la presencia de microorganismos en la vía aérea de los pacientes con BQ es el principal objetivo de estudio de esta tesis doctoral, se procede a su desarrollo en un capítulo propio más adelante.

1.3. Epidemiología y relevancia de las bronquiectasias como problema de salud pública

Las BQ son la tercera enfermedad inflamatoria crónica de la vía aérea, después del asma y de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), con las que además está en estrecha relación (49).

La prevalencia global de BQ no debidas a FQ se estima entre 130 y 400 casos por cada 100.000 habitantes (50) y en España 260-500 casos por cada 100.000 habitantes (51,52).

La prevalencia aumenta con la edad, siendo más frecuentes en mujeres que en hombres. Son más comunes en países de renta alta, probablemente debido a mejor acceso al diagnóstico. La incidencia anual global de BQ no debidas a FQ está entre 1 y 5 casos por cada 100.000 habitantes (53) y en España entre 3-7 casos por cada 100.000 habitantes por año (52). Estos datos sugieren un aumento de aproximadamente 40% en la última década con especial predominio en mujeres y ancianos. Este aumento en el número de casos diagnosticados posiblemente se deba a la creciente longevidad de la población, a la asociación con otras entidades tan prevalentes como el asma y la EPOC y, sobre todo, al uso generalizado de técnicas de imagen de alta resolución, que confirman el diagnóstico, como es la TCAR (54).

Se ha estimado que la carga económica de esta enfermedad puede llegar a ser incluso superior a la EPOC y aumenta con la gravedad de la enfermedad, las hospitalizaciones, la necesidad de cuidados intensivos y el uso de antibióticos inhalados (55).

1.4. Diagnóstico de bronquiectasias

Es importante referir que, no todos los pacientes que padecen BQ tienen signos o síntomas respiratorios y se desconoce el pronóstico a largo plazo de las BQ radiológicas asintomáticas. En esta línea, un grupo de trabajo de expertos internacionales en BQ propuso unos criterios radiológicos y clínicos para establecer el diagnóstico de BQ clínicamente significativas en el adulto (56). Los criterios radiológicos para el diagnóstico de BQ (al menos uno) ampliamente aceptados son los siguientes:

- ✓ Relación diámetro interno de la vía aérea-arteria ≥ 1
- ✓ Relación diámetro externo de la vía aérea-arteria ≥ 1
- ✓ Falta de estrechamiento de las vías aéreas.

✓ Visibilidad de las vías aéreas en la periferia.

Otros hallazgos de TC en las BQ incluyen tapones de moco, nodularidad en "árbol en brote" y un patrón de aparición y desaparición de los nódulos. En las BQ más avanzadas, se pueden observar cambios quísticos y cavidades.

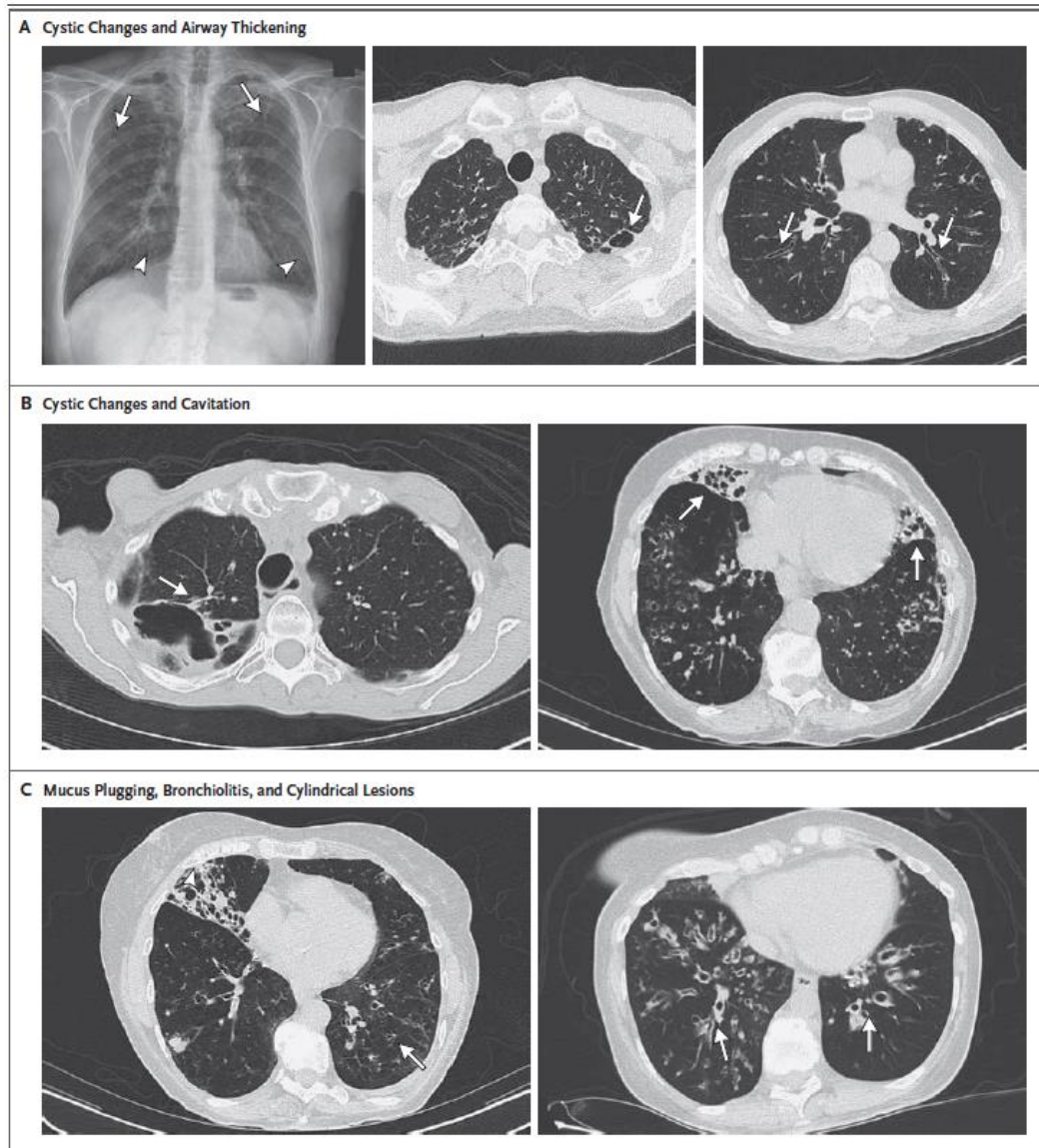


Figura 3: Imagen A: A la izquierda una radiografía simples (Rx) de tórax de un paciente con BQ cambios quísticos en los lóbulos superiores (flechas) y opacidades en forma de "raíl de tranvía" en los lóbulos inferiores (puntas de flecha); En el centro y a la derecha, las imágenes de TCAR obtenidas del mismo paciente muestran evidencia de BQ no detectables en la Rx simple, incluyendo un área quística en el lóbulo superior izquierdo (en el centro, flecha) y engrosamiento de la vía aérea en ambos lóbulos inferiores (a la derecha, flechas). Imagen B: lesión cavitaria y cambios quísticos (a la izquierda, flecha) y BQ en el lóbulo medio y la língula (a la derecha, flechas). Imagen C: la izquierda muestra tapones de moco en el lóbulo medio derecho (punta de flecha) y nodularidad de "árbol en brote" en el lóbulo inferior izquierdo (flecha); a la derecha se evidencian BQ cilíndricas (flechas) (57).

Asimismo, la mayoría de los pacientes con BQ clínicamente significativas tendrán al menos dos de los siguientes síntomas:

- Tos la mayoría de los días de la semana;
- Producción de esputo la mayoría de los días de la semana; o
- Antecedentes de exacerbaciones.

Estos criterios ayudan a definir mejor la enfermedad y a estandarizar algunos aspectos clave en la práctica clínica habitual, así como en los ensayos clínicos de BQ y permitir comparaciones sólidas de los efectos del tratamiento entre diferentes intervenciones.

1.5. Evaluación del paciente con bronquiectasias

Una vez confirmado el diagnóstico clínico y radiológico de BQ clínicamente significativas se debe realizar una evaluación sistemática basada en la historia clínica y los síntomas del paciente. Los componentes básicos de la evaluación incluyen pruebas para identificar/descartar posibles causas subyacentes de las BQ, pruebas de función pulmonar, muestras de cultivos respiratorios, calidad de vida de los pacientes y evaluación de la gravedad de las BQ.

1.5.1. Evaluación etiológica

Todos los pacientes deben ser evaluados por enfermedades coexistentes y una historia de patologías predisponentes, incluyendo la EPOC, asma, reflujo gastroesofágico o aspiraciones, enfermedades reumatológicas y enfermedades inflamatorias intestinales. Se requiere una analítica de sangre completa, con niveles de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA e IgE) para todos los pacientes. Las pruebas para patologías congénitas o adquiridas se deben valorar en función de las características de la enfermedad de los pacientes. Si los niveles de inmunoglobulinas (incluidas las subclases) están reducidos, se puede valorar una respuesta de anticuerpos a vacunas (p.e. tétanos o polisacáridos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* tipo b), analizando los niveles basales de anticuerpos, seguidos de vacunación y nueva medición de las respuestas de anticuerpos.

Las pruebas diagnósticas de FQ como el test del sudor o la búsqueda de mutaciones del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR, del inglés *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) tienen un especial interés en BQ de inicio temprano (edad <40 años) o en cualquier edad con colonización persistente por

Staphylococcus aureus o *Pseudomonas aeruginosa*, con predominio de BQ en lóbulos superiores, o que tengan otros trastornos, como infertilidad masculina, malabsorción o pancreatitis.

También se recomienda descartar patologías que afecten al aclaramiento mucociliar en pacientes con inicio temprano de las BQ, particularmente aquellos con antecedentes de dificultad respiratoria neonatal, otitis media, rinosinusitis crónica, infertilidad o dextrocardia. El déficit de α -1 antitripsina es una causa rara de BQ y puede evaluarse mediante la medición de niveles en sangre o un análisis fenotípico (58).

Una evaluación cuidadosa y sistemática de cada paciente basada en las recomendaciones mencionadas identificará causas subyacentes potencialmente tratables y enfermedades coexistentes. Sin embargo, aunque se realicen pruebas extensas, no se determina una causa específica identificable en hasta el 40% de los pacientes con BQ y se considera que son idiopáticas o debidas a infecciones en la infancia-adolescencia sospechadas pero difíciles de probar.

Tabla 1: Pruebas recomendadas en pacientes recién diagnosticados de BQ no FQ. (59)

Pruebas rutinarias	
	Inmunoglobulinas séricas (IgG, IgA, IgM) y electroforesis de suero.
	Respuestas de anticuerpos específicos al tétanos y a los polisacáridos capsulares de <i>Streptococcus pneumoniae</i> y <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b.
	IgE e IgG a <i>Aspergillus fumigatus</i> +/- pruebas RAST (IgE específicas en sangre)
	Espuito para cultivo rutinario y para bacilos ácido-alcohol resistentes.
	Autoanticuerpos (factor reumatoide, anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados, anticuerpos antinucleares y pruebas para el síndrome de Sjögren).
Pruebas específicas	
	Mutaciones del CFTR y test del sudor (alta frecuencia de mutaciones CFTR en ciertas cohortes de BQ no FQ).
	Evaluación de la motilidad ciliar (óxido nítrico nasal, biopsia nasal para análisis de microscopía de video de alta velocidad, microscopia electrónica, inmunofluorescencia) o test genético.
	Broncoscopia (obstrucción por cuerpo extraño o sospecha de infección por MNT cuando los cultivos de esputo son negativos o el paciente no expectora (el esputo inducido es una alternativa razonable en esta situación)
	Derivación a un especialista en inmunodeficiencias.
	α -1 antitripsina en sangre (enfisema basal).

Ig: Inmunoglobulina; RAST: prueba de radioalergoabsorbencia; CFTR: cystic fibrosis transmembrane conductance regulator; DCP: discinesia ciliar primaria; MNT: micobacterias no tuberculosas.

1.5.2. Evaluación de la función pulmonar

El deterioro de la función pulmonar en adultos con BQ es altamente variable. Los pacientes pueden presentar obstrucción del flujo aéreo, alteraciones ventilatorias restrictivas o incluso valores de espirometría normales (60). La obstrucción del flujo aéreo a menudo se asocia con una enfermedad más grave (60–63).

Un FEV₁ (volumen espiratorio forzado en el primer segundo) más bajo se relaciona con la severidad de la disnea medida por la escala de disnea modificada de la *Medical Research Council* (mMRC) (64) y también está asociado con la extensión de la enfermedad en la TCAR (63). La capacidad vital forzada (FVC) puede ser normal o reducida. El flujo espiratorio forzado entre el 25 y el 75% (FEF₂₅₋₇₅) puede estar disminuido y la relación RV/TLC (volumen residual/capacidad pulmonar total) puede estar aumentada, lo que sugiere enfermedad de pequeña vía aérea y atrapamiento aéreo (60). La respuesta a los broncodilatadores también es bastante variable; entre un tercio y tres cuartos de los pacientes con BQ pueden tener hiperrespuesta bronquial y tener pruebas de provocación bronquial con metacolina o histamina positivas (60,65).

1.5.3. Evaluación de la calidad de vida

Las BQ tienen un efecto significativo sobre la calidad de vida de los pacientes, por lo que su evaluación es fundamental en los controles clínicos de rutina. Existen varios cuestionarios disponibles y validados que evalúan la calidad de vida de los pacientes con BQ: el *Bronchiectasis Health Questionnaire* (BHQ) (66), *St. George's Respiratory Questionnaire* (SGRQ) y *COPD assesement test* (CAT).

El BHQ es cuestionario autocumplimentado, breve y repetible y nos permite evaluar las BQ desde la perspectiva del paciente. Por otro lado, el SGRQ y el CAT fueron cuestionarios inicialmente diseñados para evaluar el impacto de otras patologías respiratorias en la calidad de vida, pero posteriormente validados en BQ (67,68). Las puntuaciones del SGRQ en pacientes con BQ clínicamente estables son similares a los observados en otras enfermedades respiratorias como en la EPOC de moderada a grave (69) o en la fibrosis pulmonar idiopática (69). El CAT es una herramienta de evaluación breve y sencilla que se utiliza ampliamente en la EPOC. Los ítems incluidos en el CAT no son específicos de la EPOC y tal como el cuestionario SGRQ, también refleja los síntomas dominantes de las BQ.

1.5.4. Evaluación de la gravedad

En el contexto de BQ clínicamente significativas, un concepto importante en la evaluación de la gravedad de un paciente con BQ es el de colonización crónica o, más aceptado, el de infección bronquial crónica (IBC). Se prefiere este término ya que colonización implica un proceso benigno, mientras que IBC refleja más la interacción a largo plazo entre los microorganismos y el huésped, que conduce a un daño tisular progresivo (70).

Se han propuesto varias definiciones. Un reciente consenso de la Sociedad Española de Neumología define la IBC en pacientes EPOC como el crecimiento de un mismo microorganismo potencialmente patógeno (MPP) en tres cultivos en un año, separados por al menos un mes (71); la guía española de BQ define la IBC como tres o más cultivos positivos consecutivos del mismo organismo, durante un período de al menos seis meses, separados por al menos un mes (72); y la actual guía europea de manejo de BQ la definen como dos o más aislamientos de los mismos organismos, con al menos tres meses de diferencia en un año (49). En cualquier caso, el paciente debe encontrarse en fase estable y los cultivos deben realizarse en laboratorios acreditados que manejen muestras de alta calidad.

Las dos escalas de gravedad multidimensionales más utilizadas en la práctica clínica habitual son E-FACED y Bronchiectasis Severity Index (BSI) (Figura 4). El E-FACED es buen predictor de mortalidad, tiene buena capacidad pronóstica del número y gravedad de las agudizaciones y se sugiere que sea obtenido anualmente para valorar la progresión clínica de la enfermedad (72). Por otro lado, el BSI tiene una buena capacidad pronóstica de calidad de vida y pérdida de función pulmonar y puede predecir número y gravedad de las agudizaciones, hospitalizaciones y mortalidad (61).

● Exacerbaciones con ingreso hospitalario (año previo) (punto de corte al menos 1, máximo 2 puntos). ● FEV1 % (punto de corte < 50%, 2 puntos máximo) ● Edad (punto de corte 70 años, 2 puntos máximo) ● Colonización crónica por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 punto máximo) ● Extensión radiológica (nº de lóbulos afectados, punto de corte 2 lóbulos, 1 punto máximo. Lóbulo medio y lingula, se consideran lóbulos independientes) ● Disnea MRC (punto de corte 2, 1 punto máximo) Gravedad en función de la gravedad: Leve: entre 0-3 puntos. Moderada: 4-6 puntos. Severa: 7-9 puntos.	● Edad: < 50: 0 puntos; 50-69: 2 puntos; 70-79: 4 puntos; > 80: 6 puntos. ● IMC: < 18.5: 2 puntos; mayor o = a 18.5: 0 puntos. ● FEV1 %: < 80%: 0 puntos; 50-80%: 1 punto; 30-49%: 2 puntos; < 30%: 3 puntos. Exacerbaciones hospitalarias en el año previo: Si 5 puntos; no 0 puntos. ● Exacerbaciones en el último año: 0-2 (0 puntos); 3 o más (2 puntos). ● Disnea MRC: 1-3 (0 puntos); 4 (2 puntos); 5 (3 puntos). ● Colonización crónica por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>: no (0 puntos), sí (3 puntos). ● Colonización por otros microorganismos: no (0 puntos), si (1 punto). ● Extensión radiológica (más de 3 lóbulos afectados): no (0 puntos), si (1 punto). Gravedad en función de la gravedad: Leve (BSI bajo): 0-4 puntos. Moderada (BSI intermedio) 5-8 puntos. Severa (BSI elevado): 9 o más puntos.
--	--

Figura 4: Escalas multidimensionales de gravedad en BQ: E-FACED (primera columna) y BSI (segunda columna). (en <https://separcontenidos.es/bronquiectasias>)

1.6. Etiología de las bronquiectasias en adultos

Las BQ son una patología respiratoria heterogénea, que puede ser producida por un gran número de causas diferentes, tanto pulmonares como sistémicas, incluyendo infecciones respiratorias graves previas (p. ej., neumonía bacteriana, tuberculosis, MNT), aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), alteración del aclaramiento mucociliar (p. ej, DCP) e inmunodeficiencia primaria o secundaria, y puede también asociarse a otras enfermedades, como la EPOC y el asma grave, enfermedades del tejido conectivo, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad por reflujo gastroesofágico.

Una identificación precisa y rápida de la causa subyacente es una recomendación clave en todas las guías de práctica clínica internacionales. Existen dos importantes registros de cohorte de pacientes con BQ en los que se han recogido datos acerca de la etiología: El registro europeo de BQ (EMBARC) (59) y el registro español informatizado de BQ (RIBRON) (52). En las Tablas 2 y 3 se detallan las principales etiologías.

Tabla 2: Etiología de bronquiectasias (EMBARC) **Tabla 3:** Etiología de bronquiectasias (RIBRON)

ETIOLOGÍA	PORCENTAJE
Idiopáticas	38,1%
Postinfecciosas	21,2%
Tuberculosis	4,9%
NTM	1%
Asociadas a EPOC	8,1%
Asociadas a asma	6,9%
Inmunodeficiencias	4,1%
Discinesia ciliar primaria	3%
ABPA	2,8%
Artritis reumatoide	2,7%
Enfermedades del tejido conectivo	2,1%
ERGE	1,6%
Enfermedad inflamatoria intestinal	0,9%
Déficit de alfa-1 antitripsina	0,6%

ETIOLOGÍA	PORCENTAJE
Idiopáticas	18,5%
Postinfecciosas	40,4%
Tuberculosis	13,5%
Asociadas a EPOC	10,9%
Asociadas a asma	7,8%
Inmunodeficiencias	4,2%
Enfermedades genéticas	4,2%
Enfermedades sistémicas	4%
Neumonitis inflamatoria	1,7%
ABPA	0,9%
Enfermedad inflamatoria intestinal	0,8%
Malformaciones congénitas	0,7%
Bronquiolitis obliterante	0,6%
Obstrucción bronquial	0,3%
Respuesta hiperinmune	0,3%
Vasculitis	0,2%
Otras	4,5%

Identificar las etiologías de las BQ es importante debido a las implicaciones clínicas en el manejo y pronóstico. Algunas etiologías pueden determinar un cambio en el manejo del paciente, como iniciar un tratamiento específico, un seguimiento más cercano, pruebas genéticas para familiares o modificaciones de factores de riesgo. También es sabido que las causas subyacentes de las BQ pueden ser responsables de diferencias relevantes en términos de presentación clínica, evolución y pronóstico. Esto es particularmente evidente en el caso de enfermedades respiratorias asociadas como EPOC, asma, APBA o sinusitis, o enfermedades inflamatorias sistémicas como la artritis reumatoide, identificándose diferentes fenotipos clínicos asociados con la etiología (73).

1.6.1. Idiopáticas

Incluso después de una búsqueda exhaustiva, en la mayoría de cohortes y registros, incluso en centros especializados, la proporción de BQ clasificadas como idiopáticas sigue siendo la más habitual y puede variar entre 18 y 45%. En el registro europeo EMBARC es de 38.1% y en el registro español RIBRON de 18,5%.

1.6.2. Postinfecciosas

Excluyendo BQ idiopáticas, la etiología identificada con más frecuencia es la postinfecciosa y oscila entre el 21-40%, incluyendo la tuberculosis y las MNT, aunque su frecuencia está disminuyendo en los países de renta alta (40). Esto ha sido posible gracias a la mejoría en las condiciones socioeconómicas, la profilaxis de las infecciones en la infancia con los programas de inmunización, la disponibilidad de antibióticos eficaces para el tratamiento de las infecciones. Las infecciones respiratorias graves (neumonías necrotizantes), especialmente en la infancia, son una causa importante de BQ. Las neumonías bacterianas, especialmente por *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, son una de las causas más comunes de BQ postinfecciosas (74). La tuberculosis pulmonar también puede causar BQ, especialmente en casos graves o de larga duración. La incidencia de BQ post-tuberculosis está seguramente infraestimada, ya que los países de mayor incidencia de tuberculosis son generalmente países de baja renta. La falta de recursos y de programas de salud específicos para el seguimiento de la enfermedad en estos países podría ser una explicación, ya que la prioridad se ha centrado más en erradicar la infección activa de tuberculosis que en gestionar las secuelas a largo plazo (75,76). Algunos virus respiratorios también se han asociado como causa de BQ, especialmente en niños, como el sarampión, el virus respiratorio sincitial y el virus de la gripe (Influenza A o B) (74).

1.6.3. Asociadas a micobacterias no tuberculosas (MNT)

Las MNT están implicadas como un factor etiológico de las BQ, pero también como una complicación de las BQ establecida. Una revisión sistemática reciente estimó que la prevalencia general de MNT en adultos sin BQ por fibrosis quística es del 10 %. Las MNT más frecuentes aisladas en pacientes con BQ son el complejo *Mycobacterium avium*, seguido de *Mycobacterium simiae* y *Mycobacterium gordonae* (77,78). Una vez que pueden

ser una causa de complicaciones de las BQ establecidas, se sugiere una búsqueda activa de MNT, incluso si los cultivos de esputo para micobacterias son negativos, realizando cultivos de esputo periódicos o incluso broncoscopia si el paciente no expectora (tras probar técnicas de drenaje o de esputo inducido).

1.6.4. Asociadas a enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

La EPOC como posible etiología de BQ ha generado mucho interés y controversia en los últimos años. La prevalencia de esta asociación difiere dependiendo de si la población estudiada tiene el diagnóstico primario de EPOC o de BQ. Entre el 30 y el 50% de los pacientes con EPOC grave presentan BQ y su prevalencia aumenta con la gravedad de la enfermedad, mientras que entre el 5 y el 10% de los pacientes con BQ tienen una EPOC asociada (79). Los pacientes con EPOC y BQ muestran un fenotipo clínico diferenciado con sus propias características: aumento de la producción y la purulencia del esputo, obstrucción al flujo aéreo más grave, más disnea, mayor número de aislamiento de patógenos incluida *Pseudomonas aeruginosa* y un mayor número de exacerbaciones de perfil infeccioso que se asocia con peores resultados incluyendo un aumento de la mortalidad, y que por todo esto tiene unas implicaciones terapéuticas específicas (80).

1.6.5. Asociadas a asma bronquial

La relación entre BQ y el asma bronquial no está claramente definida. La prevalencia de BQ asociada con asma bronquial es de alrededor del 3% (79), mientras que los estudios dirigidos a la caracterización de alteraciones radiológicas del asma han encontrado BQ en la TCAR entre el 17-35% de los pacientes con asma (81). Estas alteraciones se han asociado con mayor frecuencia a casos de asma no alérgica y formas más graves de la enfermedad (82). Por lo tanto, se necesitan más estudios para caracterizar mejor esta relación y determinar el impacto en el pronóstico de ambas enfermedades.

1.6.6. Asociadas a inmunodeficiencias

Las BQ pueden estar asociadas con casi cualquier inmunodeficiencia (83). La identificación del trastorno inmunitario subyacente es fundamental, ya que el tratamiento específico puede ser muy eficaz. Las guías de manejo de BQ recomiendan que todos los pacientes sean

sometidos a pruebas de detección de deficiencias de inmunoglobulinas, así como de respuestas funcionales a la vacunación (84). En pacientes graves o complejos, en particular si hay antecedentes de infecciones no respiratorias recurrentes, se recomienda realizar un seguimiento estrecho por un especialista en inmunodeficiencias.

1.6.7. Asociadas a discinesia ciliar

Los trastornos que afectan al aclaramiento mucociliar pueden conducir a infecciones bronquiales recurrentes y al desarrollo de BQ (85). Entre las condiciones que afectan este sistema, la DCP, también conocida como síndrome del cilio inmóvil, abarca una variedad de defectos ciliares que incluyen aplasia, inmovilidad y discinesia. Estas disfunciones ciliares son la manifestación más frecuente dentro del espectro de las ciliopatías, un grupo de enfermedades genéticas con las que la DCP está frecuentemente asociada. La DCP se transmite de manera autosómica recesiva, y hasta la fecha se han identificado al menos 12 genes relacionados con la patología. Entre los más destacados se encuentran las mutaciones en los genes DNAI1 y DNAH5, que codifican para la proteína dineína, crucial para la motilidad ciliar. Estas mutaciones se presentan en aproximadamente el 30-35% de los casos (86). Los síntomas de la DCP suelen manifestarse desde la infancia con infecciones recurrentes de las vías respiratorias superiores e inferiores, lo que predispone al desarrollo de BQ en la edad adulta. Además, alrededor del 50% de los pacientes con DCP presentan *situs inversus*. La tríada de BQ, situs inversus y sinusitis compone el denominado síndrome de Kartagener (87). El diagnóstico de la DCP es complejo y requiere un enfoque multimodal, que incluye pruebas de análisis de la motilidad ciliar, estudios ultraestructurales y análisis genéticos.

1.6.8. Asociadas a aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA)

La ABPA se debe a una respuesta inmune excesiva al hongo *Aspergillus fumigatus* que conduce a inflamación y daño de las vías respiratorias en forma de BQ (88). Su diagnóstico temprano es fundamental, ya que dispone de un tratamiento específico, que generalmente consiste en corticosteroides sistémicos (89), antifúngicos (como el itraconazol o voriconazol) (90) y fármacos modificadores de la respuesta biológica, como los anticuerpos monoclonales anti-IgE (91), anti-IL-5 (92) o anti-IL-4 (93). Se asocia clásicamente a pacientes

con asma y BQ o a pacientes con fibrosis quística. Las BQ suelen ser centrales y colonizadas por *Staphylococcus aureus*. (94). El tratamiento precoz de la ABPA es importante para prevenir daño pulmonar irreversible, y las pruebas de detección de ABPA deben realizarse en todos los pacientes con BQ, no solo en aquellos con asma y fibrosis quística.

1.7. Manejo clínico de las bronquiectasias

Es esencial entender la biología básica, la microbiología y la inmunología de las BQ, para lograr comprender los desafíos que se presentan en su manejo clínico y tratamiento. Los síntomas habituales de esta enfermedad son la tos crónica productiva, donde la viscosidad, la purulencia y el volumen del esputo pueden disminuir significativamente su calidad de vida, deterioro que se intensifica durante los episodios que definimos como exacerbaciones.

1.7.1. Exacerbaciones

Las exacerbaciones son uno de los eventos con más trascendencia en el curso natural de las BQ y determinan de manera significativa los resultados clínicos a largo plazo. Clínicamente se definen como un aumento de los síntomas (≥ 3 de los siguientes: tos; volumen o consistencia del esputo; purulencia del esputo, disnea y/o intolerancia al ejercicio; fatiga y/o malestar; hemoptisis), durante al menos 48 horas y que requiere un cambio de tratamiento por el médico (95). Estos episodios agudos son cruciales en la progresión de la enfermedad, asociándose con un aumento del riesgo de hospitalizaciones futuras y una calidad de vida deteriorada. Asimismo, el número de exacerbaciones al año predice, de forma independiente, el riesgo de mortalidad futura, teniendo los pacientes exacerbadores frecuentes tasas de mortalidad hasta el doble de altas, en comparación con aquellos que no presentan exacerbaciones (61).

Las guías de práctica clínica recomiendan el uso de antimicrobianos para tratar las exacerbaciones, basándose en la premisa de que el sobrecrecimiento bacteriano es la causa subyacente (96). También el hecho de presentar una IBC puede aumentar el riesgo de exacerbaciones, tal como se ha visto con *Pseudomonas aeruginosa* (97), *Staphylococcus aureus* (98) y *Stenotrophomonas maltophilia* (99).

Además, la experiencia clínica sugiere que los pacientes mejoran subjetivamente después del tratamiento antibiótico de estas infecciones. Sin embargo, los datos sugieren que

muchos otros factores, incluidos los virus, la inflamación y los factores ambientales podrían ser causas de exacerbación (100).

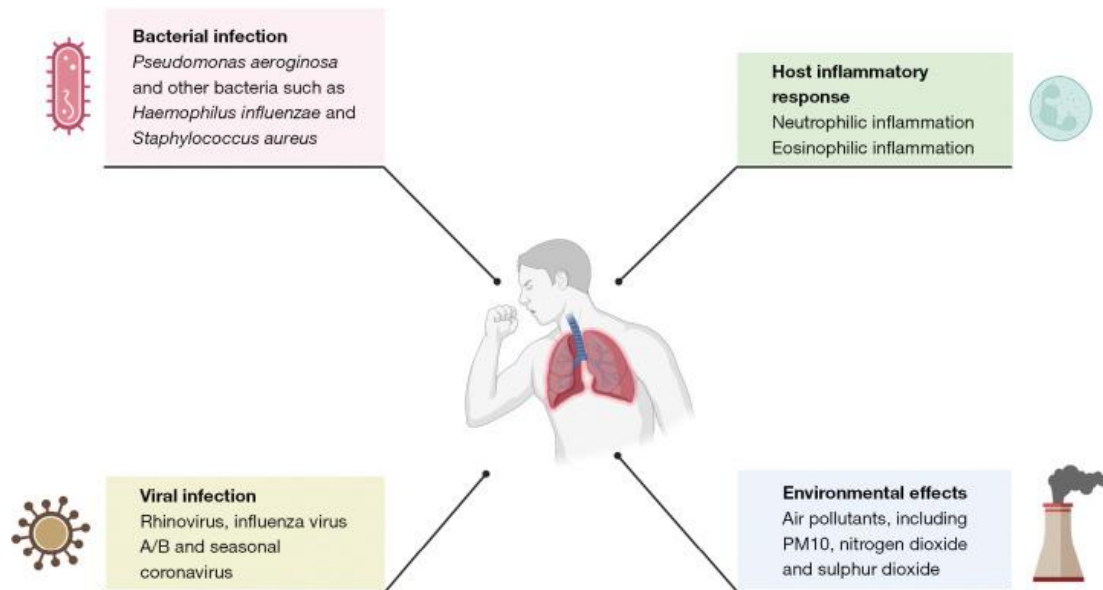


Figura 5: Causas de las exacerbaciones en BQ. (100)

Los virus también parecen ser responsables de una proporción significativa de las exacerbaciones en BQ. Varios estudios han demostrado que la presencia de virus en las muestras de esputo es más común durante las exacerbaciones que en periodos estables (101), siendo el rinovirus, el virus influenza A/B y coronavirus estacionales los más frecuentemente detectados. Las exacerbaciones virales suelen estar asociadas con un aumento significativo de los marcadores inflamatorios sistémicos y de las vías respiratorias, lo que indica una fuerte respuesta inflamatoria. Asimismo, la reducción de exacerbaciones durante la pandemia de COVID-19, atribuida en parte a las medidas de distanciamiento social que disminuyeron la transmisión de virus respiratorios, sugiere indirectamente que los virus juegan un papel importante en el desencadenamiento de exacerbaciones (102).

La respuesta inflamatoria del huésped también puede estar implicada en las exacerbaciones de BQ. La inflamación de tipo neutrofílica es un factor de riesgo identificado, en las que una mayor actividad de la elastasa neutrofílica en el esputo se asocia con una mayor frecuencia de exacerbaciones, disminuyendo tras el tratamiento con antibióticos. Además, la presencia de NET se ha identificado como un mediador clave de la gravedad de las exacerbaciones. Los marcadores de inflamación sistémica, como citoquinas (IL-17, IL-6, IL-8) y proteína C

reactiva, también se relacionan con exacerbaciones severas, persistiendo incluso semanas después del evento (103,104). Aunque históricamente las BQ se han considerado una enfermedad de inflamación neutrofílica, la inflamación eosinofílica está ganando reconocimiento como un componente importante de la exacerbación en algunos pacientes, lo que podría tener implicaciones para el tratamiento personalizado (105).

De una forma general, el manejo de las BQ representa un desafío considerable debido a la diversidad de manifestaciones clínicas de la enfermedad. Pacientes con síntomas aparentemente similares pueden diferir enormemente en cuanto a las condiciones subyacentes, comorbilidades, capacidad pulmonar, hallazgos radiológicos, perfil microbiológico, gravedad de la inflamación pulmonar, expectativas de tratamiento y adherencia al mismo, además de sus contextos socioeconómicos.

La heterogeneidad de las BQ es, por lo tanto, uno de los principales retos clínicos. Aunque las escalas de gravedad multidimensionales como BSI o el E-FACED nos ayudan a estratificar el riesgo futuro de estos pacientes, aún no han demostrado su capacidad para predecir la respuesta a tratamientos específicos. Se necesitan herramientas más precisas para clasificar la enfermedad adecuadamente, lo que podría incluir la integración de herramientas clínicas avanzadas, biomarcadores innovadores y nuevas técnicas de imagen.

Las líneas de investigación más actuales sugieren la utilidad de marcadores inflamatorios específicos y perfiles genéticos para mejorar la personalización del tratamiento y además pueden proporcionar nuevas perspectivas sobre la actividad inflamatoria en estos pacientes y ayudar a dirigir intervenciones más efectivas. La adopción de técnicas avanzadas de secuenciación genética y análisis proteómico está empezando a desempeñar un papel crucial en la identificación de subtipos de pacientes que podrían beneficiarse de terapias dirigidas, marcando un avance prometedor en el abordaje de esta compleja enfermedad (16).

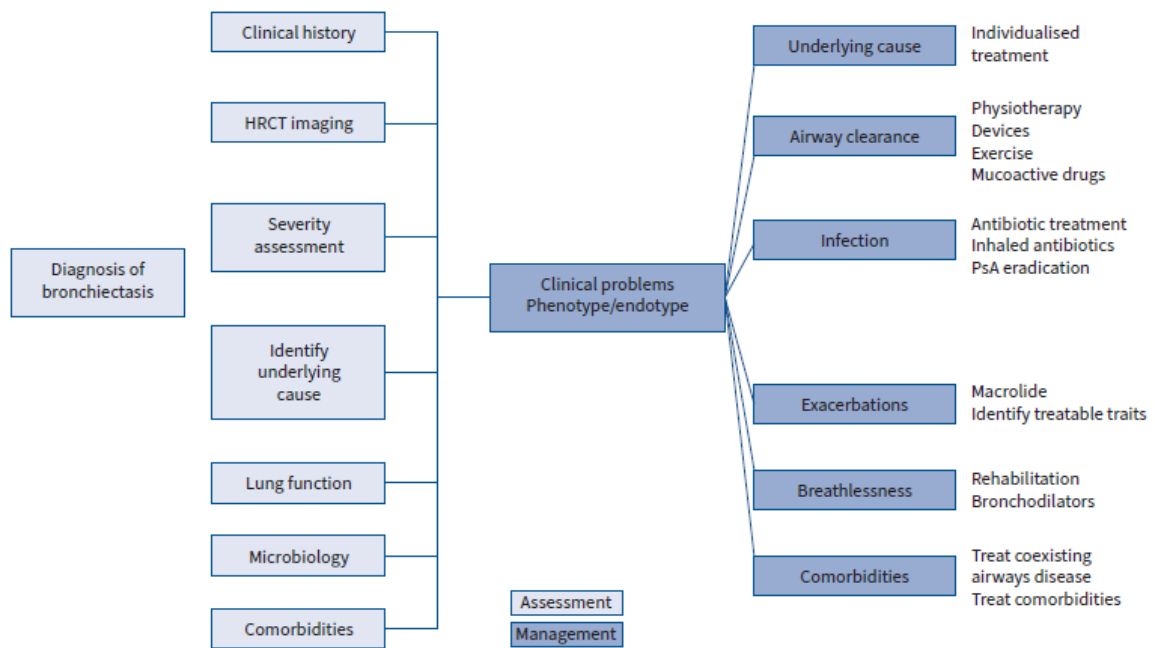


Figura 6: Aspectos clave en la evaluación y manejo de BQ. *HRCT: High Resolution Computed Tomography; PsA: Pseudomonas aeruginosa.* (16)

1.8. La infección en las bronquiectasias

La infección de las vías respiratorias, ya sea aguda o crónica, juega un papel fundamental en el desarrollo y progresión de las BQ. Es el principal estímulo en el epitelio de las vías respiratorias, el cuál recluta neutrófilos, macrófagos y eosinófilos que participan en la defensa del huésped. Esta respuesta inflamatoria desregulada produce daño pulmonar, dilatación anormal e irreversible de los bronquios y favorecen infecciones respiratorias recurrentes. Se crea el ciclo continuo de inflamación, daño tisular e infección, que contribuye significativamente a la exacerbación de las BQ y sus impactos negativos en la calidad de vida del paciente.

En las BQ, las bacterias como *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* son a menudo los agentes causantes de las infecciones bronquiales clínicamente importantes (106,107). Durante la infección, el epitelio bronquial en las BQ está alterado y muestra una hipersecreción mucosa.

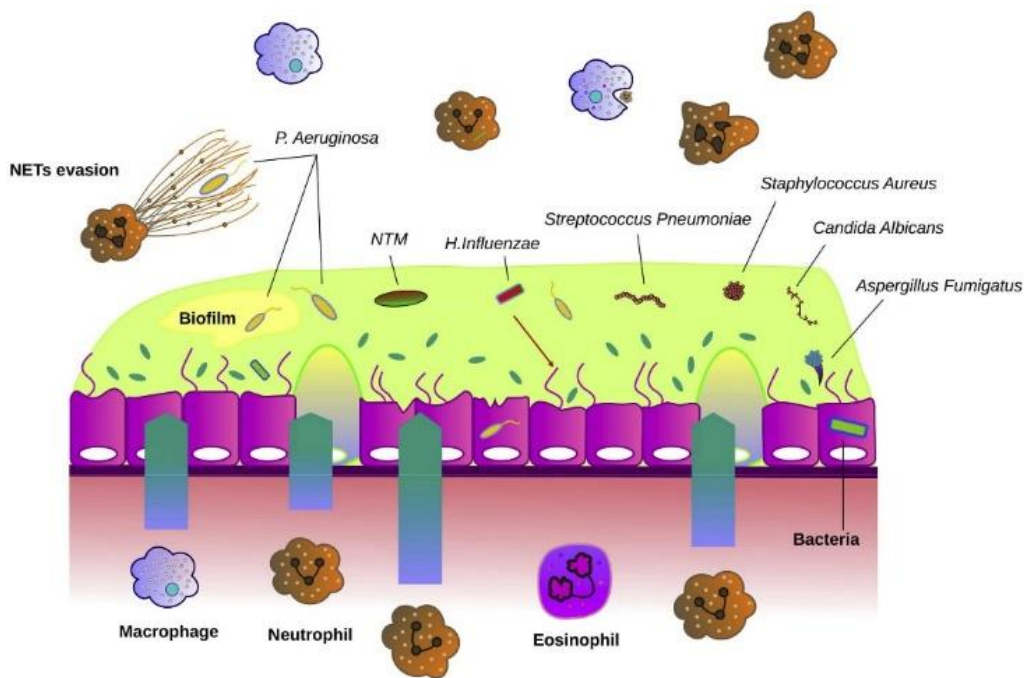


Figura 7: Interacción entre los microorganismos y el epitelio de las vías respiratorias en las BQ (108)

Hay una serie mecanismos, como la capacidad de eludir las NET y la producción de biopelículas, que pueden contribuir a la instauración de una infección bronquial crónica, que es uno de los componentes cruciales de la fisiopatología de las BQ (108).

Concretamente, las infecciones por *Haemophilus influenzae* y *Pseudomonas aeruginosa* pueden provocar directamente daño tisular en el tejido pulmonar, lo que facilita la

supervivencia de estos patógenos en entornos hostiles dentro de la vía aérea. *Haemophilus influenzae* y *Pseudomonas aeruginosa* pueden alterar la frecuencia del batido ciliar, a través de la inhibición de la proteína quinasa que en el caso del *Haemophilus influenzae*, o a través de la producción de piocianina en el caso de la *Pseudomonas aeruginosa*, deteriorando, así, el sistema de aclaramiento mucociliar. Asimismo, la misma *Pseudomonas aeruginosa* produce una elastasa capaz de degradar componentes de la matriz extracelular, como los colágenos tipo III y IV, y la laminina. También puede fragmentar e inactivar la actividad de la elastasa, una serina antiproteasa con función anti-EN (16).

También las biopelículas juegan un papel crucial en la patogénesis de las infecciones bronquiales crónicas y tanto *Haemophilus influenzae* como *Pseudomonas aeruginosa* pueden promover su formación en pacientes con BQ. Estas biopelículas permiten a las bacterias adaptarse a los estreses físicos y químicos de la vía aérea, utilizando ADN extracelular liberado por los neutrófilos, creando una barrera protectora frente a las defensas del huésped y los tratamientos antibióticos (109).

Tabla 4: Microorganismos más comúnmente identificados en pacientes con IBC. (108)

Bacterias	Micobacterias	Hongos	Virus
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>M. avium complex</i>	<u>Hongos filamentosos:</u> <i>Aspergillus</i> spp	<i>Coronavirus</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>M. abscessus</i>	<i>Scediosporum apiospermum</i>	<i>Influenza A</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>Fusarium</i> y <i>Penicillium</i> geni	<i>Influenza B</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>M. simiae</i>	<u>Levaduras:</u> <i>Candida</i> spp	<i>Virus HS</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Rhinovirus</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		<i>Trichosporon beigell</i>	

Virus HS: herpes simplex

En los pacientes estables y con exacerbaciones, las principales bacterias detectadas mediante técnicas microbiológicas tradicionales basadas en cultivo de muestras respiratorias son *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* (49). En el contexto del estudio

microbiológico más exhaustivo, se ha incrementado el aislamiento de enterobacterias como *Escherichia coli*, bacilos gramnegativos no fermentadores como *Stenotrophomonas maltophilia* y *Achromobacter xylosoxidans*, *Nocardia* spp., MNT, hongos y virus.

Las MNT pueden causar BQ directamente o contribuir a empeorar la enfermedad. Esto ocurre a través de dos mecanismos principales. Uno se relaciona con la inflamación granulomatosa crónica, que conduce a una ulceración y atrofia de la mucosa. El otro mecanismo implica la formación de tapones mucosos inflamatorios crónicos que pueden causar obstrucción y dilatación de las vías respiratorias (108).

Los hongos más frecuentemente aislados en pacientes con BQ son *Aspergillus* spp. y *Candida* spp (110). Tal como algunas bacterias, también tienen la capacidad de interferir con aclaramiento mucociliar, además de inducir la producción de mucosidad espesa (del inglés *mucus plugs*), que facilitan la persistencia de esporas fúngicas en las vías respiratorias continuamente expuestas a hongos ambientales. *Aspergillus fumigatus* es reconocido como un importante “colonizador” de la vía aérea. La gravedad de la infección depende fundamentalmente de la inmunidad del huésped, pudiendo desencadenar un espectro de síndromes, cuyo abordaje diagnóstico y terapéutico es complejo y cuya historia natural no está todavía bien establecida (110).

Tal como mencionamos anteriormente, las infecciones víricas son una causa habitual de exacerbaciones en BQ. Y aunque se detectan de forma habitual y su presencia se relaciona con un mayor riesgo de exacerbaciones, su papel a largo plazo y su impacto en los pacientes estables todavía no es conocido (101,111). *Mitchell et al* evaluó la presencia de virus en pacientes con BQ estables, mediante PCR, detectando virus en el 92% de los casos durante el invierno y en el 33% durante el verano (111); y en otro estudio también se detectó la presencia virus respiratorio sincitial en pacientes con BQ estables (112).

A pesar del avance de las técnicas microbiológicas, existe todavía una gran proporción de pacientes, incluso en presencia de esputo purulento, en los que no se aíslan microorganismos, particularmente aquellos que son refractarios al crecimiento bajo condiciones de diagnóstico estándar. En este contexto se inició el desarrollo de técnicas independientes del cultivo que logran detectar material genético de microorganismos y que ofrecen una capacidad de detección superior cuando comparadas con las técnicas microbiológicas convencionales, lo que ha permitido avanzar en el conocimiento del papel de la infección en esta patología.

1.9. Técnicas microbiológicas independientes de cultivo

Los avances en microbiología y genómica molecular con la aplicación de técnicas moleculares independientes de cultivo basadas en la secuenciación de ácidos nucleicos han revelado que el árbol bronquial, tanto en sujetos sanos como en pacientes con enfermedades respiratorias, aloja una gran cantidad de microorganismos, conocido como el microbioma respiratorio, compuesto por bacterias, micobacterias, virus y hongos. Esta nueva perspectiva desafía nuestra manera habitual de entender la microbiología de la vía aérea, pero a la vez abre las puertas a unos de los campos de investigación más prometedores en medicina respiratoria. Las tecnologías de secuenciación microbiana son una poderosa herramienta para conocer las enfermedades como nunca hasta ahora: es posible identificar con mayor sensibilidad potenciales patógenos, identificar bacterias no cultivables, conocer los «fenotipos» de la enfermedad basándose en los perfiles del microbioma y comprender mejor los efectos del tratamiento sobre los microorganismos y sobre la respuesta del huésped.

Entre estas nuevas técnicas se destacan las tecnologías de secuenciación del gen ribosomal 16S, una pequeña subunidad del ácido ribonucleico ribosomal (en conjunto se denomina 16S ARNr), que han permitido estudiar el microbioma en BQ, aunque se trate de una técnica heterogénea y altamente compleja. Varios estudios han identificado organismos dominantes durante la estabilidad clínica que en parte son concordantes con los encontrados utilizando métodos basados en cultivos, como *Pseudomonas* y *Haemophilus* (113), pero también se han identificado numerosos géneros, no detectados por cultivo convencional y que previamente no se consideraban como patógenos (114). También se ha descrito que una reducción en la diversidad del microbioma, particularmente con predominio de *Pseudomonas*, se asocia con una mayor gravedad de la enfermedad, mayor frecuencia y gravedad de las exacerbaciones y mayor riesgo de mortalidad (115).

Por lo tanto, el estudio del microbioma podría identificar subgrupos de pacientes de mayor riesgo, con peores resultados clínicos, y que podrían beneficiarse de estrategias de tratamiento de precisión.

1.10. El microbioma

Para entender bien este apartado, empezaremos por aclarar algunos conceptos básicos. El término de microbioma hace referencia al conjunto de los genomas de todos los microorganismos de un determinado ecosistema, junto con las interacciones de esos genes con ese ambiente (116). Al conjunto de esos microorganismos se le denomina microbiota, o comunidad microbiana, y puede incluir bacterias, virus, hongos y arquea (117). La microbiota humana está formada por todos los microorganismos que existen en el organismo, incluyendo el tracto gastrointestinal, el tracto genitourinario, la cavidad oral, el tracto nasofaríngeo, el tracto respiratorio y la piel.

Aunque, hasta hace poco la mayor parte de la investigación se haya centrado sobre todo en las bacterias, las técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS, del inglés *next-generation sequencing*) han facilitado nuevos avances en el conocimiento de los virus, hongos y arquea.

El microbioma respiratorio viene siendo cada vez más estudiado, por su impacto directo en la salud y en diversas patologías respiratorias, gracias a las técnicas independientes de cultivo y de NGS. Estas técnicas de NGS están permitiendo avances significativos al proporcionarnos una comprensión más profunda sobre la interacción entre los microorganismos y sus huéspedes humanos en distintos microambientes.

1.11. Análisis y evaluación del microbioma

1.11.1. Análisis del bacterioma

El gen 16S ARNr contiene 9 regiones variables intercaladas entre regiones conservadas que se pueden utilizar para la clasificación taxonómica de bacterias y arqueas, por lo que le hace un buen marcador capaz de discriminar diferentes microorganismos, permitiendo su identificación precisa (118). Se han utilizado diferentes regiones variables (sobre todo V1–V3 o V3–V5), sin embargo, no está claro cuál de ellas proporciona la mejor evaluación del microbioma respiratorio. Los métodos de secuenciación del 16S ARNr se basan en una amplificación por PCR de un fragmento del gen mediante cebadores universales diseñados para unirse a las regiones conservadas del gen.

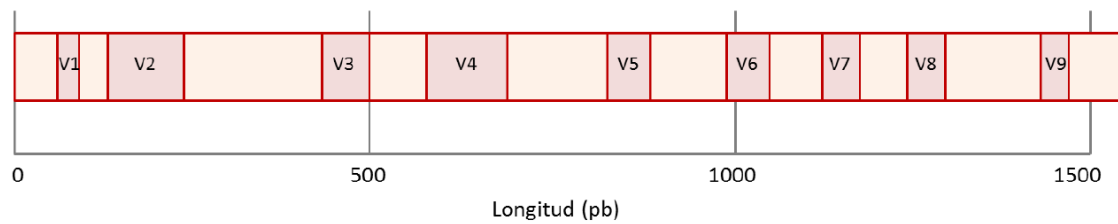


Figura 8: Regiones conservadas e hipervariables (V1-V9) del gen 16S ARNr (Modificado de Cox y cols.). (119)

Posteriormente, se realizan técnicas de secuenciación masiva que permiten el estudio de varias muestras de manera simultánea. Las secuencias resultantes se asignan a bases de datos, como *The Ribosomal Database Project*, *GreenGenes* o *SILVA*, lo que facilita estimaciones cuantitativas de la diversidad bacteriana en cada muestra (119). Las bases de datos de genes del 16S ARNr existentes actualmente proporcionan secuencias de genes (parciales o completas) para más de 1,7 millones de bacterias y arqueas (120), y son lo suficientemente detalladas como para clasificar las bacterias en diferentes niveles taxonómicos. Taxonómicamente, los microorganismos se clasifican en reino, clase, orden, filo, género y especie.

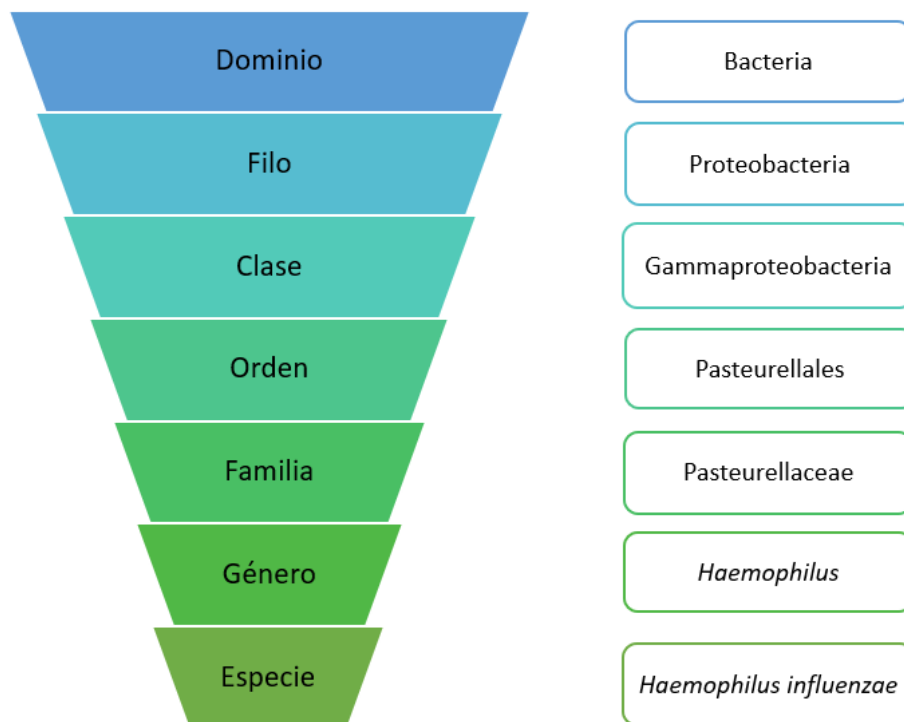


Figura 9: Ejemplo de clasificación taxonómica de *Haemophilus influenzae*.

Sin embargo, las secuencias de amplicones a menudo no corresponden a las taxonomías determinadas clásicamente. Como consecuencia, los grupos de secuencias similares se agrupan en unidades taxonómicas operativas (OTU, del inglés *operational taxonomic unit*). Las similitudes de secuencia de al menos el 97% con la base de datos de referencia de secuencias del 16S ARNr son generalmente aceptables para considerar que las OTU identificadas son equivalentes a nivel de especie, o a nivel de género cuando la similitud solo alcanza el 94% (121). La principal desventaja del uso de OTU es que los errores en una base de datos de referencia se reflejarán en el análisis y no se podrán detectar taxones nuevos.

Un enfoque más reciente es la utilización de variantes de secuencia de amplicones (ASV, del inglés *amplicon variant sequence*), que identifica secuencias exactas y sus frecuencias. Esta metodología mejora la precisión al detectar y corregir posibles errores de secuenciación y permite una comparación más detallada con bases de datos de referencia, como *SILVA* (120), proporcionando una mayor resolución en la identificación bacteriana (121).

1.11.2. Análisis del microbioma

La NGS de la región del espaciador transcrito interno (ITS, del inglés *internal transcribed spacer*) del ARNr se utiliza para evaluar la filogenia fúngica y, a partir de ahí, la evaluación del microbioma (122). Esta región ITS es ampliamente aceptada como el marcador estándar para la identificación fúngica debido a su alta variabilidad entre especies, lo que permite una discriminación más precisa. Dado que algunas plataformas de secuenciación tienen limitaciones en la longitud de lectura, se suelen secuenciar partes específicas de la región ITS, como ITS1 o ITS2, de forma similar a cómo se seleccionan regiones hipervariables en la secuenciación del 16S ARNr para bacterias. Esta selección debe realizarse cuidadosamente, ya que los cebadores utilizados pueden introducir sesgos hacia ciertos filos fúngicos, afectando la precisión del análisis (122). Una de las bases de datos centrada en la región ITS y ampliamente utilizada para identificación molecular y taxonómica del microbioma es *UNITE* (123).

1.11.3. Ecología: terminología y métricas

El análisis del microbioma humano adopta múltiples conceptos y términos del campo de la ecología, permitiendo una caracterización detallada de la estructura y diversidad de las

comunidades microbianas en diversos ambientes del cuerpo humano, como las vías respiratorias en pacientes con BQ. Dos conceptos fundamentales en el análisis ecológico del microbioma son la alfa diversidad (α -diversidad) y la beta diversidad (β -diversidad), que proporcionan información sobre la estructura interna de una comunidad y las diferencias entre distintas comunidades microbianas, respectivamente.

La α -diversidad es una medida que evalúa la diversidad ecológica dentro de una única muestra. Este concepto incluye tanto la riqueza (número de especies presentes) como la uniformidad (distribución equitativa de especies). Existen diferentes métricas para cuantificar la α -diversidad, siendo la más simple un recuento de todas las OTU presentes, pero el índice de diversidad de Shannon (Shannon-Weaver o de Shannon-Wiener) es una de las más utilizadas. Este índice tiene en cuenta tanto la abundancia relativa como la uniformidad de las especies, proporcionando una visión más profunda del equilibrio dentro de la comunidad. Un valor más alto de Shannon indica una mayor diversidad y equilibrio en la comunidad microbiana.

Otros conceptos ampliamente utilizados en el estudio del microbioma son la abundancia relativa y la dominancia, aunque muchas veces se utilicen indistintamente. La abundancia relativa es a la proporción que representan los individuos de un género o especie particular, respecto al total de individuos de una comunidad. La dominancia se refiere al grado en el que una o más especies son numéricamente dominantes dentro de la microbiota. Algunos lo utilizan como un concepto más estricto y exigente, refiriéndose al género más abundante, pero con al menos el doble de abundancia que el segundo más abundante (124).

La β -diversidad mide la similitud o disimilitud entre diferentes comunidades microbianas, proporcionando una comparación entre múltiples muestras. Es decir, mide las unidades taxonómicas de cada especie encontradas entre dos hábitats distintos o en el mismo hábitat, en diferentes momentos. Cuanto mayor es la medida de β -diversidad, menor será el número de especies compartidas entre los distintos hábitats. El índice más utilizado para medir la β -diversidad es la distancia de Bray-Curtis, que evalúa la disimilitud compositiva entre dos comunidades, asignando un valor entre 0 y 1, donde 0 indica que ambas comunidades comparten todas las especies y 1 indica que no comparten ninguna. Otro índice relevante para medir la β -diversidad es la distancia *UniFrac* ponderada, que incorpora la distancia filogenética entre especies y sus abundancias. Esta métrica es útil para reducir el peso de especies raras y centrarse en aquellas que tienen una presencia más significativa en las

comunidades comparadas. El análisis de la β -diversidad se complementa a menudo con herramientas como el análisis de coordenadas principales (PCoA, del inglés *Principal Coordinate Analysis*). Este método permite visualizar gráficamente las principales fuentes de variación en los datos multidimensionales, proporcionando una representación clara de cómo las comunidades microbianas difieren entre sí en términos de composición.

Otro concepto clave en el estudio del microbioma es el de disbiosis, que se refiere a un cambio en la composición de la comunidad microbiana, generalmente caracterizado por una pérdida de diversidad y la proliferación de microorganismos patógenos. La riqueza y la uniformidad del microbioma son cruciales en la prevención de esta disbiosis. Una pérdida de uniformidad o una disminución significativa en la riqueza puede ser indicativa de disbiosis.

En el contexto de BQ, la disbiosis es común debido a la inflamación crónica y el daño tisular que caracteriza esta condición. Esta alteración del equilibrio microbiano puede llevar a una reducción de la funcionalidad normal del microbioma y promover infecciones persistentes por patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Haemophilus influenzae*.

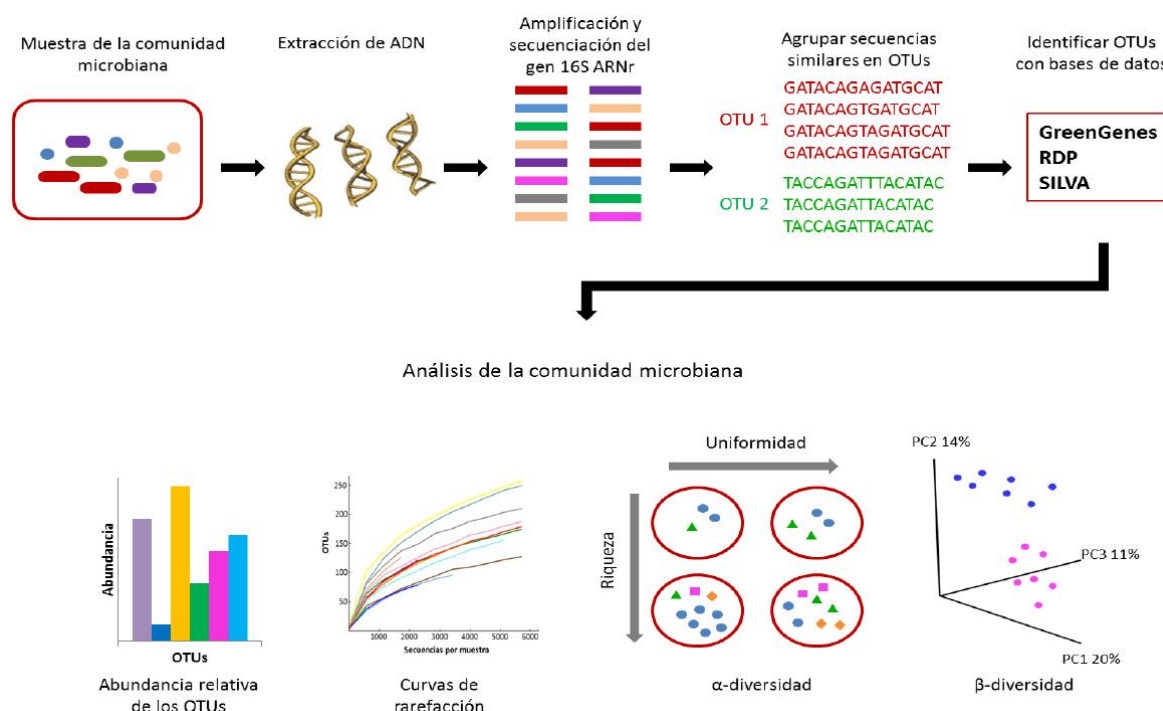


Figura 10: Flujo de trabajo en los estudios de la microbiota basados en la secuenciación del gen 16S ARNr (Modificado de *Morgan y cols.* (125)).

1.12. Microbioma del pulmón sano

Hasta ahora, la vía aérea se consideraba un ambiente estéril, ya que las técnicas microbiológicas convencionales, basadas en cultivos, no lograban detectar la presencia de microorganismos. Sin embargo, gracias las nuevas técnicas de secuenciación del gen 16S rRNA, se ha revelado que las vías respiratorias albergan una gran cantidad de microorganismos, incluso en individuos sanos (126).

El microbioma respiratorio sano sigue un gradiente de diversidad, que es mayor en la vía aérea superior y disminuye progresivamente hacia la vía aérea inferior (127), aunque ambos son bastante similares, estando dominados por los filos Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacteria.

En las vías respiratorias superiores, el microbioma predominante incluye bacterias como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Rothia*, *Neisseria* y menos representado *Haemophilus*, todas ellas predominantemente en el microbioma oral, además de virus de la familia *Herpesviridae* (128). También alberga un viroma rico, con representación de las familias *Siphoviridae*, *Myoviridae* y *Podoviridae*, que atacan a las bacterias más comunes del microbioma oral, además de virus de la familia *Herpesviridae*. (128). En cuanto al micobioma, predominan *Candida* y *Saccharomycetales* (128).

En las vías respiratorias inferiores, el número de bacterias es considerablemente menor, y la diversidad es diferente a la de las vías superiores. Los géneros predominantes en esta región incluyen *Streptococcus*, *Prevotella* y *Veillonella*, con representación de los filos Bacteroidetes, Proteobacteria y Firmicutes (129).

Además, el viroma está compuesto principalmente por *Anelloviridae*, junto con otros virus como los del herpes y el papiloma humano (130), mientras que el micobioma incluye hongos como *Ceriporia lacerate*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Penicillium brevicompactum* (131).

Un aspecto importante a mencionar es que el microbioma del pulmón sano es transitorio, ya que los microorganismos llegan a la vía aérea inferior mediante inhalación o microaspiraciones desde las vías superiores, para luego ser eliminados por el sistema mucociliar y las defensas inmunológicas innatas.

También es importante referir que el esputo se utiliza de manera rutinaria como sustituto del microbioma de las vías respiratorias inferiores. Sin embargo, hay que reconocer que el esputo es una combinación de secreciones del tracto respiratorio inferior y superior, incluido el microbioma oral. La comparación directa entre el esputo y el BAL ha demostrado que el

esputo contiene una carga bacteriana comparable a la de las vías respiratorias superiores, con diferencias significativas en la β -diversidad entre todas las muestras. Las muestras de esputo son más similares a las muestras supraglóticas, lo que indica que el esputo no es un representante preciso del microbioma de las vías respiratorias inferiores (132). Sin embargo, se considera como una muestra representativa en enfermedades con alto volumen de esputo, como la fibrosis quística (FQ) (124) y BQ no debidas a FQ (114,115,133) y, de hecho, ha sido la muestra más utilizada en las grandes cohortes de microbioma en BQ, lo que no sería posible si todos los participantes tuvieran que someterse a múltiples broncoscopias. La composición del microbioma del pulmón sano tiene diferencias más marcadas respecto a los pacientes con enfermedades respiratorias crónicas como la FQ (134,135), la fibrosis pulmonar idiopática (136) y en las BQ no FQ (114,137). En estas condiciones patológicas, se observa una disminución de la diversidad microbiana, acompañada de un aumento en la abundancia de Proteobacteria, fenómeno conocido como disbiosis. Esta pérdida de diversidad microbiana se ha asociado con una mayor gravedad de la enfermedad y con episodios de exacerbación, aunque no está claro si la disbiosis es causa o consecuencia del daño a las superficies broncoalveolares.

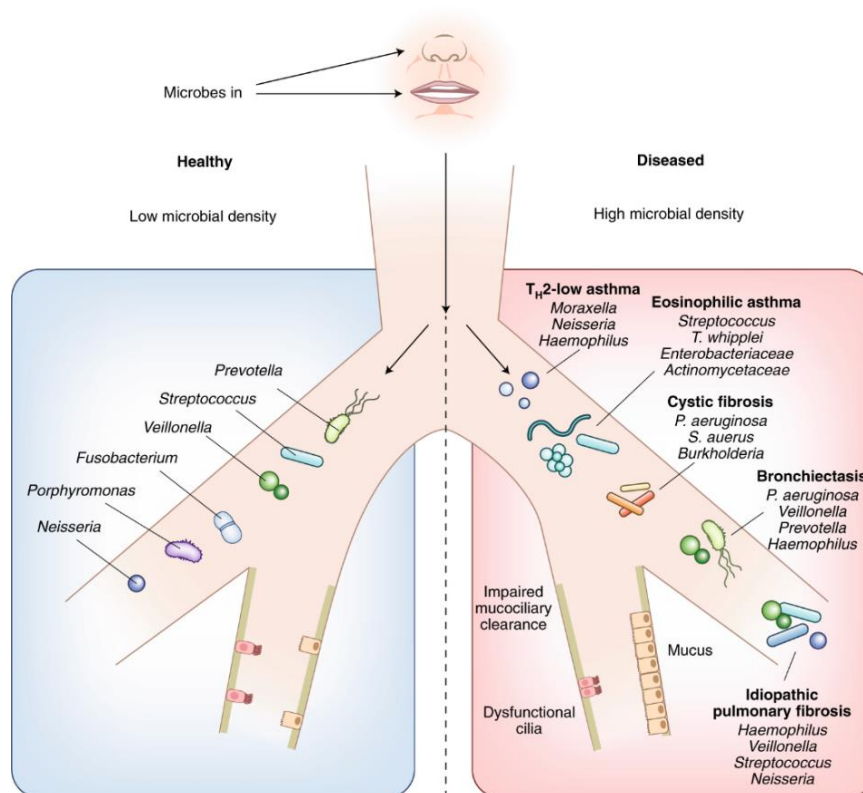


Figura 11: Densidad microbiana en pulmones sanos y pulmones con enfermedad. La figura muestra como aumenta la carga bacteriana total a medida que disminuye la diversidad en la enfermedad respiratoria crónica (138).

1.13. Microbioma en bronquiectasias

En el contexto de las BQ no FQ, las técnicas convencionales de cultivo han identificado como patógenos predominantes: *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* (139–141). Sin embargo, en una proporción considerable de pacientes (hasta un 20%), no se logra aislar ningún patógeno, incluso en esputos purulentos (106,107). La NGS ha permitido descubrir la complejidad del microbioma respiratorio en pacientes con BQ, y ha revelado que la estructura microbiana varía significativamente entre individuos (114). COX y TUNNEY

Antes de empezar con la descripción del microbioma en BQ es importante destacar que la mayoría de los estudios se han realizado utilizando muestras de esputo, lo que plantea ciertas limitaciones debido a que el esputo contiene una mezcla de microorganismos de la vía aérea superior e inferior, tal como referido en apartados previos.

Las líneas de investigación recientes han intentado utilizar el microbioma para clasificar y comprender mejor los diferentes fenotipos de BQ. Una de las primeras cohortes de microbioma de *Rogers et al* (114) identificó tres grupos principales según la dominancia de determinados microorganismos: un grupo dominado por *Pseudomonas*, otro dominado por *Haemophilus* y un tercero dominado por otros *taxa*, entre los que predominaban *Veillonella* y *Prevotella*, que no se detectaron mediante cultivos convencionales. Esta estratificación de los pacientes en función de los taxones bacterianos predominantes fue más informativa desde el punto de vista clínico que el análisis basado en cultivos convencionales o en PCR cuantitativa. Posteriormente, *Dicker et al*, basándose también en la clasificación por los géneros dominantes identificaron subgrupos de pacientes con mayor riesgo de tener peores resultados clínicos, como el dominado por *Pseudomonas* (115).

Las MNT son microorganismos presentes en el medioambiente y también juegan un papel en las infecciones respiratorias de pacientes con BQ. La incidencia de infecciones por MNT ha ido en aumento, aunque las razones detrás de este incremento no están claras. Se cree que el incremento de la utilización generalizada de macrólidos a largo plazo podría ser una explicación (142). A pesar de todo, el papel de las MNT en el microbioma respiratorio todavía no está bien establecido, ya que estas bacterias no se identifican correctamente mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. Además, los patrones inflamatorios de los pacientes con MNT son únicos y algo peculiares. Se ha observado que los comensales orales como *Prevotella*, *Veillonella* y *Leptotrichia* a menudo coinciden con un perfil inflamatorio

característico en estos pacientes. Esto sugiere que las microaspiraciones o la incapacidad de eliminar los microorganismos aspirados pueden contribuir a este endotipo inflamatorio de la enfermedad por MNT (132).

El microbioma tiene una importancia considerable en BQ. En estos pacientes se han identificado especies fúngicas como *Aspergillus*, *Cryptococcus* y *Clavispora*. Una alta proporción de estos pacientes presentaba *Aspergillus fumigatus* y/o *Aspergillus terreus*, que no se detectaron en individuos sanos. Gracias a una cohorte internacional de Asia y Europa (143), se han observado diferencias geográficas en la distribución de estas especies, con *A. fumigatus* más frecuente en Singapur y *A. terreus* en Escocia. Otro hallazgo importante de esta cohorte fue la detección de una alta incidencia de enfermedades del espectro de la Aspergilosis, incluidas la sensibilización por *Aspergillus* y la ABPA. Cada una de ellas reveló perfiles de microbioma distintos y se asoció con una enfermedad más grave, una peor función pulmonar y con más exacerbaciones. Por esta razón, se sugiere una detección precoz de enfermedades asociada a *Aspergillus*, incluso en pacientes aparentemente estables (143).

El viroma también desempeña un papel relevante en las BQ. Estos pacientes muestran una carga viral significativamente mayor en esputo, con una prevalencia destacada del virus parainfluenza humano tipo 3. Tal como los hongos, se han encontrado diferencias geográficas, siendo los pacientes asiáticos afectados en comparación con los europeos. El análisis de los bacteriófagos revela una predominancia de las familias *Siphoviridae*, *Caudovirales*, *Myoviridae* y *Phycodnaviridae* (144).

Por último, nos gustaría destacar la importancia de las exacerbaciones agudas en BQ y su relación con el microbioma. Tras correcto diagnóstico clínico de una exacerbación, el tratamiento estándar implica el uso de antimicrobianos, basado en la premisa de que el sobrecrecimiento bacteriano es la causa subyacente (96). Sin embargo, se ha observado que, durante las exacerbaciones, el microbioma es relativamente estable, sin cambios significativos en la carga bacteriana, en la diversidad o en la abundancia microbiana, lo que sugiere que los cambios de microbioma o el sobrecrecimiento de bacterias podrían no ser los principales detonantes de estas exacerbaciones (113,137).

2. HIPÓTESIS

Hipótesis general: El análisis del microbioma respiratorio proporciona un nivel de detalle superior al de los métodos de cultivo tradicionales y permite establecer relaciones entre la composición microbiana y los resultados clínicos en pacientes con bronquiectasias.

Hipótesis específica 1: La composición del microbioma respiratorio está asociada a las características clínicas de la enfermedad en pacientes con bronquiectasias, influyendo en la gravedad, la función pulmonar y la frecuencia de exacerbaciones.

Hipótesis específica 2: Diferentes etiologías de las bronquiectasias conllevan variaciones en la estructura y diversidad del microbioma respiratorio, reflejando patrones microbianos específicos según la causa subyacente de la enfermedad.

Hipótesis específica 3: La composición del microbioma respiratorio está directamente relacionada con la respuesta inflamatoria, tanto local como sistémica, y con los procesos de remodelado bronquial.

Hipótesis específica 4: El perfil del microbioma respiratorio puede emplearse como herramienta para estratificar a los pacientes con bronquiectasias, identificando aquellos con mayor riesgo de evolución desfavorable y peor pronóstico.

3. OBJETIVOS

Objetivo principal: Desarrollar una cohorte de pacientes con bronquiectasias fenotípicamente bien caracterizados, con el fin de recolectar una amplia variedad de muestras biológicas que faciliten el análisis del microbioma respiratorio, tanto bacteriano como fúngico, en fase de estabilidad y exacerbación, así como su variabilidad temporal.

Objetivo secundario 1: Caracterizar el microbioma respiratorio en sus componentes bacteriano y fúngico durante las fases de estabilidad y a lo largo del tiempo, y analizar su correlación con variables clínicas asociadas a la enfermedad.

Objetivo secundario 2: Investigar si la etiología de las bronquiectasias influye en las diferencias de composición del microbioma respiratorio.

Objetivo secundario 3: Examinar la relación entre el microbioma respiratorio bacteriano y fúngico y los patrones de inflamación bronquial y sistémica, así como el remodelado bronquial.

Objetivo secundario 4: Identificar perfiles de microbioma respiratorio que permitan estratificar a los pacientes en función del riesgo de peor evolución clínica y pronóstico de la enfermedad.

4. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico, con reclutamiento consecutivo de pacientes adultos con BQ no debidas a FQ.

4.2. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

4.2.1. Centros participantes

Participaron 9 centros a nivel nacional: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (Badalona), Hospital Universitari Vall d'Hebron (Barcelona), Hospital Universitari de Bellvitge (L'Hospitalet de Llobregat), Hospital del Mar - Parc Salut Mar (Barcelona), Hospital Universitari Mutua de Terrassa (Terrassa), Hospital Consorci Sanitari de Terrassa (Terrassa), Hospital Corporació Sanitària Parc Taulí (Sabadell), Hospital Universitari Dr. Josep Trueta (Girona) y Hospital Universitario Virgen del Rocío (Sevilla).

4.2.2. Criterios de inclusión

Pacientes adultos (de 18 años o más) con BQ no debidas a FQ, diagnosticadas por tomografía computarizada de alta resolución (TCAR) según los criterios validados descritos por *Naidich et al* (145), reclutados desde las consultas externas o los hospitales de día de neumología y que dieron su consentimiento informado por escrito. Los pacientes fueron incluidos durante una fase estable de su enfermedad, definida como ausencia de exacerbación o tratamiento antibiótico en las 4 semanas anteriores y fueron agrupados según la etiología de las BQ siguiendo las recomendaciones especificadas más adelante (Figura 12).

4.2.3. Criterios de exclusión

1. BQ por fibrosis quística.
2. BQ por tracción secundarias a fibrosis pulmonar.
3. Tratamiento con antibióticos sistémicos a largo plazo.
4. Tratamiento con fármacos inmunosupresores.
5. Tratamiento con corticoides orales (Equivalente a >10 mg prednisona/día).
6. Tratamiento con anticuerpos monoclonales.
7. Pronóstico vital inferior a los 12 meses de vida.
8. Comorbilidades significativas limitantes de las actividades de la vida diaria.

9. Neoplasia activa
10. Trasplante de cualquier órgano.
11. Infección por virus de la Inmunodeficiencia Humana.
12. Características del paciente o de su entorno que imposibiliten asegurar el seguimiento durante el tiempo de estudio.
13. El número de pacientes en el momento de la inclusión en el estudio en tratamiento con antibiótico de mantenimiento inhalado no superó el 30% de la muestra (60 pacientes). Se permitió el inicio de tratamiento con macrólidos y/o antibióticos inhalados durante el seguimiento si el clínico lo consideraba necesario, y se anotaba como variable de seguimiento.
14. Negativa a firmar el consentimiento informado.

4.2.4. Definición del tamaño muestral

En cuanto al tamaño de la muestra, en el momento del diseño del proyecto los estudios de microbioma en BQ publicados habían incluido series entre 40 y 107 pacientes (114,137), por lo que se consideró que la inclusión de 162 pacientes (18 pacientes por centro) con BQ garantizaría el logro de los objetivos de este estudio.

4.2.5. Aspectos éticos

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética del centro investigador principal (Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, PI-18-093) y posteriormente en cada centro reclutador. Se respetaron los principios éticos de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, 2013), las Normas de Buena Práctica Clínica, la legislación sobre investigación biomédica (Ley 14/2007), la obtención y procesamiento de muestras biológicas y biobancos (RD 1716/2011) y el procesamiento de datos se realizó de acuerdo con el Reglamento General de Protección de Datos de la Unión Europea.

4.3. DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

Se definió la etiología de las BQ según criterios estandarizados siguiendo las recomendaciones de la *normativa española sobre la valoración y el diagnóstico de las bronquiectasias en el adulto de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica*

(SEPAR) (72) y de la *guía de manejo de las bronquiectasias en adultos de la European Respiratory Society (ERS)* (49).

Se aceptó el diagnóstico etiológico propuesto por el investigador, pero se recomendó reevaluar y comprobar que se hubieran realizado las exploraciones del paquete básico de pruebas (especificado más adelante) en algún momento de la historia de la enfermedad especialmente cuando el diagnóstico fuera de “BQ Idiopáticas”. A continuación, se propone el algoritmo diagnóstico a seguir y la definición de las enfermedades asociadas:

Evaluación inicial: historia clínica detallada junto con un paquete de exploraciones complementarias que consta de analítica con hemograma, proteinograma, Inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgE), PCR, IgE total, IgG/IgE a *Aspergillus fumigatus* o prick test a *Aspergillus*, niveles de α -1-antitripsina, test del sudor, cultivo de esputo para bacterias, micobacterias y hongos, pruebas de función pulmonar con espirometría forzada, volúmenes y difusión alveolar (DL_{CO}). Los resultados de estas pruebas junto con las características radiológicas del TC de Tórax permitieron realizar el diagnóstico definitivo o de sospecha de etiologías como: inmunodeficiencias, déficit de α -1-antitripsina, ABPA, infección por MNT, malformaciones congénitas, traqueobroncomegalia (síndrome de Mounier-Kuhn), *situs inversus*, obstrucción bronquial. En caso de sospecha clínica de discinesia ciliar (sinusitis y otitis de repetición, infertilidad, dextrocardia) el diagnóstico se confirmó en centros especializados.

La asociación con otras enfermedades como la EPOC, asma, reflujo gastroesofágico (RGE), conectivopatías y enfermedad inflamatoria intestinal se consideró en:

- ✓ BQ asociadas a la EPOC: En ausencia de otros diagnósticos pacientes con antecedentes de tabaquismo de al menos 10 paquetes-año con obstrucción al flujo aéreo (índice FEV₁/FVC <70% con un FEV₁ <80%) según las guías clínicas.
- ✓ BQ asociadas al asma: En ausencia de otros diagnósticos pacientes con diagnóstico de asma de acuerdo con las guías clínicas.
- ✓ BQ asociadas a enfermedad inflamatoria intestinal: En ausencia de otros diagnósticos pacientes con colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.
- ✓ BQ asociadas a RGE: En ausencia de otros diagnósticos clínica compatible y confirmación mediante pHmetría o manometría.

- ✓ BQ asociadas a conectivopatías: Presencia de BQ y enfermedades del tejido conectivo, incluyendo la artritis reumatoide, el síndrome de Sjögren y la esclerosis sistémica, en ausencia de otros diagnósticos.

Solo se atribuyó a una causa postinfecciosa aquellas BQ que iniciaron una clínica compatible tras un episodio de infección respiratoria aguda o neumonía siempre que se hubieran excluido previamente otras causas. Finalmente, si las pruebas fueron negativas, no se encontró asociación con infecciones respiratorias graves previas u otras enfermedades se consideró un diagnóstico de BQ idiopáticas.

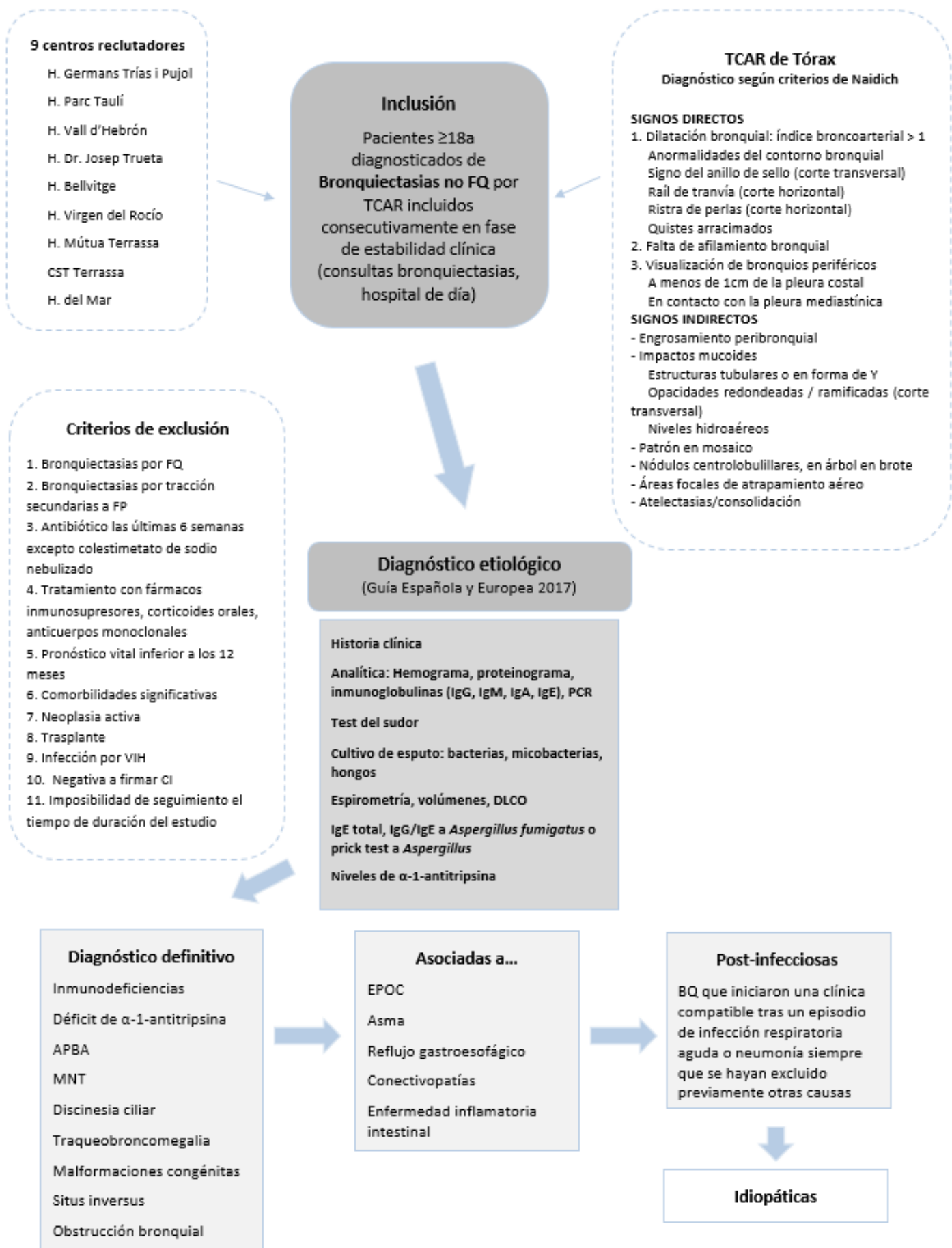


Figura 12: Algoritmo de inclusión de pacientes y diagnóstico etiológico.

4.4. VISITAS

Los pacientes se evaluaron a los 0, 6, 12 y 36 meses. Se realizó una primera visita de inclusión (V0) seguida de 2 visitas de seguimiento (V1-V2) todas ellas en fase de estabilidad y una visita cuando se produjo la primera exacerbación (VE), definida como un deterioro agudo en tres o más de los siguientes síntomas durante al menos 48 horas: tos, volumen y / o consistencia del esputo, purulencia del esputo, disnea y / o tolerancia al ejercicio, fatiga y / o malestar general y hemoptisis, lo que lleva a un clínico a un cambio en el tratamiento de BQ (95). La gravedad de la exacerbación se clasificó de la siguiente manera:

- Exacerbación moderada: que requiere tratamiento ambulatorio;
- Exacerbación grave: que requiere hospitalización o terapia con antibióticos por vía intravenosa;
- Exacerbación muy grave: que requiere admisión en la UCI o necesidad de ventilación mecánica.

Por último, a los 36 meses se realizó la visita 3 (no presencial), en la cual se recogieron datos de mortalidad y exacerbaciones en los dos años previos y función pulmonar en el momento de la visita.

4.5. VARIABLES CLÍNICAS y FUNCIONALES

4.5.1. Visita basal (V0)

1. Datos personales: edad, sexo, estudios, situación laboral, estado civil, hijos.
2. Hábitos tóxicos: tabaquismo, enolismo.
3. Comorbilidades: índice de Charlson. Osteoporosis, depresión, hipertensión arterial, dislipemia.
4. Tratamientos:
 - 4.1. No respiratorios.
 - 4.2. Respiratorios.
5. Historia de las BQ previa a la inclusión:
 - 5.1. Año diagnóstico.
 - 5.2. Etiología.
 - 5.3. Historia de hemoptisis y neumonías.
 - 5.4. Exacerbaciones y uso de recursos año previo.

5.5. Microbiología: Aislamientos microbiológicos año previo, historia de infección por *Pseudomonas aeruginosa*, infección bronquial crónica (*tres o más cultivos consecutivos positivos para un mismo MPP en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes*) (72).

6. Evaluación de las BQ en el momento actual:

6.1. Síntomas: tos, volumen de expectoración, color del esputo por escala de Murray cuantificada, escala de disnea de la mMRC.

6.2. Escala de gravedad multidimensional: BSI

6.3. Cuestionarios de calidad de vida: CAT y BHQ.

6.4. Evaluación funcional pulmonar completa: espirometría con prueba broncodilatadora, volúmenes pulmonares y difusión realizado entre 1 año previo y los 6 meses siguientes a la inclusión.

7. Exploración física: datos antropométricos, saturación de oxígeno. Valoración de boca séptica.

4.5.2. Visitas de seguimiento (V1-V2)

1. Evaluación de síntomas: tos, volumen expectoración, color esputo por Escala de Murray, escala de disnea mMRC.

2. Cuestionarios de calidad de vida: CAT, BHQ.

3. Evaluación de las exacerbaciones desde la visita anterior: número, gravedad, uso de recursos sanitarios, tratamiento administrado, microbiología.

4. Cambios en el tratamiento de las BQ: Inicio de tratamiento de mantenimiento con azitromicina o antibiótico inhalado.

5. En la visita (V2) adicionalmente se realizó espirometría con prueba broncodilatadora y se evaluó la gravedad mediante BSI.

4.5.3. Visita 3 (V3)

1. Revisión de mortalidad y sus causas: respiratoria, cardíaca, otras.

2. Evaluación de las exacerbaciones desde la V2: número, gravedad, uso de recursos sanitarios.

3. Espirometría forzada con prueba broncodilatadora, en los 6 meses previos.

4.5.4. Visita de exacerbación (VE)

1. Tiempo desde la inclusión.
2. Gravedad de la exacerbación.
3. Uso de recursos.
4. Tratamiento.

4.6. RECOGIDA, PROCESAMIENTO y ANÁLISIS DE MUESTRAS

4.6.1. Muestras de sangre:

- Extracción por venopunción 25 ml de sangre venosa periférica en cada una de las visitas en programadas (V0, V1, V2) y en la visita de exacerbación (VE).
- Determinación en el laboratorio central de cada hospital de Hemograma (Hemoglobina, Hematocrito, plaquetas, leucocitos, recuento celular absoluto y porcentual), Fibrinógeno, Bioquímica (glucosa, creatinina, proteínas totales, albúmina, GPT/ALT, GGT, proteína C reactiva (PCR). En la visita basal (V0) se incluyeron además test del sudor, niveles de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgE) y α -1-antitripsina.
- En todos los casos se reservaron 10 ml de sangre para extracción de suero y plasma que se alicuotaron en crioviales y se congelaron a - 80°C.

4.6.2. Muestras de esputo:

- Obtención de una muestra de esputo espontáneo en cada una de las visitas en programadas (V0, V1, V2) y en la visita de exacerbación (VE).
- En el caso de las visitas programadas, el esputo se recogió en situación de estabilidad clínica (> 2 semanas sin tratamiento antibiótico), priorizando la obtención del esputo mismo día de la visita. Si se recogió en domicilio se debería guardar en la nevera hasta que acudiese a la visita. Para su recogida, previamente los pacientes habrán tenido que enjuagarse la boca, beber agua y limpiarse la nariz para evitar contaminaciones.
- Trabajando en cabina de flujo laminar se seleccionó una parte de la muestra de esputo y se envió al servicio de microbiología de cada hospital para cultivo bacteriano semicuantitativo, cultivo para micobacterias y hongos. Estudio de sensibilidad antibiótica mediante el método de microdilución o disco difusión, siguiendo la normativa del European

Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Se congelaron las cepas de los microorganismos potencialmente patógenos aislados en tubos de congelación (2 tubos).

- Otra parte del esputo (de aprox. 200 µL) se dividió y se congeló a -80 en 5 crioviales.

Posteriormente todas las muestras fueron recogidas y almacenadas en el biobanco del *Institut de Recerca Germans Trias i Pujol* para su procesamiento.

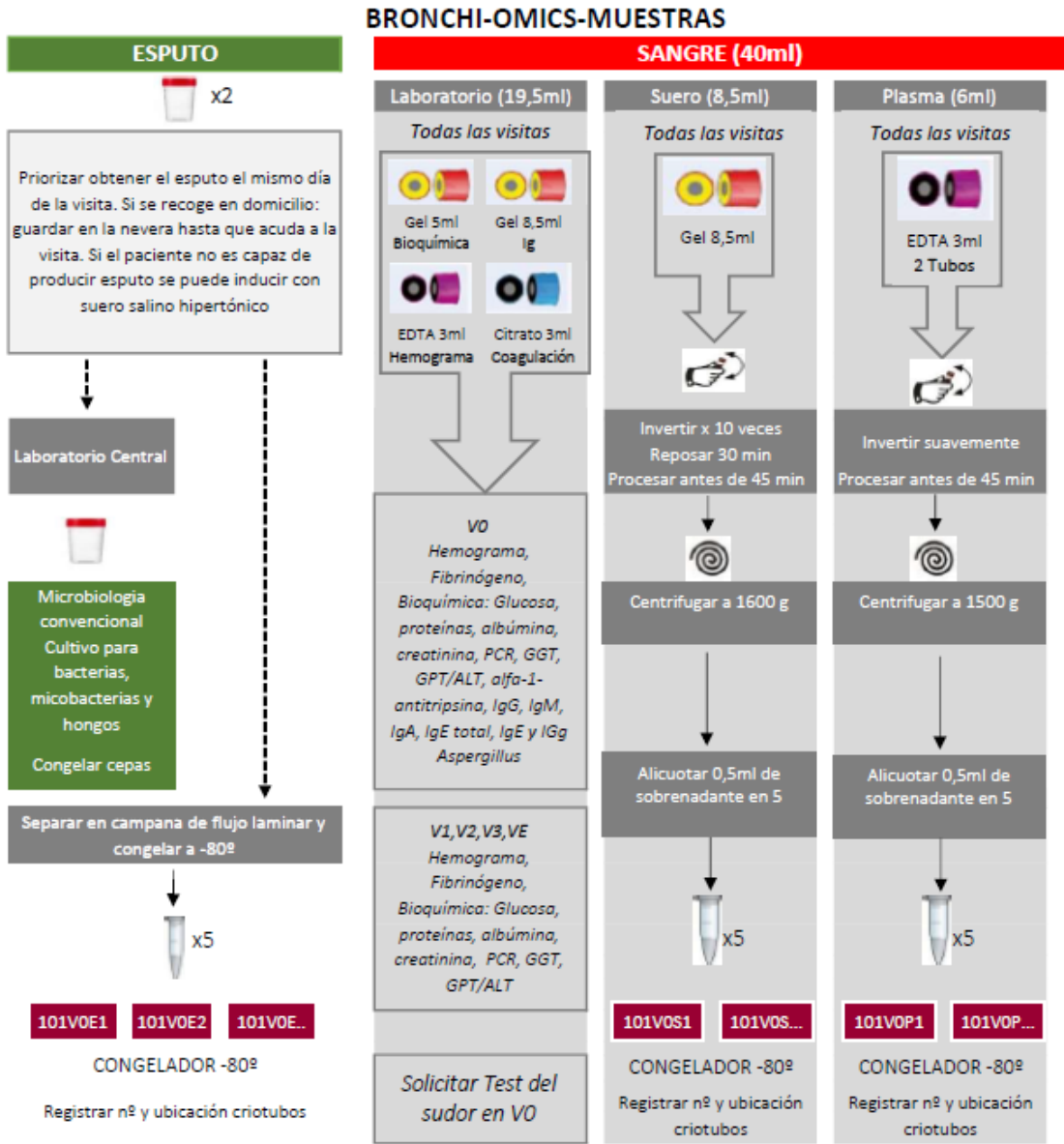


Figura 13: Diagrama de recogida de muestras.

4.6.3. Análisis de los marcadores de inflamación bronquial

Para la obtención del sobrenadante de esputo primero se trató una alícuota de 250 µl de esputo con 600 µl Sputolysin® (Merck Millipore) 1x y luego se incubó a 37 °C durante 15 minutos. Se añadió el mismo volumen de tampón fosfato salino y la muestra se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se recogió y se congeló a -80 °C. Posteriormente se midió la concentración de citoquinas en el sobrenadante. Se cuantificaron las IL-1β, IL-5, IL-8, IL-13, IL-17A, IL-18, IL-22, TNF-α, MMP-1, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 utilizando un método multiparamétrico Luminex® siguiendo las instrucciones del fabricante del kit PROCARTAPLEX 12 PLEX (LifeTechnologies) y los resultados fueron leídos y procesados en una plataforma Luminex 200 (Luminex xMap Technology, Merck) utilizando el software XPonent 3.1. La actividad de la elastasa neutrófilo (EN) se midió mediante inmunoensayo ProteaseTag® (ProAxis).

4.6.4. Análisis del microbioma respiratorio mediante amplificación y secuenciación

- Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN): Se trató una alícuota de 250 µl de esputo con 600 µl Sputolysin® 1x y se incubó a 37 °C durante 15 minutos. Se añadió 600 µl de tampón fosfato salino y se centrifugó a 13000 G durante 15 minutos. El sedimento se recogió y se resuspendió en 500 µl de tampón de lisis (Tris 0,5 M, EDTA 1 mM y SDS 2%) y se digirió enzimáticamente con una solución compuesta por 125 U de mutanolisina (Sigma-Aldrich; M9901), 100 U de lisostafina (Sigma-Aldrich; L9043), 200 U Liticasa (Sigma-Aldrich; L2524), 20000 U Lisozima (Sigma-Aldrich; L6876), incubando a 30 °C durante 30 minutos. A continuación, la muestra se digirió mecánicamente con Lysing Matrix A (MP Bio, Alemania) en TissueLyser (QIAGEN) a 20,0 Hz durante 2 minutos. Las muestras se sometieron a un choque térmico a 95 °C durante 10 minutos, seguido de 5 minutos en hielo. La extracción de ADN se realizó con el kit QIAamp® DNA Mini (Qiagen, Alemania) siguiendo las instrucciones del fabricante.

- Control de calidad del ADN: Para el control de calidad se utilizaron dos diluciones seriadas de muestras de ADN. El ADN genómico se cuantificó utilizando SYBRGreen I (Sigma-Aldrich, Merck) y la carga bacteriana total en la muestra de ADN se estimó mediante un ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*) en tiempo real con cebadores descritos en Nadkarni et al. 2002 (5'- TCCTACGGGAGGCAGCAGT- 3'

directo y cebador inverso 5'- GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT- 3'), utilizando el sistema de PCR en tiempo real rápido 7900 HT (Applied Biosystems) (146).

4.6.5. Preparación de la librería para la determinación del microbioma bacteriano

La preparación de librerías bacterianas y secuenciación se realizaron en la Unidad de Genómica del Centro de Regulación Genómica de Barcelona (CRG). El proceso se describe en el protocolo del Proyecto *SacaLaLengua* (147).

Las muestras de ADN se normalizaron según su contenido de ADN bacteriano para usarse como plantilla para preparar librerías del gen 16S ADNr, en concreto se amplificó la región V3-V4 del gen con los cebadores descritos previamente (147), con algunas modificaciones. Para evitar una composición de bases desequilibrada en una secuenciación adicional de MiSeq, cambiamos las fases de secuenciación agregando varios números de bases (de 1 a 4) como espaciadores para los cebadores directos y reversos (utilizamos un total de 4 cebadores directos y 4 reversos).

La amplificación del V3-V4 16S ADNr se realizó en dos PCR con ciclos limitados. La primera PCR se realizó en un volumen final de 25 µl utilizando una concentración de cebador de 0,08 µM y NEBNext Q5 Hot Start HiFi PCR Master Mix (ref. M0543L, New England Biolabs). Las condiciones de PCR fueron una desnaturalización inicial de 30 s a 98 °C seguida de 5 ciclos de 98 °C durante 10 s, 55 °C durante 5 min y 65 °C durante 45s. La segunda PCR se realizó en un volumen de 50 µl con la finalidad de unir los adaptadores, para ello se utilizó NEBNext Q5 Hot Start HiFi PCR Master Mix junto con los adaptadores Nextera XT v2 con el siguiente programa de PCR: desnaturalización inicial de 30 s a 98 °C seguida de 17 ciclos de 98 °C por 10 s, 55 °C por 30 s y 65 °C por 45 s, finalizando con un paso de elongación final de 5 min a 65 °C.

Las librerías se purificaron utilizando AgenCourt AMPure XP beads (ref. A63882, Beckman Coulter) con una proporción de 0,9X según las instrucciones del fabricante y se analizaron utilizando Fragment Analyzer (ref. DNF-915, Agilent Biosystems) para estimar la cantidad y verificar la distribución del tamaño. Se preparó el conjunto de librerías normalizadas para la secuenciación posterior. Los grupos finales se cuantificaron mediante qPCR utilizando el kit de cuantificación librería Kapa para plataformas Illumina (Kapa Biosystems) en un termociclador en tiempo real ABI 7900HT (Applied Biosystems).

4.6.6. Preparación de la librería para la determinación del microbioma

La preparación de librerías fúngicas y secuenciación se realizaron en la Unidad de Genómica del CRG.

La región ITS (del inglés, *Internal Transcribed Spacer*) se amplificó a partir de extractos de muestras de ADN utilizando un conjunto de cebadores modificados: *gITS7ngs* (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGGTTAAGAGACAGNGTGARTCATCRARTYTTTG-3') e *ITS4ngs* (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGNTCCTSCGCTTATTGATATGC -3') que contiene un “espaciador de heterogeneidad” de 1-4 pb. La PCR se realizó en un volumen de 25 µl con una concentración de cebador de 0,2 µM y KAPA HiFi HotStart ReadyMix (ref. 07958935001, Roche). Las condiciones de PCR fueron una desnaturalización inicial de 3 min a 95 °C seguida de 35 ciclos de 98 °C durante 30 s, 50 °C durante 30 s y 72 °C durante 30 s, finalizando con un paso de elongación final de 5 min a 72 °C. Después de este primer paso de PCR, se añadió agua hasta un volumen total de 50 µl y las reacciones se purificaron utilizando AgenCourt AMPure XP (ref. A63882, Beckman Coulter).

Los primeros cebadores de PCR contienen salientes que permiten agregar adaptadores Nextera de longitud completa con códigos de barras para secuenciación múltiple en un segundo paso de PCR, lo que da como resultado bibliotecas listas para secuenciar con tamaños de inserto de aproximadamente 450 pb. Para ello, se utilizaron 5 µl de la primera amplificación como plantilla para la segunda PCR con cebadores adaptadores Nextera XT v2 en un volumen final de 50 µl utilizando la misma mezcla de PCR y perfil térmico que para la primera PCR pero solo 8 ciclos. Tras la segunda PCR, se utilizaron 25 µl del producto final para su purificación y normalización con el kit de normalización SequalPrep (ref. A10510-01, ThermoFisher Scientific), según el protocolo del fabricante. Las librerías fueron eluidas y agrupadas para la secuenciación. El conjunto de librerías final se analizó utilizando el instrumento Agilent Bioanalyzer (Agilent ref. 5067-4626) para estimar la cantidad y verificar la distribución del tamaño, y luego se cuantificaron mediante qPCR utilizando el kit de cuantificación el kit KAPA Library Quantification kit (ref. KK4835, KapaBiosystems) antes de la secuenciación con Miseq 2x300pb de Illumina.

4.6.7. Controles

Los controles negativos de las extracciones de ADN y los pasos de amplificación por PCR se realizaron de forma rutinaria en paralelo, utilizando las mismas condiciones y reactivos. Nuestros controles no proporcionaron sistemáticamente bandas visibles ni cantidades de ADN cuantificables. Además, se incluyó como control del proceso una comunidad microbiana estándar, el ZymoBIOMICS™ (ref. D6306, Zymo).

4.6.8. Secuenciación

La secuenciación se realizó en un Illumina MiSeq con lecturas de 2 × 300 pb utilizando química v3 con una concentración de carga de 15 pM. Para aumentar la diversidad de las secuencias, se añadió el 10% de PhiX, una librería control.

4.6.9. Evaluación del microbioma

El análisis bioinformático metagenómico se realizó mediante QIIME 2 2021 (148). Los datos de secuencia demultiplexados se depuraron utilizando DADA2 para secuencias pareadas (a través de q2-dada2) (149). Todas las ASVs (del inglés, *Amplicon Sequence Variants*) se alinearon con mafft (a través de q2-alignment) (150) y se usaron para construir una filogenia con FastTree2 (a través de q2-phylogeny) (151). Para cada muestra, se determinó la α diversidad utilizando el índice de diversidad de Shannon-Wiener (SWDI, del inglés Shannon-Wiener diversity index) (152). Para el conjunto de muestras se determinó la β -diversidad utilizando el índice de disimilitud de Bray-Curtis (153) y análisis de coordenadas principales (PCoA) se estimaron utilizando el complemento q2-diversity. La significancia grupal entre los índices de α - y β -diversidad se calculó con complementos QIIME2 utilizando la prueba de Kruskal-Wallis para Shannon-Wiener SWDI y el análisis de varianza multivariado permutacional (PERMANOVA) para la disimilitud de Bray-Curtis (153).

Se determinó la taxonomía de los ASV a través del clasificador q2-feature-classifier (Bokulich et al. 2018a) utilizando la base de datos Silva (Robeson 2021; Bokulich 2018) para bacterias y UNITE (Kõljalg 2020; Segata 2011) para hongos y se obtuvo la abundancia relativa de cada taxón.

Los géneros detectados en las muestras de control se compararon con las muestras y se eliminaron todos aquellos cuya presencia y concentración eran mayores en los controles que en las muestras. Después de la eliminación de los contaminantes, se volvieron a analizar la α - y β -diversidad y se recalculó la abundancia relativa de los taxones. El microbioma

central se definió en nuestro estudio como la ocurrencia de géneros en al menos el 60% de las muestras (154). Las muestras de microbioma se agruparon según el género dominante considerado como el más abundante con al menos el doble de abundancia que el segundo género más abundante (124). Finalmente, se utilizó el análisis discriminante lineal del tamaño del efecto (LEfSe, del inglés *Linear discriminant analysis Effect Size*) para identificar los géneros que muestran diferencias estadísticamente significativas y biológicamente consistentes entre grupos. Este algoritmo utiliza el Análisis Discriminante Lineal (LDA) para estimar el tamaño del efecto de cada característica diferencialmente abundante (155). Los perfiles de abundancia del microbioma se calcularon a nivel taxonómico de género y el valor umbral de la puntuación LDA logarítmica para características discriminativas fue 2,0.

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En primer lugar, se realizó un método de análisis integral de datos exploratorios automatizado (AutoDiscovery, Butler Scientifics, Barcelona, España) para evaluar comparaciones estratificadas bivariadas entre datos del microbioma (α -diversidad y β -diversidad, abundancia relativa y dominancia de los géneros) y variables clínicas relevantes (Gravedad de la enfermedad medida por BSI, FEV₁% previsto, frecuencia de exacerbaciones, ingreso hospitalario por exacerbación en el año anterior, síntomas respiratorios y calidad de vida medida por las escalas CAT y BHQ) y marcadores inflamatorios. El software AutoDiscovery seleccionó el método numérico apropiado en función del tipo de datos y la distribución de las variables evaluadas. Este proceso se llevó a cabo en cada uno de los posibles subgrupos del conjunto de datos generados mediante los factores de estratificación previamente seleccionados (género y rango de edad). Se rechazaron automáticamente los subgrupos o asociaciones con un tamaño muestral menor a 5, un tamaño muestral menor al 1% del tamaño muestral total o un nivel de significación α (test de dos colas) igual o mayor a 0,05. Dada la naturaleza de este método de testeo múltiple, las asociaciones identificadas se clasificaron según el resultado del método de corrección FDR (False Discovery Rate) aplicado (Benjamini-Hochberg, 5% de tasa de falsos descubrimientos) entre los siguientes niveles de relevancia:

a. Exclusiva vs. No Exclusiva: una asociación entre dos variables dadas se considera "Exclusiva" si su p-valor es menor a 0,05 en un (y solo un) subgrupo de muestras. En caso contrario, la asociación se considera "No Exclusiva".

b. Exploratoria vs Alta Significación: una asociación entre dos variables dadas se considera “Exploratoria” si su p-valor es menor que 0,05 y mayor que el umbral de p-valor obtenido en el FDR. La asociación se considera de “Alta Significación” si su p-valor es menor que el umbral de p-valor obtenido en el FDR.

Por último, se realizó una evaluación por parte de expertos de los resultados registrados (especialmente los resultados exclusivos y altamente significativos) para seleccionar los resultados más relevantes relacionados con los objetivos originales.

En segundo lugar, las asociaciones significativas identificadas se confirmaron utilizando el *software estadístico R versión 4.3.0*. Las variables categóricas se expresaron como frecuencias absolutas y relativas, y las variables continuas como medias y desviaciones estándar (DE) cuando la distribución era normal, o como mediana y rango intercuartil (RIQ) en caso contrario. Las asociaciones entre variables continuas y parámetros clínicos se evaluaron mediante correlaciones de Spearman. Se utilizaron pruebas de rangos con signo de Wilcoxon para comparar las diferencias entre los grupos dominantes. La β -diversidad se evaluó utilizando el análisis de coordenadas principales (PCoA) basado en la matriz de disimilitud de Bray-Curtis. Se utilizó LEfSe (tamaño del efecto del análisis discriminante lineal) para identificar géneros bacterianos con abundancias significativamente diferentes entre grupos para cada variable clínica relevante.

Se evaluó la relación entre la dominancia de género basal y la mortalidad, las exacerbaciones y la función pulmonar a los tres años de seguimiento, y la gravedad de las BQ medida por el BSI y la calidad de vida medida por los cuestionarios BHQ y CAT al año de seguimiento. Para el análisis de mortalidad, aplicamos curvas de Kaplan-Meier, que nos permitieron estimar las probabilidades de supervivencia en el tiempo y visualizar el tiempo hasta la ocurrencia del evento. Para evaluar el número total de exacerbaciones aplicamos un modelo inflado a cero que proporciona estimaciones de las exacerbaciones totales basadas en los géneros bacterianos dominantes. Se utilizó esta técnica de modelado debido al exceso de ceros de este resultado. Para los demás resultados numéricos, calculamos sus medianas y se estimaron modelos mixtos lineales para tener en cuenta el efecto del predominio bacteriano y el tiempo en cada resultado.

Siempre que fue posible, los intervalos de confianza se estimaron con un nivel de confianza del 95%. La significancia para las pruebas estadísticas se estableció en un valor p de 0,05 para los resultados exploratorios.

5. RESULTADOS

5.1. Características de la población del estudio

Se incluyeron un total de 165 pacientes entre febrero de 2019 y marzo de 2020. De estos, 153 proporcionaron muestras de esputo en fase estable, las cuales fueron de calidad adecuada para el análisis del microbioma basal. Las características demográficas y clínicas de los pacientes se detallan en la Tabla 5. El 60% de la cohorte (n = 91) estaba compuesto por mujeres, con una mediana de edad de 63 años. El valor mediano del FEV1% predicho fue del 80%. Según el BSI, más del 75% de los casos presentaban una gravedad leve a moderada. El 26% de los pacientes experimentó una alta frecuencia de exacerbaciones (≥ 3 exacerbaciones/año), y el 13% requirió hospitalización en el año anterior. Un total de 22 pacientes (14%) recibían tratamiento con antibióticos inhalados, mientras que 71 (46%) estaban bajo tratamiento con corticosteroides inhalados. Las etiologías de las BQ (Tabla 6) incluyeron causas postinfecciosas (n = 56; 36,6%), idiopáticas (n = 48; 31,4%), discinesia ciliar (n = 14; 9%), asma y EPOC (n = 13; 8,5%), neumonitis inflamatoria (n = 6; 4%), inmunodeficiencias (n = 4; 2,6%) y otras etiologías (n = 12; 8%).

Tabla 5. Características basales de la población de estudio

Demographics	
Total number of patients*	153
Age, years	63 (53 - 74)
Sex female	91 (60%)
Either smokers or former smokers	57 (37%)
Body-mass index, Kg/m ²	23 (22 - 27)
Charlson index	1.2 (1 - 1)
Respiratory treatments	
Nebulized antibiotic use	22 (14%)
Inhaled bronchodilators use	109 (71%)
Inhaled corticosteroids use	71 (46%)
Functional status	
FEV ₁ (% predicted)	80 (60- 90)
FEV ₁ / FVC ratio	70 (60 -80)

FEV ₁ / FVC <70%	75 (49%)
Clinical status	
Daily sputum volume >20mL	57 (37%)
Daily cough	103 (67%)
mMRC dyspnoea scale	0.8 (0 - 1)
Quality of life	
Bronchiectasis Health questionnaire	66 (59 - 73)
CAT score	14 (9 - 19)
Severity disease	
BSI score	6 (3 - 8)
BSI score risk	
Mild	56 (37%)
Moderate	59 (38%)
Severe	38 (25%)
Exacerbations	
Exacerbation frequency in the previous year	
0	43 (28%)
1	44 (29%)
2	26 (17%)
3 or more	40 (26%)
Severe exacerbation requiring hospitalization in the previous year	21 (13%)
Microbiology	
Chronic infection by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in previous year	20 (13%)
Chronic infection by other pathogens in previous year	16 (10.5%)
Bacteria isolation in stability	70 (46%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24 (16%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	23 (15%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6 (4%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (2.6%)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4 (2.6%)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2 (1.3%)

<i>Proteus mirabilis</i>	2 (1.3%)
Other	5 (3%)
Mycobacteria isolation in stability	4 (3%)
<i>Mycobacterium abcessus</i>	1 (0.7%)
<i>Mycobacterium avium Intracellulare</i>	1 (0.7%)
<i>Mycobacterium chelonae</i>	1 (0.7%)
<i>Mycobacterium Kansasii</i>	1 (0.7%)
Fungi isolation in stability	18 (12%)
<i>Aspergillus spp</i>	6 (4%)
<i>Candida Spp</i>	11 (7.4%)
Other	1 (0.6%)

Los datos son mediana (RIQ) o n (%); FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; Escala de disnea mMRC de Medical Research Council; CAT: COPD Assessment Test; BSI: Bronchiectasis Severity Index

*Se presentan las características de los pacientes que proporcionaron datos del microbioma (153 de 165 pacientes).

Tabla 6: Etiología de las bronquiectasias	
Idiopathic	48 (31.4%)
Post-infective	40 (26%)
Post-Tuberculosis	15 (10%)
NTM-Mycobacteria	1 (0.6%)
Ciliary dyskinesia	14 (9%)
Asthma	8 (5.2%)
COPD	5 (3.3%)
Inflammatory Pneumonitis	6 (4%)
Immunodeficiency	4 (2.6%)
Connective Tissue Disease	3 (2%)
Inflammatory Bowel Disease	3 (2%)
Others	6 (4%)

De los 153 pacientes incluidos en la visita basal (V0), 124 completaron la visita de seguimiento a los 6 meses (V1) y 122 finalizaron la visita a los 12 meses (V2). La media del período de seguimiento total hasta mayo de 2021 fue de 376 días (rango: 361-414 días). Se recolectaron un total de 246 muestras para el análisis del microbioma. Adicionalmente, se llevaron a cabo 39 visitas correspondientes a la primera exacerbación registrada tras la inclusión en el estudio, hasta julio de 2020, con un intervalo medio de 105,5 días (rango: 42-149,5 días) entre las visitas. Es importante destacar que las muestras de la visita basal fueron obtenidas durante el año previo al inicio del confinamiento asociado a la pandemia de COVID-19, finalizando en marzo de 2020. Asimismo, 37 de las 39 visitas por exacerbación (94,8%) ocurrieron antes de marzo de 2020. Sin embargo, de las 246 muestras de seguimiento, 181 (73,5%) se recolectaron después del inicio de la pandemia (Figura 14).

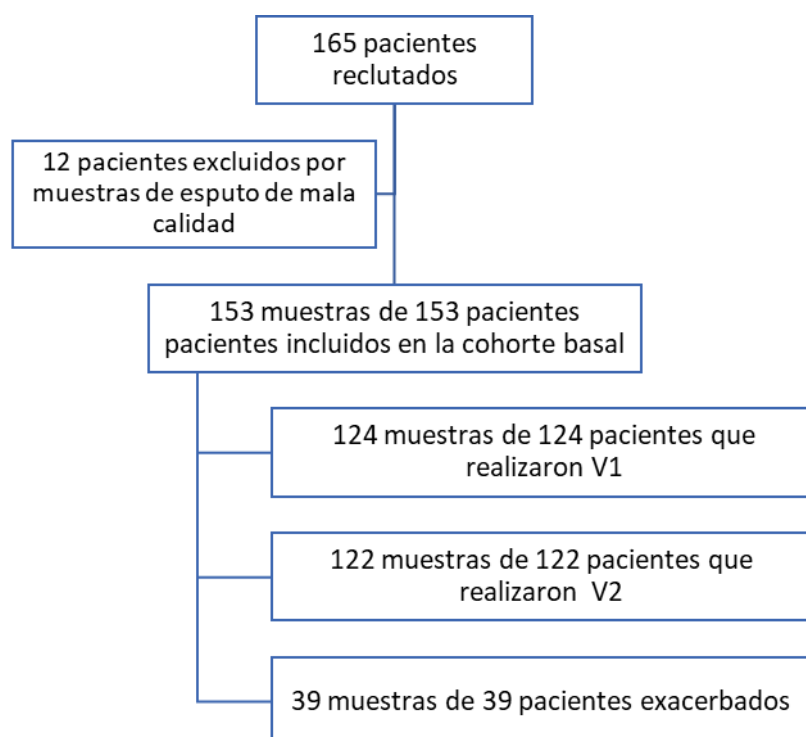


Figura 14: Diagrama de flujo de los pacientes reclutados y de las visitas de seguimiento.

5.2. Análisis de visita basal

5.2.1. Composición del microbioma

5.2.1.1. Composición del bacterioma

Después de aplicar los controles de calidad, se obtuvieron datos de secuenciación genética de 151 pacientes. Los filos predominantes observados fueron Firmicutes y Proteobacteria con la mayor abundancia relativa media, y en menor proporción Actinobacteria, Bacteroidetes y Fusobacteria (Figura 15). Se detectaron 149 géneros, siendo los más frecuentes los asociados a las poblaciones comensales de la cavidad oral, e incluyeron aerobios y anaerobios como *Streptococcus*, *Gemella*, *Prevotella*, *Granulicatella* y *Veillonella*, y patógenos respiratorios como *Haemophilus*, *Pseudomonas* y *Moraxella* (Figura 16).

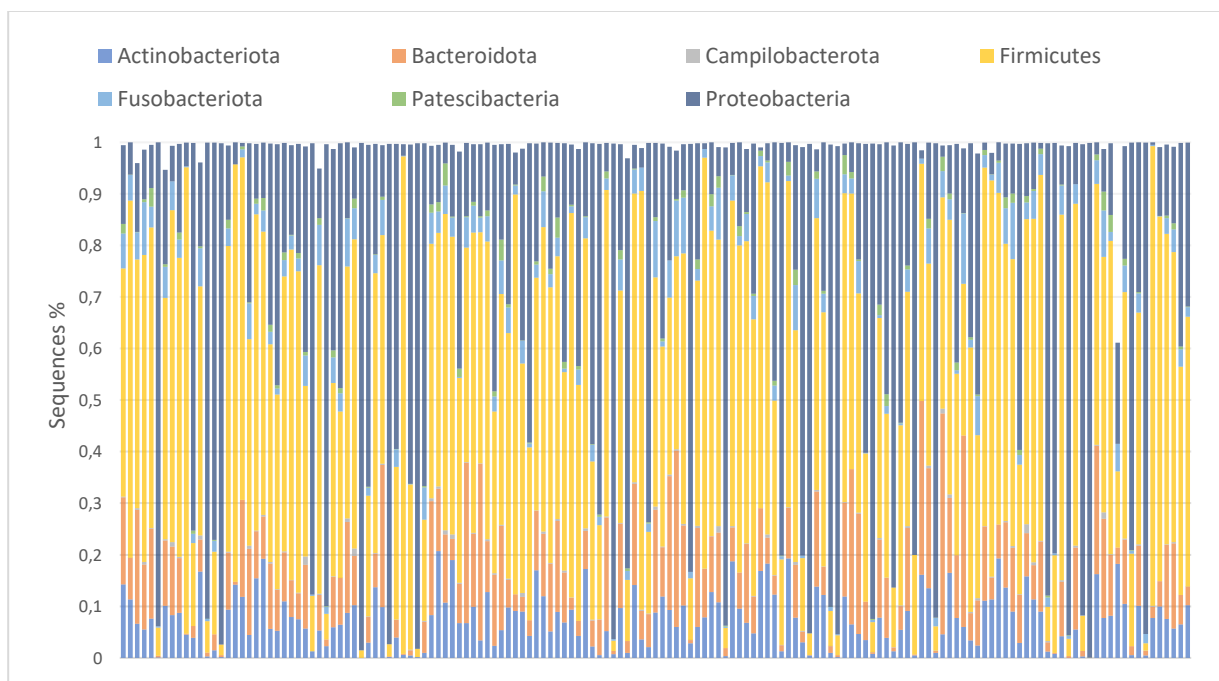


Figura 15: Composición del bacterioma a nivel de filo, con abundancia relativa >0.05%, por muestra.

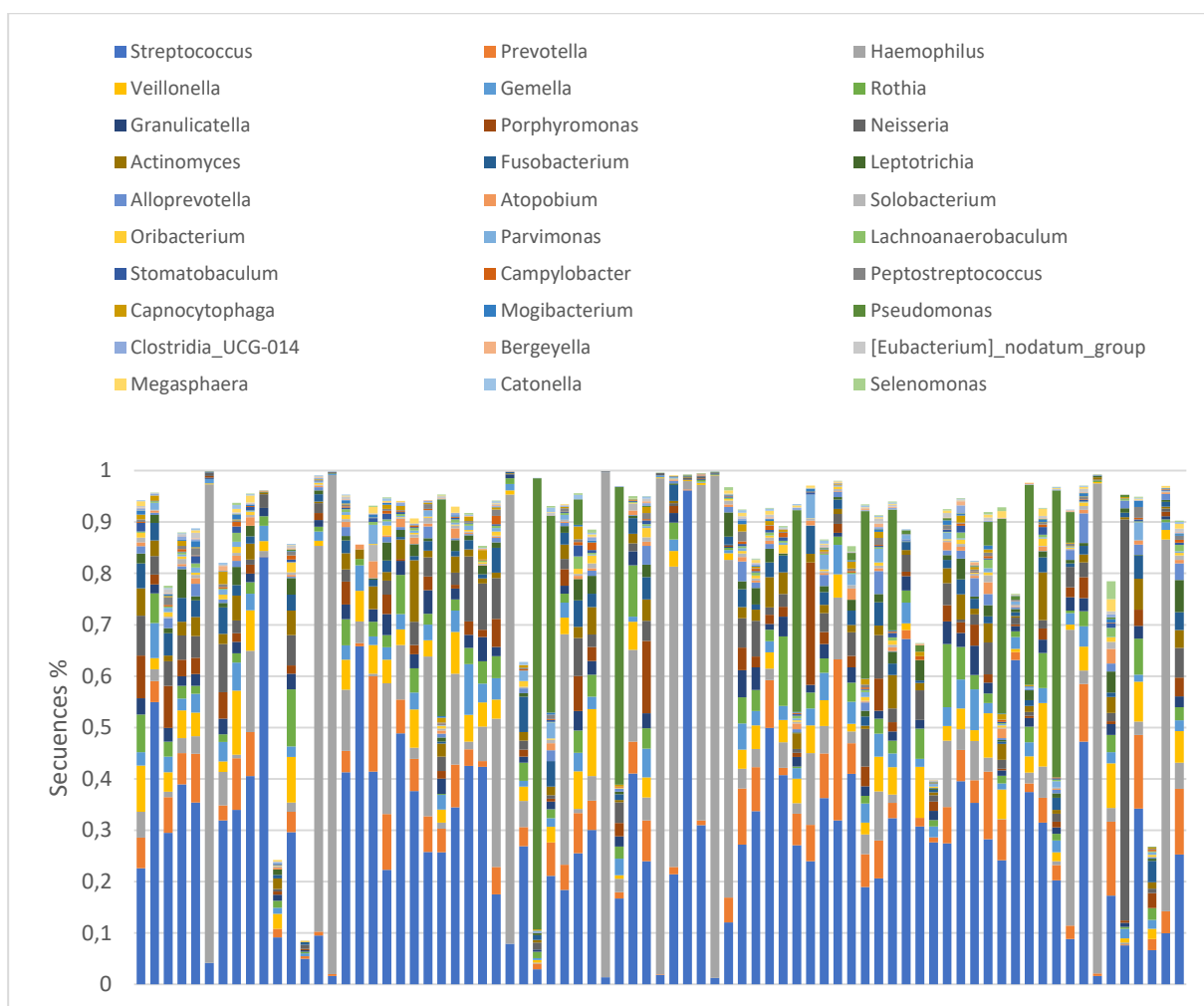


Figura 16: Composición del bacterioma a nivel de género, con abundancia relativa >0.05%, por muestra.

El microbioma central (en inglés *core microbiome*) (Figura 17) estaba compuesto por 26 géneros. Aunque *Pseudomonas* mostró una distribución menos uniforme, presentó altas abundancias relativas en ciertos pacientes. Además, se definió una variedad de otros géneros no tradicionalmente asociados con infecciones respiratorias como parte del microbioma central, aunque con bajas abundancias relativas.

Clasificando a los pacientes según el género bacteriano dominante, se identificaron bacteriomas con predominancia de *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Pseudomonas*, otros géneros (incluyendo *Moraxella*, *Neisseria* y *Staphylococcus*), y aquellos sin una dominancia específica (Tabla 7). Las comunidades dominadas por *Pseudomonas*, *Haemophilus* y otros géneros presentaron una mayor abundancia relativa y una reducción significativa de la α -diversidad ($p < 0,000$), en comparación con aquellas dominadas por *Streptococcus* o sin dominancia específica (Figura 18A). Las comunidades dominadas por *Streptococcus* se asociaron con la mayor α -diversidad.

El análisis de disimilitud de Bray-Curtis reveló diferencias significativas entre las comunidades bacterianas según el género dominante ($p=0,001$) (Figura 18B). En las comunidades dominadas por *Pseudomonas*, *Haemophilus* y otros géneros, el único género diferencial fue el género dominante, mientras que en las comunidades dominadas por *Streptococcus*, el microbioma estaba compuesta por una mayor diversidad de géneros (Figura 18C).

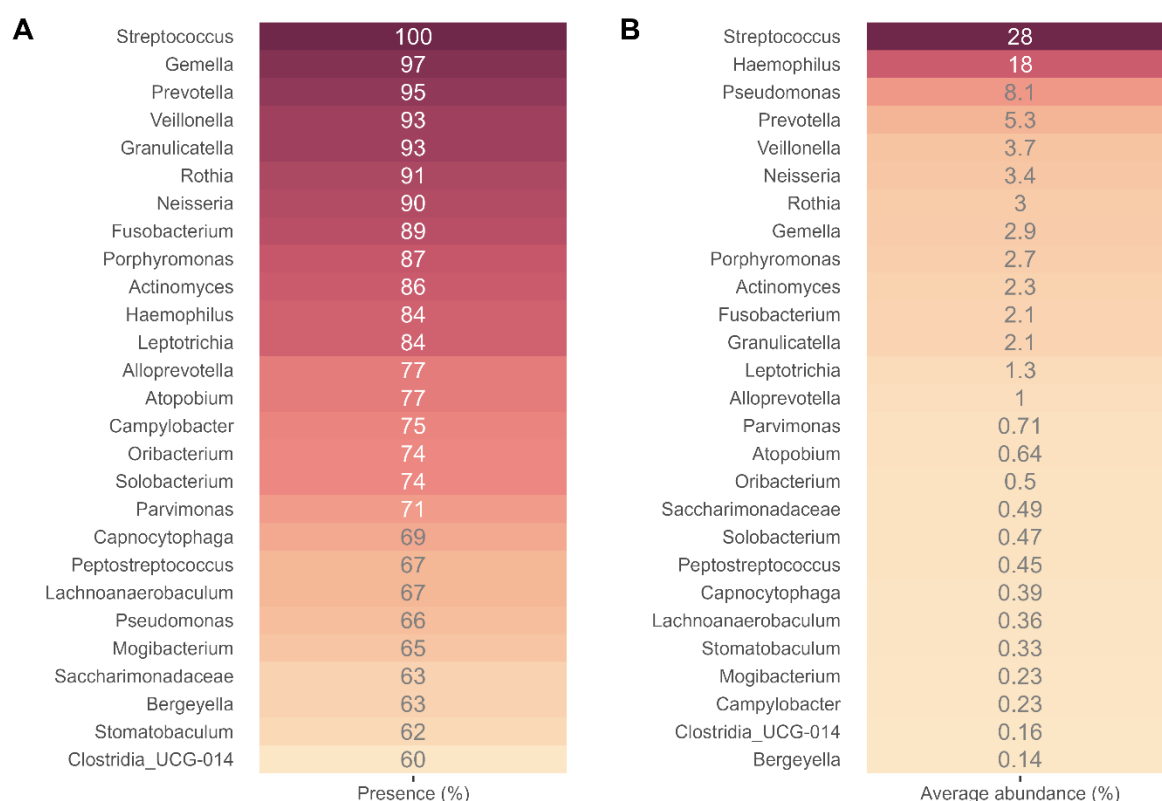


Figura 17: Composición del microbioma central (*core microbiome*). (A) Presencia de los géneros que componen el bacterioma central. (B) Abundancia relativa de los géneros que componen el bacterioma central.

Tabla 7: Mediana de abundancia relativa e índice de diversidad de Shannon-Wiener (SWDI) según filos y género dominante*

	n (%)	Relative abundance % median (IQR)	SWDI median (IQR)
Dominant bacteriome phyla			
Not dominated	43 (28.1)	44.92 (5.55)	4.87 (1.43)
Firmicutes dominated	73 (47.7)	59.23 (12.99)	5.19 (1.66)
Proteobacteria dominated	33 (24.2)	87.76 (15.62)	3.69 (3.34)
Dominant bacteriome genera			
Not dominated	40 (26.4%)	30.8 (10.6)	5.2 (1.1)
<i>Streptococcus</i> dominated	69 (45%)	38.9 (16.7)	5.6 (0.6)
<i>Haemophilus</i> dominated	28 (18%)	85.9 (23.9)	2.4 (1.5)
<i>Pseudomonas</i> dominated	10 (7%)	77.9 (30.5)	2.5 (1.5)
Dominated by another genera	4 (2.6%)	69.1 (10.7)	2.7 (0.5)
Dominant mycobiome phyla			
Not dominated	73 (47.7)	54.8 (8.8)	2.8 (0.9)
Ascomycota dominated	60 (39.2)	82.6 (18.6)	3.2 (0.9)
Basidiomycota dominated	20 (13.1)	71 (20.6)	1.7 (0.9)

*Dominante = El género o filo es el más abundante Y >2 veces la abundancia relativa del siguiente género o filo más abundante.

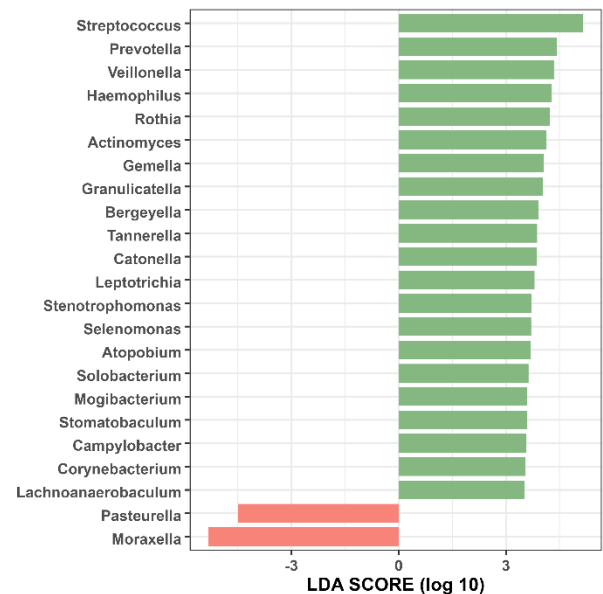
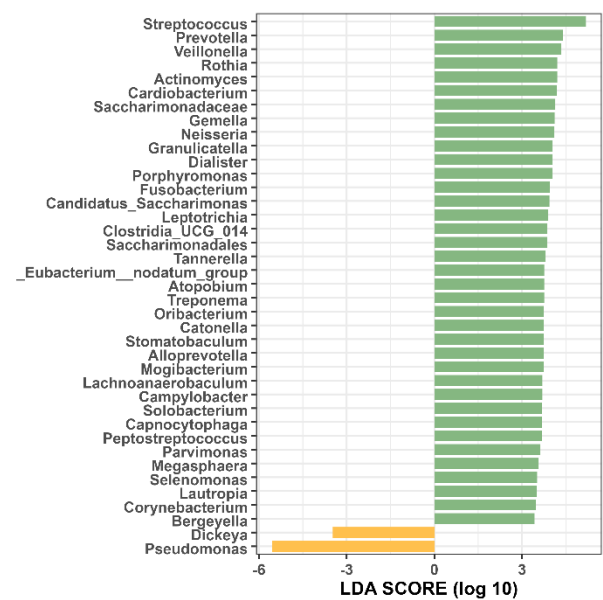
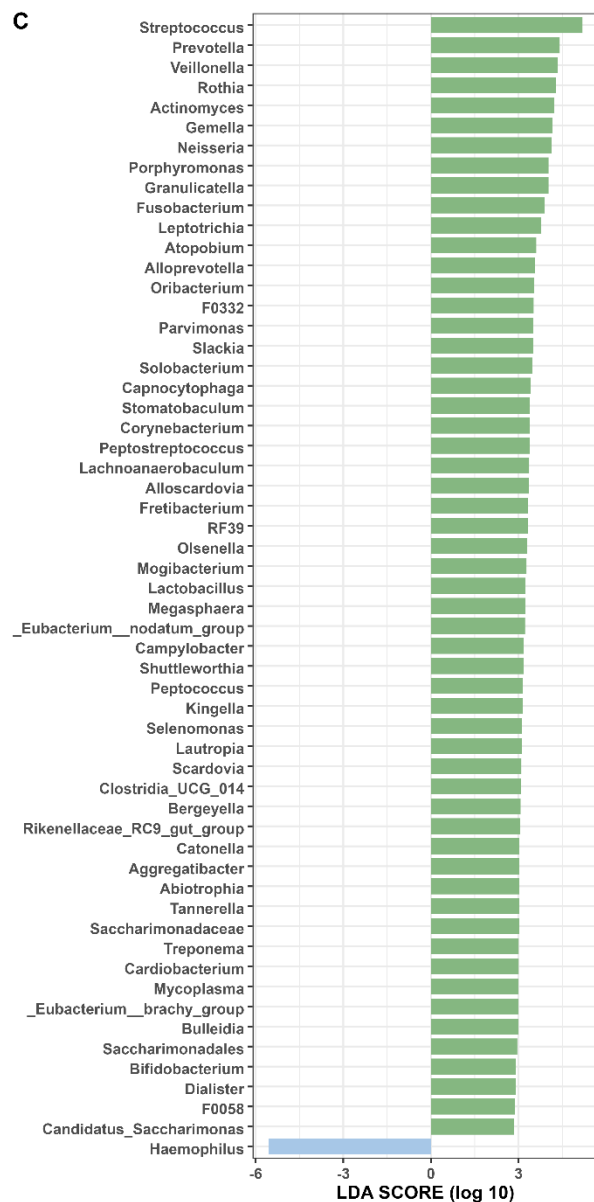
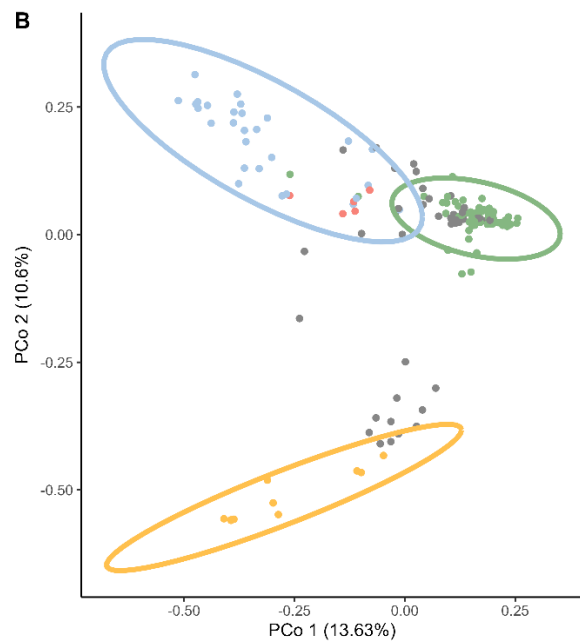
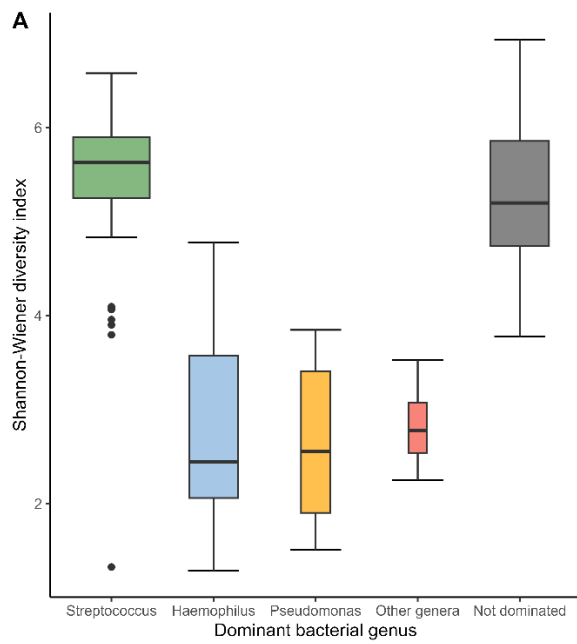


Figura 18: (A) Índice de diversidad de Shannon-Wiener comparado por género bacteriano dominante. (B) Disimilitud de Bray-Curtis por género bacteriano dominante. (C) Análisis LEfSe que muestra los géneros con mayores diferencias en abundancia entre los grupos dominantes. El valor umbral de la puntuación LDA logarítmica para características discriminativas fue 2,0. **Dominante = El género o filo es el más abundante Y >2 veces la abundancia relativa del siguiente género o filo más abundante.*

5.2.1.2. Composición del microbioma

Después de aplicar los controles de calidad, se obtuvieron datos de secuenciación genética de muestras de 149 pacientes. Los filos predominantes identificados fueron Ascomycota, Basidiomycota y Chytridiomycota, con una menor representación de Mucoromycota (Figura 19). A nivel de género, en muchas muestras no fue posible lograr una identificación taxonómica precisa. En total, se identificaron 143 géneros, pero solo *Saccharomyces*, *Candida*, *Cladosporium* y *Metschnikowia* presentaron una abundancia relativa $\geq 1\%$. Debido a esta limitación en la resolución taxonómica a nivel de género, el análisis de la comunidad fúngica se realizó a nivel de filo.

La estratificación del microbioma basada en la dominancia de los filos clasificó a los pacientes en tres grupos: comunidades fúngicas dominadas por Ascomycota, por Basidiomycota, y comunidades sin una dominancia específica (Tabla 7). La proporción entre las abundancias relativas de Basidiomycota y Ascomycota fue de 0,86. Las comunidades dominadas por Basidiomycota presentaron una pérdida significativa de α -diversidad y una β -diversidad distinta en comparación con las comunidades dominadas por Ascomycota o aquellas sin una dominancia específica, que mostraron mayor diversidad ($p < 0,000$ y $p = 0,001$, respectivamente) (Figuras 20A y 20B).

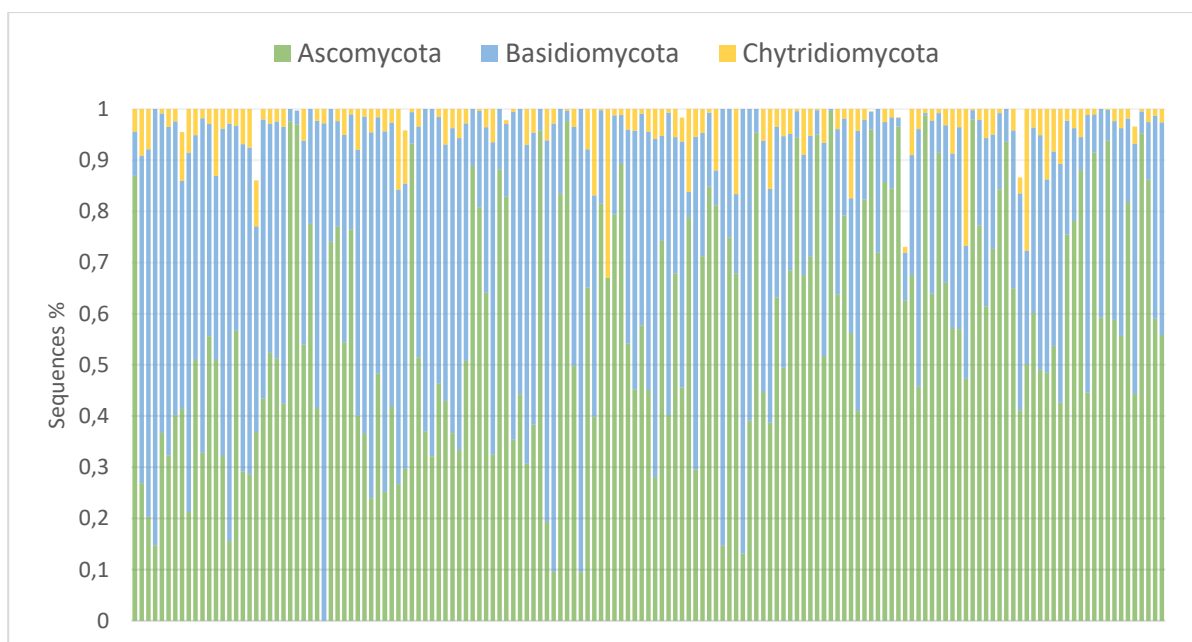


Figura 19: Composición del microbioma a nivel de filo, con abundancia relativa $>0.05\%$.

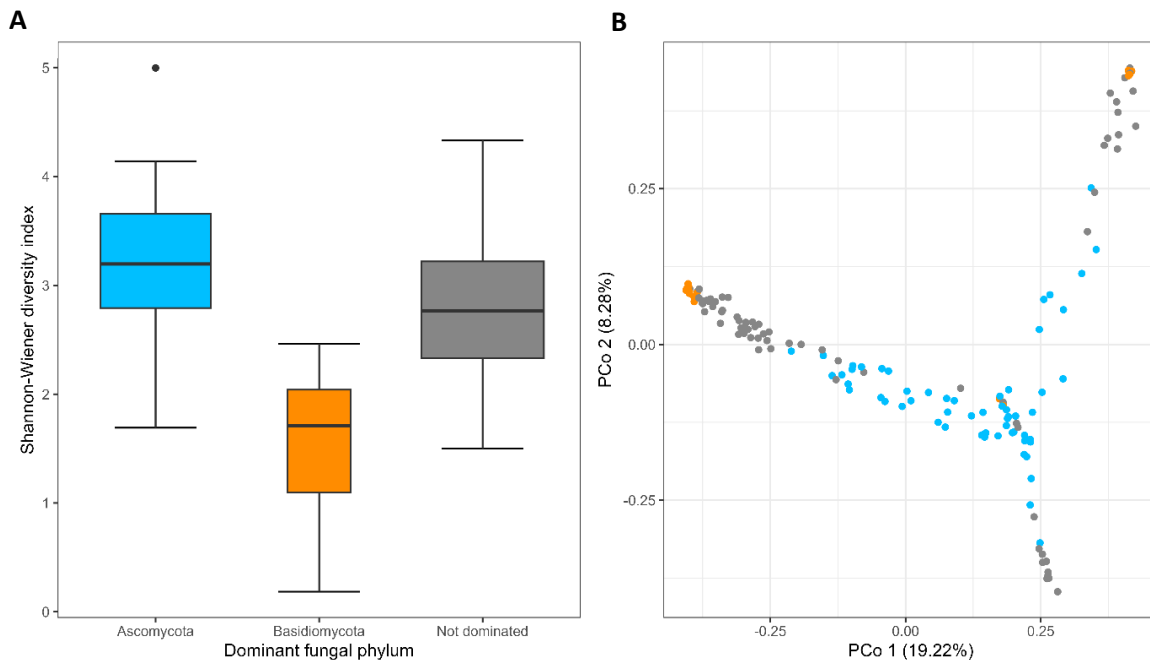


Figura 20: (A) Índice de diversidad de Shannon-Wiener comparado por filos de hongos dominantes. (B) Disimilitud de Bray-Curtis por filos de hongos dominantes. *Dominante = El género o filo es el más abundante Y >2 veces la abundancia relativa del siguiente género o filo más abundante.

5.2.2. Asociación entre microbioma y etiología de las bronquiectasias

La comparación de la α -diversidad y β -diversidad entre los grupos etiológicos no fue estadísticamente significativa, ni en el bacterioma ni en el microbioma (α -diversidad del bacterioma $p=0,3$; α -diversidad del microbioma $p=0,6$; β -diversidad del bacterioma $p=0,5$; β -diversidad del microbioma $p=0,1$).

El análisis LEfSe del bacterioma identificó a *Rothia* y *Porphyromonas* como los géneros diferenciales en pacientes con inmunodeficiencias, mientras que *Staphylococcus* fue el género diferencial en el grupo de pacientes con discinesia ciliar (Figura 21). En contraste, el análisis LEfSe del microbioma no detectó diferencias significativas entre los grupos etiológicos.

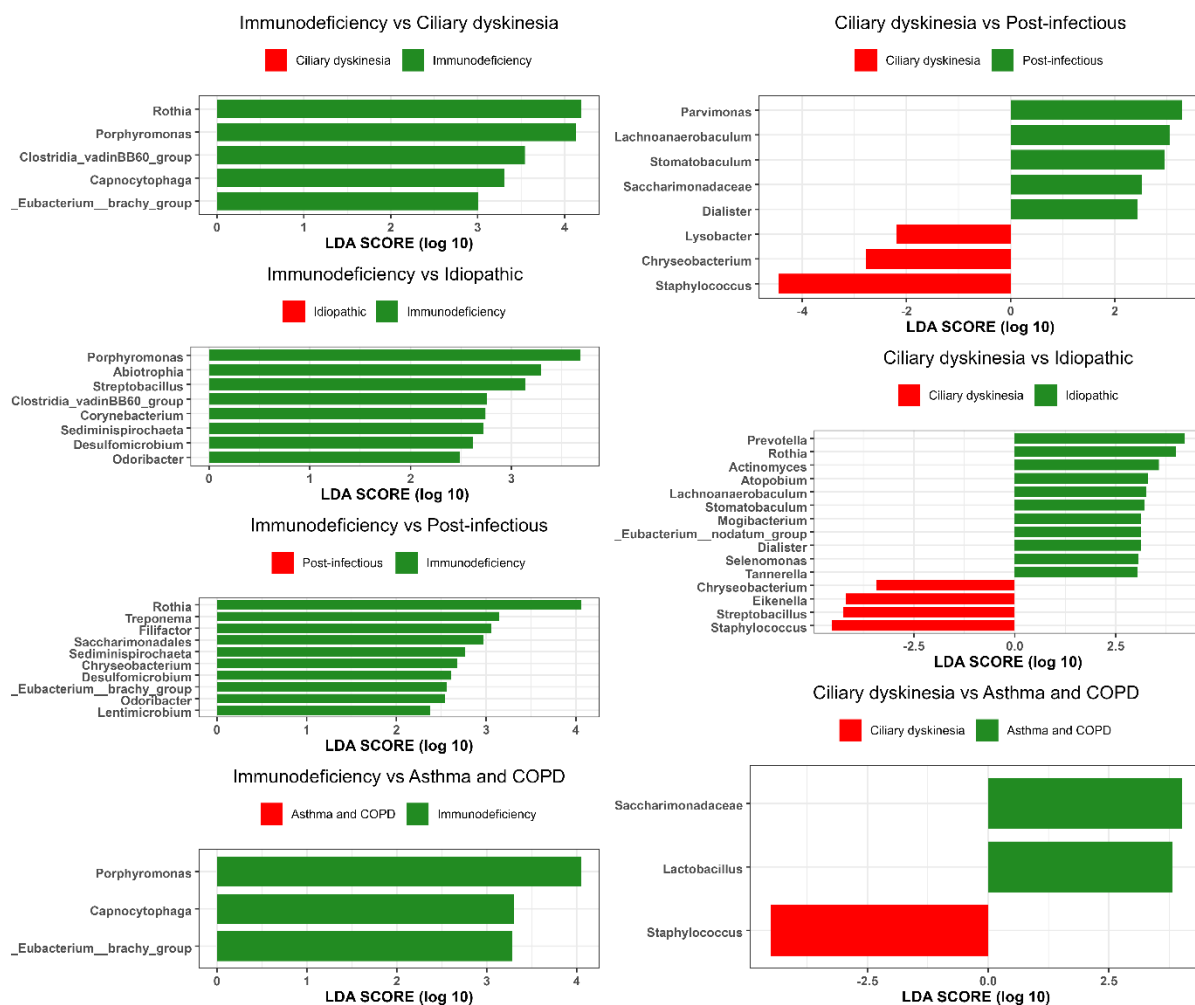


Figura 21: Composición del bacterioma según la etiología de las bronquiectasias. LEfSe mostrando los géneros con mayores diferencias en abundancia entre grupos etiológicos. El valor umbral de la puntuación LDA logarítmica para características discriminativas fue 2,0.

5.2.3. Asociación entre microbioma y características de la enfermedad

5.2.3.1. Diversidad del microbioma y características de la enfermedad

Todas las variables clínicas se evaluaron en relación con la α -diversidad y β -diversidad del microbioma (Tabla 8). Solo la reducción de la α -diversidad en el bacterioma se asoció con peores resultados en la gravedad de la enfermedad, como una puntuación BSI ≥ 9 , obstrucción al flujo aéreo ($FEV1/FVC < 70$), mayor sintomatología, incluyendo un volumen diario de esputo > 20 mL y tos persistente, así como la presencia de al menos una exacerbación grave que requirió hospitalización en el año previo.

Además, se realizó una correlación del índice SWDI del bacterioma con diversas variables clínicas, como el FEV1% del valor predicho, la puntuación BSI, y las escalas CAT y BHQ. El SWDI del bacterioma mostró una correlación positiva con el FEV1% del valor predicho ($r = 0,3$; $p < 0,001$) y una correlación negativa con la puntuación BSI ($r = 0,26$; $p = 0,001$). No se identificaron asociaciones significativas entre el microbioma y la calidad de vida de los pacientes. En cuanto al micobioma, no se encontraron correlaciones significativas entre la α -diversidad y las características clínicas de la enfermedad.

El índice de disimilitud de Bray-Curtis reveló diferencias significativas en la estructura del bacterioma en función de la puntuación BSI, la obstrucción al flujo aéreo, la gravedad de dicha obstrucción, el volumen de esputo y la presencia de tos diaria. En cuanto al micobioma, solo se observaron diferencias en la estructura según la presencia de obstrucción al flujo aéreo.

En relación con el tratamiento farmacológico, se observó una reducción significativa en la α -diversidad del bacterioma en los pacientes tratados con antibióticos nebulizados, acompañada de patrones distintivos en la estructura de la comunidad, identificados a través del análisis de la β -diversidad. Estas alteraciones en la diversidad no se observaron en pacientes que utilizaban corticosteroides inhalados. Sin embargo, en el micobioma se identificó una estructura comunitaria distinta entre los pacientes en tratamiento con corticosteroides inhalados.

Tabla 8: Índice de diversidad de Shannon-Wiener (SWDI) e índice de disimilitud de Bray-Curtis según las características de la enfermedad.

Disease characteristics		Shannon- Wiener diversity index (IQR)	p-value ¹	Bray-Curtis index p-value ²
Bacterial community				
BSI score	>9	5.38 (4.02-5.84)	<0.001	0.001
	≤9	4.56 (2.97-5.11)		
Airflow obstruction	FEV ₁ /FVC <70%	4.44 (2.88-5.49)	<0.0001	0.001
	FEV ₁ /FVC ≥70%	5.51 (5.02-5.88)		
	FEV ₁ <50%	4.9 (3.95-5.55)	0.305	0.009
	FEV ₁ ≥50%	5.23 (3.82-5.78)		
Symptoms	Daily sputum volume≥20ml	4.53 (2.58-5.35)	<0.001	0.003
	Daily sputum volume<20ml	5.39 (4.41-5.84)		
	Daily cough	5 (3,67-5,64)	0.018	0.038
	Non-daily cough	5.51 (4.55-5.85)		
Exacerbation history in the previous year	No exacerbations	5.03 (3.57-5.62)	0.123	0.289
	≥1 exacerbations	5.18 (3.96-5.79)		
	<3 exacerbations	5.57 (4.21-5.84)	0.230	0.586
	≥3 exacerbations	5.07 (3.81-5.68)		
	Severe exacerbation	4.53 (2.72-5.31)	0.016	0.212
	Non-Severe exacerbation	5.29 (4.02-5.78)		
Pharmacological treatment	Nebulized antibiotic	4.72 (3.79-5.05)	0.037	0.001
	Non-nebulized antibiotic	5.30 (3.90-5.79)		
	Inhaled corticosteroids	5.03 (3.87-5.74)	0.641	0.258
	Non-Inhaled corticosteroids	5.27 (3.82-5.82)		
Fungal community				
BSI score	≥9	2.81 (2.31-3.53)	0.586	0.846
	<9	2.86 (2.31-3.33)		
Airflow obstruction	FEV ₁ /FVC <70%	2.83 (2.32-3.47)	0.521	0.018
	FEV ₁ /FVC ≥70%	2.81 (2.30-3.31)		

	FEV ₁ <50%	2.77 (2.30-3.50)	0.805	0.403
	FEV ₁ ≥50%	2.82 (2.31-3.36)		
Symptoms	Daily sputum volume ≥20ml	2.74 (2.31-3.31)	0.436	0.797
	Daily sputum volume <20ml	2.87 (2.31-3.37)		
	Daily cough	2.81 (2.30-3.36)	0.940	0.134
	Non-daily cough	2.84 (2.33-3.38)		
Exacerbation history in the previous year	No exacerbations	2.79 (2.08-3.37)	0.299	0.880
	≥1 exacerbations	2.84 (2.39-3.36)		
	<3 exacerbations	2.87 (2.32-3.37)	0.908	0.267
	≥3 exacerbations	2.74 (2.29-3.27)		
	Severe exacerbation	2.79 (2.37-3.45)	0.821	0.636
	Non-Severe exacerbation	2.83 (2.30-3.36)		
Pharmacological treatment	Nebulized antibiotic	2.45 (2.00-3.36)	0.504	0.450
	Non-nebulized antibiotic	2.87 (2.33-3.36)		
	Inhaled corticosteroids	2.81 (2.36-3.33)	0.192	0.009
	Non-Inhaled corticosteroids	2.82 (2.26-3.38)		

¹ Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon. ² Calculado usando PERMANOVA.

5.2.3.2. Composición del microbioma y características de la enfermedad

El análisis LEfSe se utilizó para identificar los géneros bacterianos con diferencias significativas en abundancia asociadas a diversos resultados clínicos (Figura 22). En el bacterioma, *Pseudomonas* mostró una mayor abundancia relativa en pacientes con puntuación BSI ≥9, FEV₁/FVC <70 y FEV₁ <50% del valor predicho, mientras que *Proteus* también se asoció con una puntuación BSI ≥9. Por el contrario, *Haemophilus* fue el género característico de los pacientes con puntuación BSI <9 y FEV₁ ≥50% del predicho.

Además, otros géneros asociados a resultados clínicos favorables incluyeron *Moraxella*, vinculada a puntuaciones BSI <9, *Neisseria*, relacionada con BSI <9, FEV₁/FVC ≥70 y FEV₁ ≥50%, así como *Veillonella*, *Prevotella* y *Gemella*, las cuales se asociaron a una mayor abundancia en pacientes con FEV₁/FVC ≥70.

En cuanto a las exacerbaciones que requirieron hospitalización, el género *Tropheryma* se asoció con estos eventos, mientras que *Gemella* y *Porphyromonas* fueron más abundantes en el grupo de pacientes que no requirieron hospitalización. Respecto a la frecuencia de exacerbaciones, *Neisseria* se vinculó con la presencia de ≥ 3 exacerbaciones en el año previo.

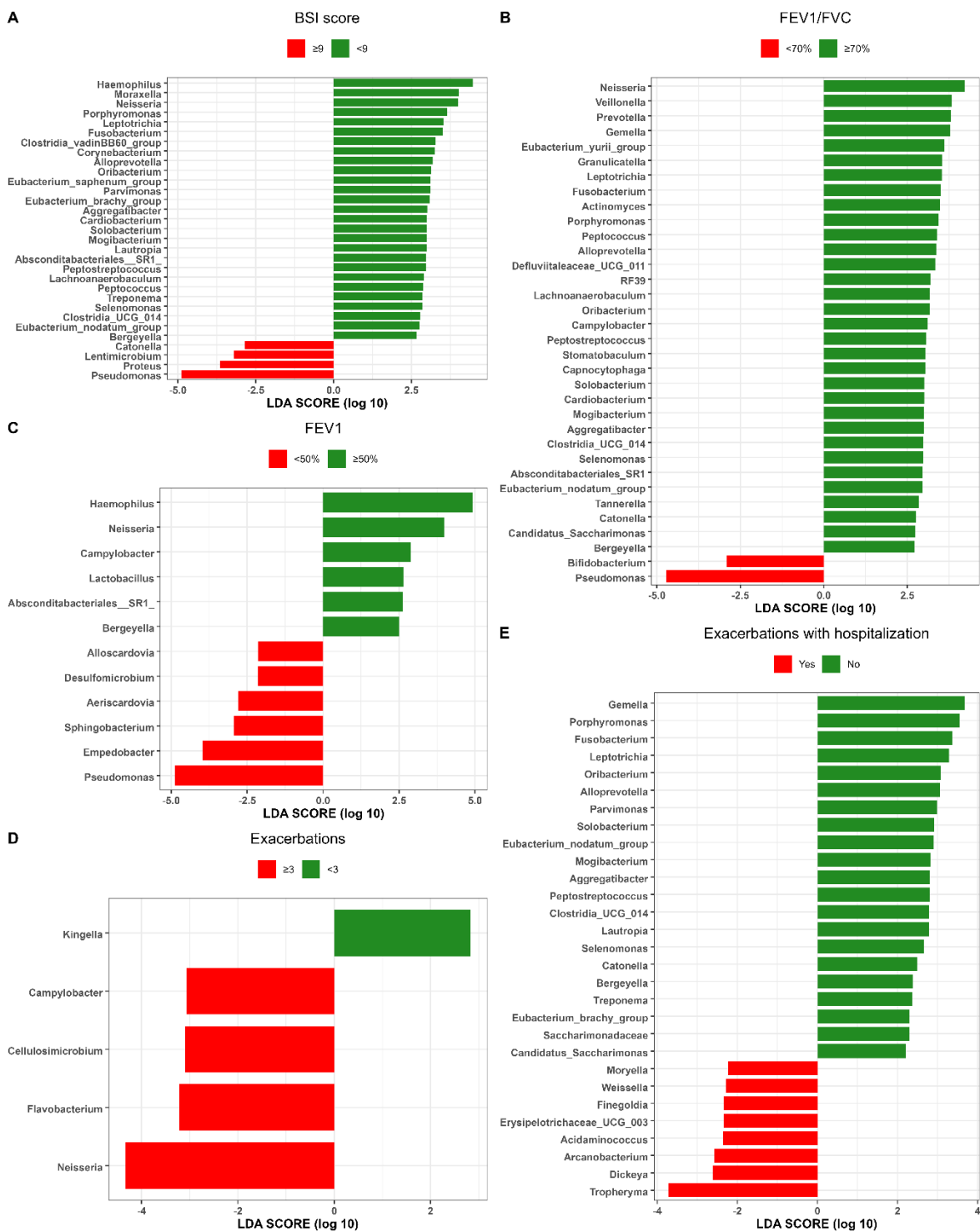


Figura 22: LEfSe aplicado a resultados clínicos para identificar el género con mayores diferencias en abundancia entre grupos. El valor umbral de la puntuación LDA logarítmica para características discriminativas fue 2,0. (A) LEfSe muestra el género bacteriano asociado con una puntuación BSI más

grave (barras rojas) y una puntuación menos grave (barras verdes). (B) LEfSe que muestra el género bacteriano asociado con la obstrucción del flujo de aire definido por $FEV_1/FVC < 70\%$ (barras rojas) y sin obstrucción del flujo de aire definido por $FEV_1/FVC \geq 70\%$ (barras verdes) (C) LEfSe que muestra el género bacteriano asociado con obstrucción grave de las vías respiratorias definida por $FEV_1 < 50\%$ del predicho (barras rojas) y obstrucción de las vías respiratorias menos grave definida por $FEV_1 \geq 50\%$ del predicho (barras verdes). (D) LEfSe muestra el género bacteriano asociado con tres o más exacerbaciones en el año anterior (barras rojas) y los asociados con menos exacerbaciones (barras verdes). (E) LEfSe muestra el género bacteriano asociado con al menos una exacerbación grave en el año anterior (barras rojas) y ninguna exacerbación grave en el año anterior (barras verdes).

Además, correlacionamos la abundancia relativa de los principales géneros del bacterioma con medidas de gravedad de la enfermedad (puntuación BSI y FEV_1 % del predicho) y puntuaciones de calidad de vida (puntuaciones CAT y BHQ) (Figura 23). La puntuación BSI se correlacionó positivamente con la abundancia relativa de *Pseudomonas* ($r = 0,39$ $p < 0,001$) y negativamente con la abundancia relativa de *Haemophilus* ($r = -0,21$ $p = 0,017$). El FEV_1 % del predicho presentó una correlación negativa con la abundancia relativa de *Pseudomonas* ($r = -0,29$ $p = 0,004$), y una correlación positiva con la abundancia relativa de *Streptococcus* ($r = 0,18$ $p = 0,028$), *Neisseria* ($r = 0,27$ $p = 0,001$), *Prevotella* ($r = 0,18$ $p = 0,03$) Veillonella ($r = 0,23$ $p = 0,006$) y Gemella ($r = 0,22$ $p = 0,008$). Con respecto a la calidad de vida de los pacientes, no se encontraron asociaciones. El análisis del bacterioma basado en el género bacteriano dominante, confirmó que los pacientes con comunidades bacterianas dominantes de *Pseudomonas* tenían una puntuación BSI más alta y una peor función pulmonar que aquellos cuya comunidad bacteriana estaba dominada por *Haemophilus*, *Streptococcus* u otros géneros bacterianos (Figura 24). Sin embargo, no se encontraron asociaciones entre los géneros dominantes y la frecuencia de exacerbaciones o su gravedad. Respecto al microbioma, ni el análisis LEfSe aplicado a los filos fúngicos, ni el análisis basado en el filo dominante encontraron asociación alguna con los resultados clínicos, excepto por una tendencia no significativa en la correlación positiva entre la abundancia relativa del filo Ascomycota y el FEV_1 % del predicho.

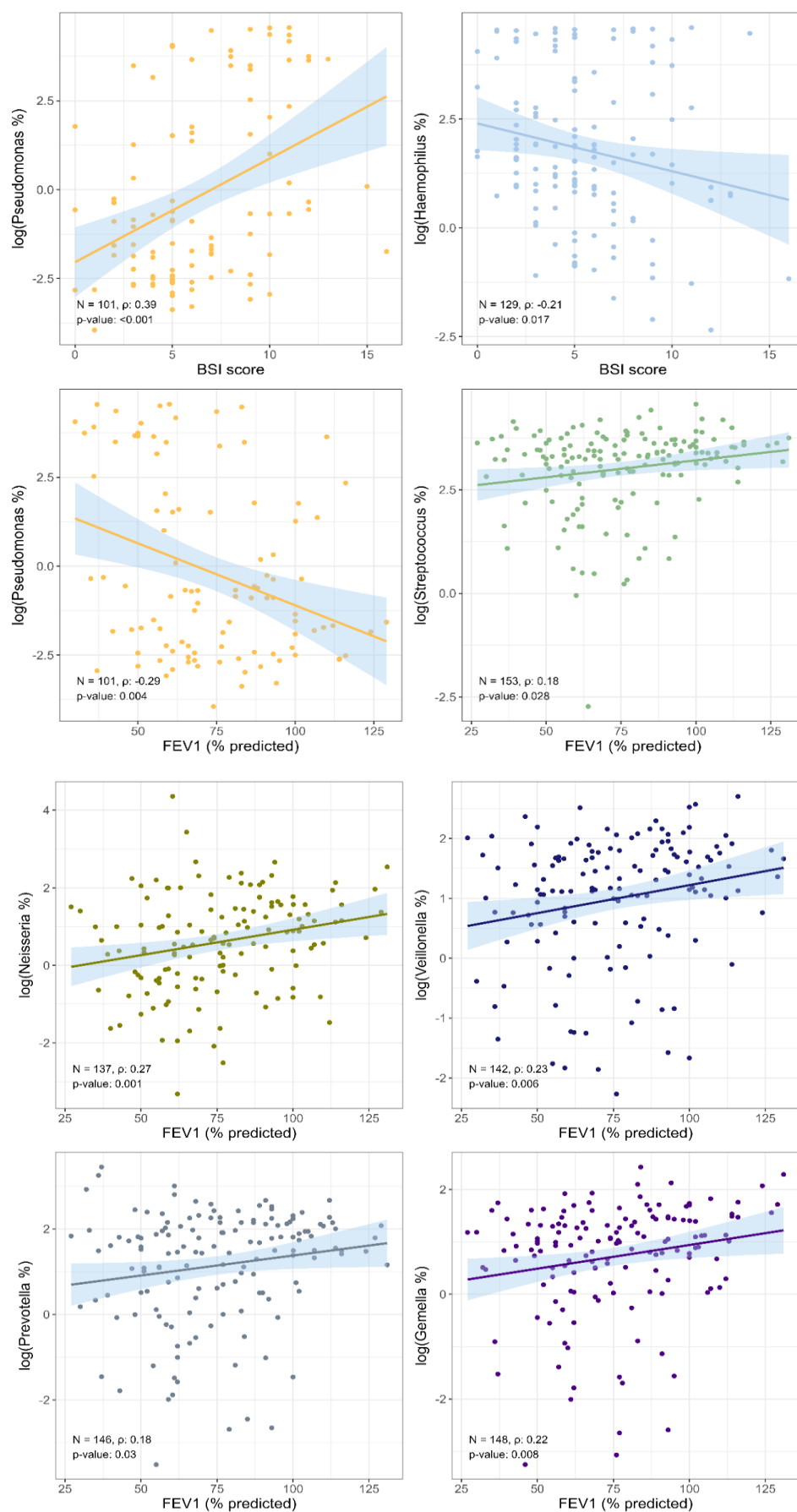


Figura 23: Correlaciones entre la abundancia relativa de los géneros principales con BSI y FEV₁% del predicho.

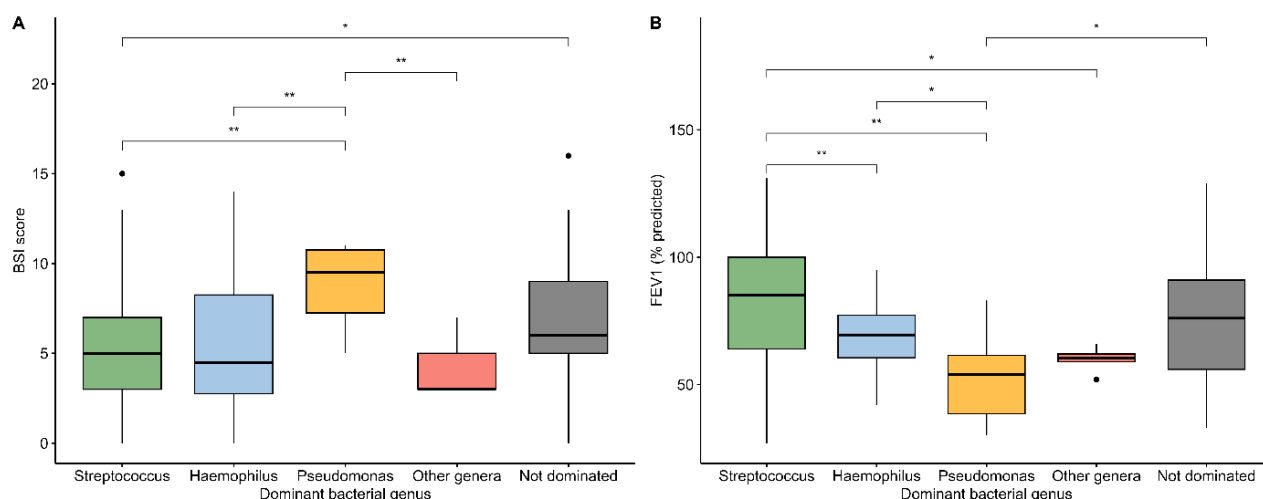
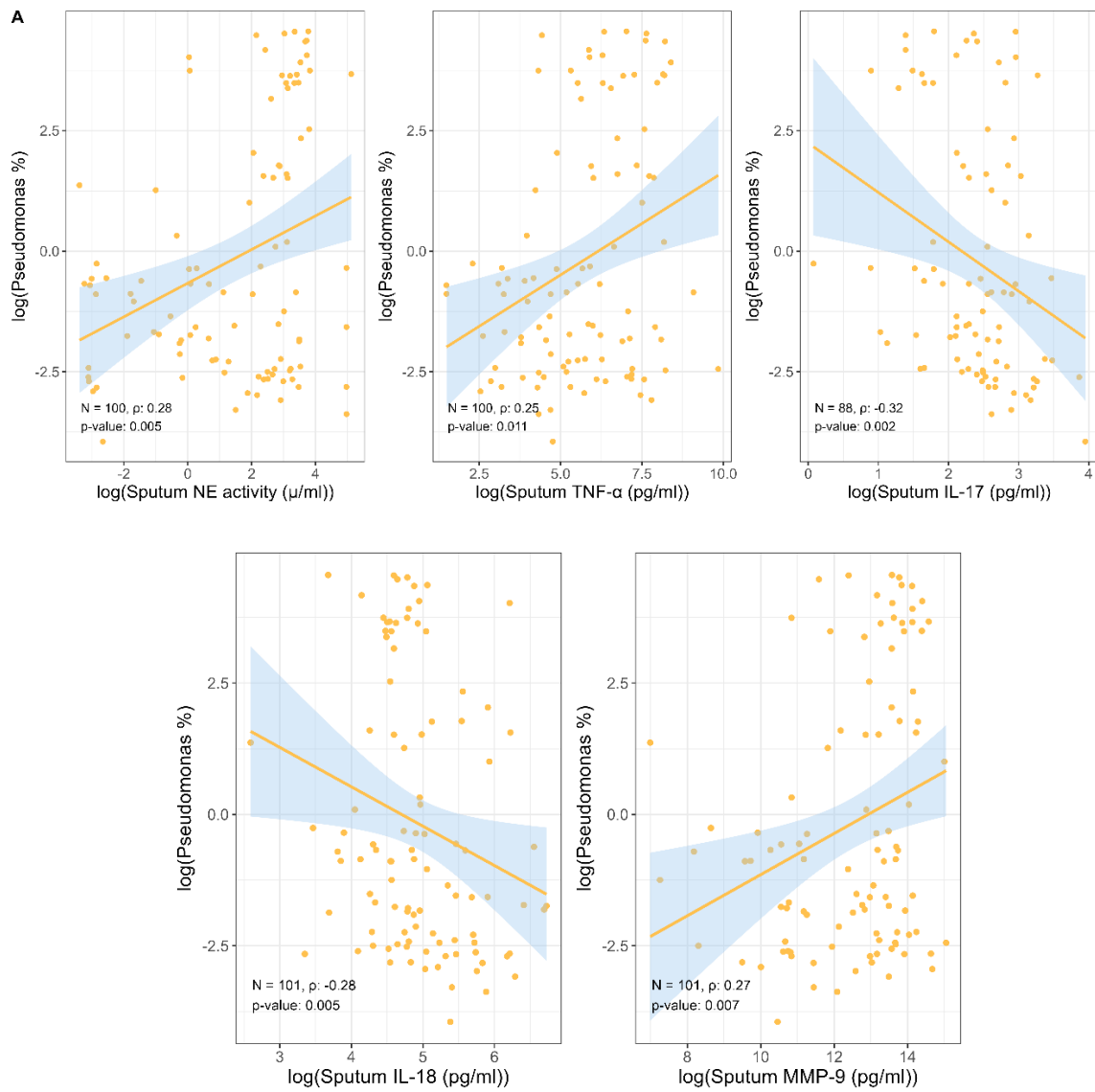
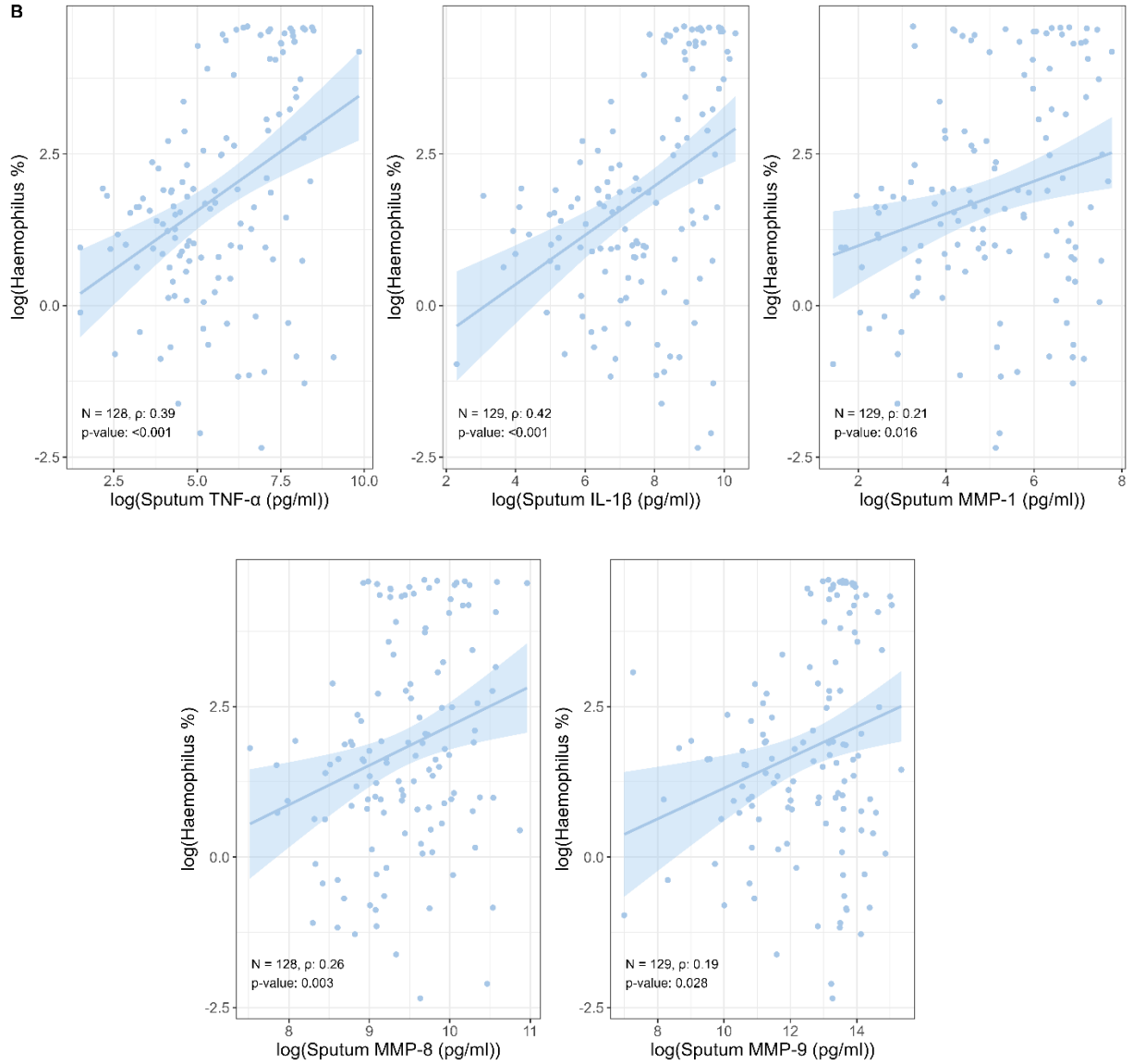


Figura 24: Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, que comparan A) puntuación BSI; B) FEV₁% predicho, entre géneros bacterianos dominantes.

5.2.4. Asociación entre microbioma, inflamación y remodelado bronquial

Investigamos la asociación entre el microbioma y los marcadores de inflamación en el esputo y la sangre, así como los marcadores de remodelado de la vía aérea. Para ello, realizamos correlaciones entre estos y la abundancia relativa de los géneros más abundantes (Figura 25). La abundancia relativa de *Pseudomonas* se correlacionó positivamente con la actividad de NE, TNF- α , IL-17, IL-18 y MMP-9 (Figura 25A). La abundancia relativa de *Haemophilus* se correlacionó positivamente con TNF- α , IL-1 β , IL-22, MMP-1, MMP-8 y MMP-9 (Figura 25B). La abundancia relativa de *Streptococcus* se correlacionó negativamente con TNF- α , IL-1 β , MMP-1, MPM-8, MMP-9 y la actividad de EN (Figura 25C). La abundancia relativa de los géneros *Prevotella*, *Veillonella*, *Gemella* y *Neisseria* se correlacionó negativamente con IL-1 β , TNF- α , MMP-1, MPM-8, MMP-9 y la actividad de EN.



B

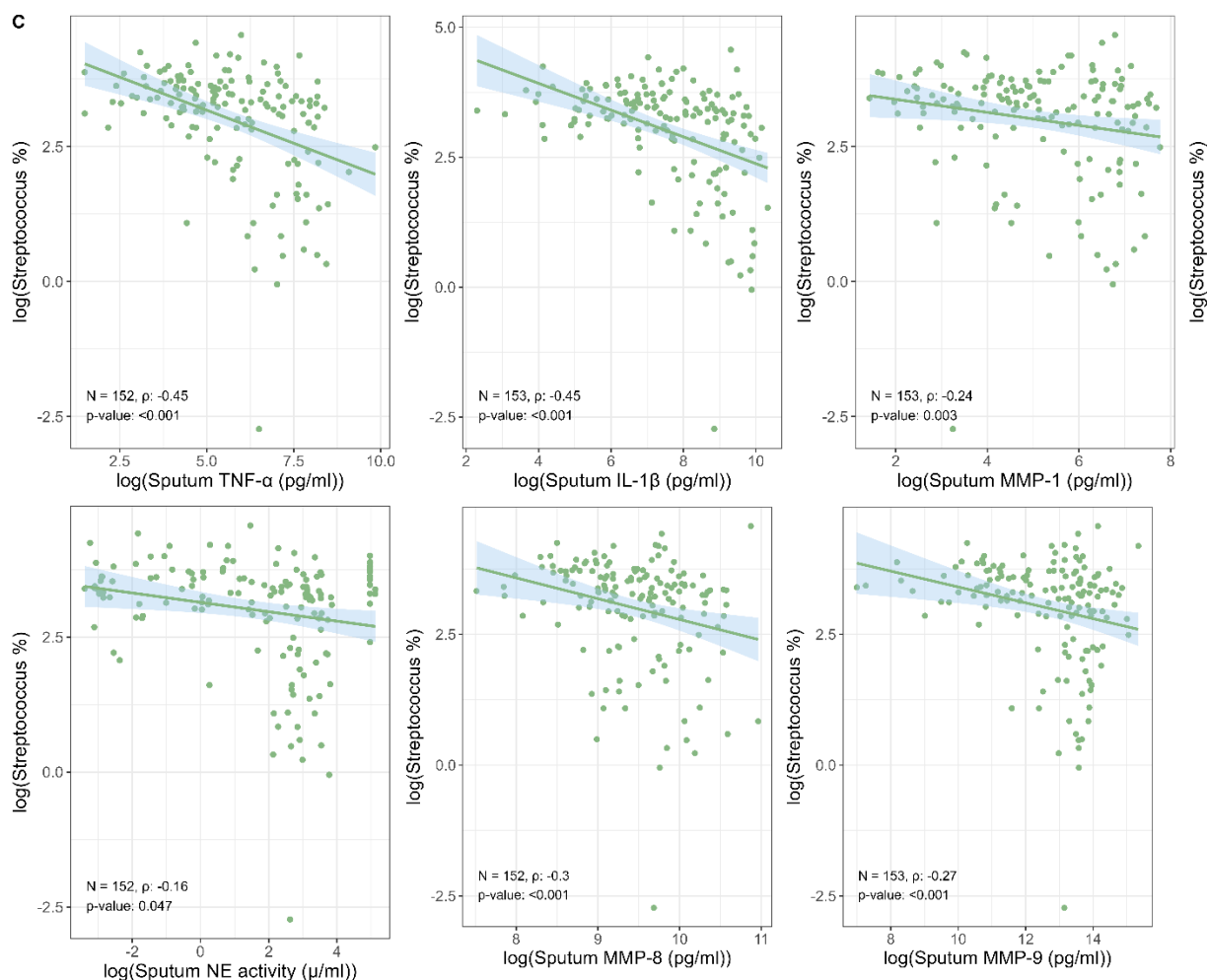
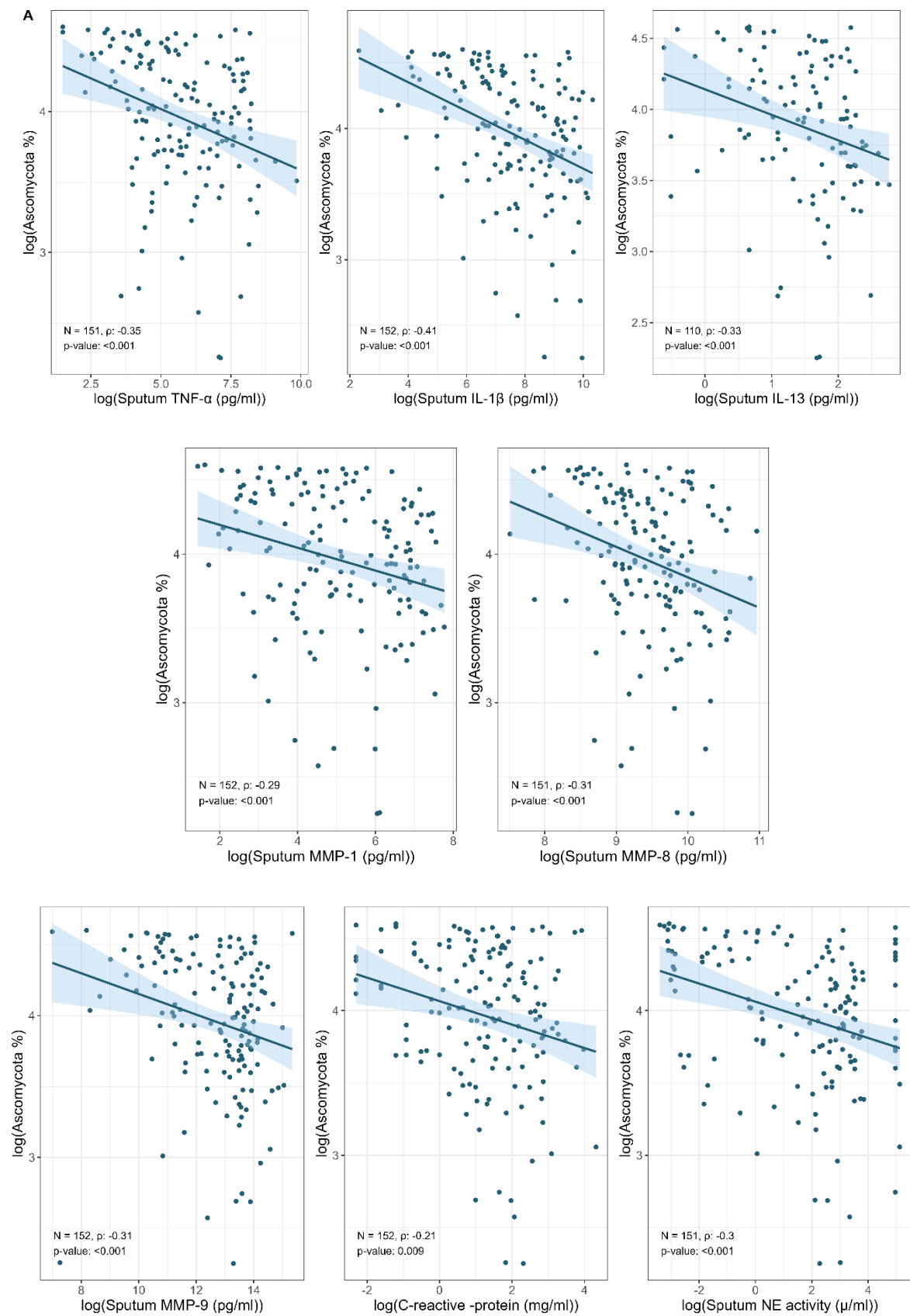


Figura 25: Correlación de marcadores inflamatorios y de remodelado de las vías respiratorias con abundancia relativa de A) *Pseudomonas*, B) *Haemophilus*, C) *Streptococcus*.

El marcador de inflamación sistémica proteína C reactiva se correlacionó negativamente con la abundancia relativa de los géneros *Prevotella*, *Veillonella*, *Gemella* y *Neisseria*. También observamos una correlación positiva no significativa entre la abundancia relativa de *Pseudomonas* y *Haemophilus* y la proteína C reactiva.

Con respecto a la comunidad fúngica, el filo Ascomycota se correlacionó negativamente con TNF-α, IL-1β, IL-13, MMP-1, MPM-8, MMP-9, la actividad de EN y la proteína C reactiva (Figura 26A), mientras que el filo Basidiomycota se correlacionó positivamente con todos esos marcadores inflamatorios (Figura 26B).



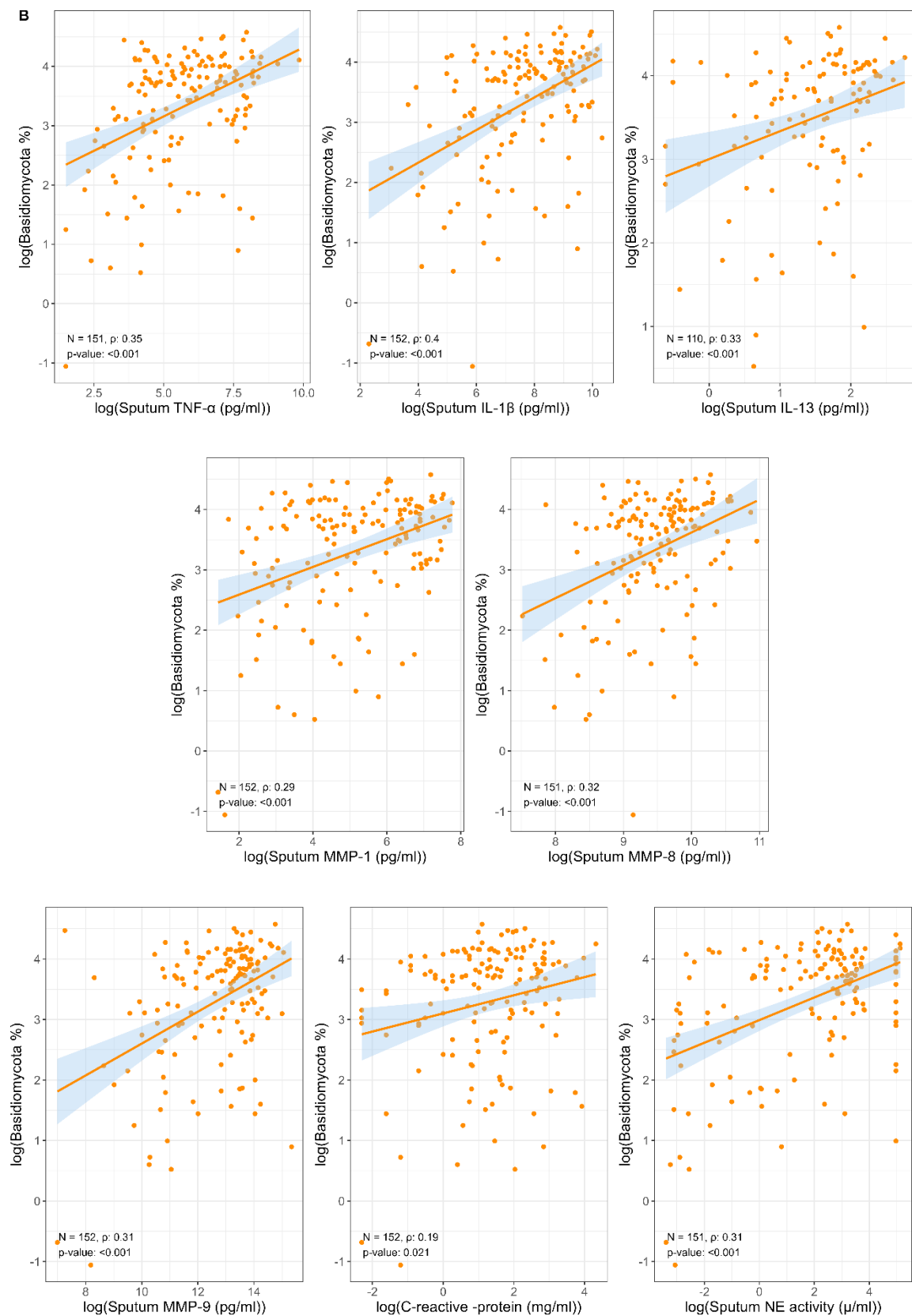


Figura 26: Correlación de marcadores inflamatorios y de remodelado de las vías respiratorias con abundancia relativa de A) Ascomycota, B) Basidiomycota.

5.2.5. Asociación entre bacterioma y microbioma

Se utilizó el análisis LEfSE para identificar los géneros bacterianos asociados a los filos fúngicos dominantes. La presencia del filo Ascomycota se asoció a una mayor abundancia relativa de los géneros bacterianos *Streptococcus*, *Prevotella*, *Gemella* y *Veillonella*, entre otros (Figura 27). No se encontró asociación entre la abundancia relativa de los filos fúngicos y los géneros bacterianos dominantes.

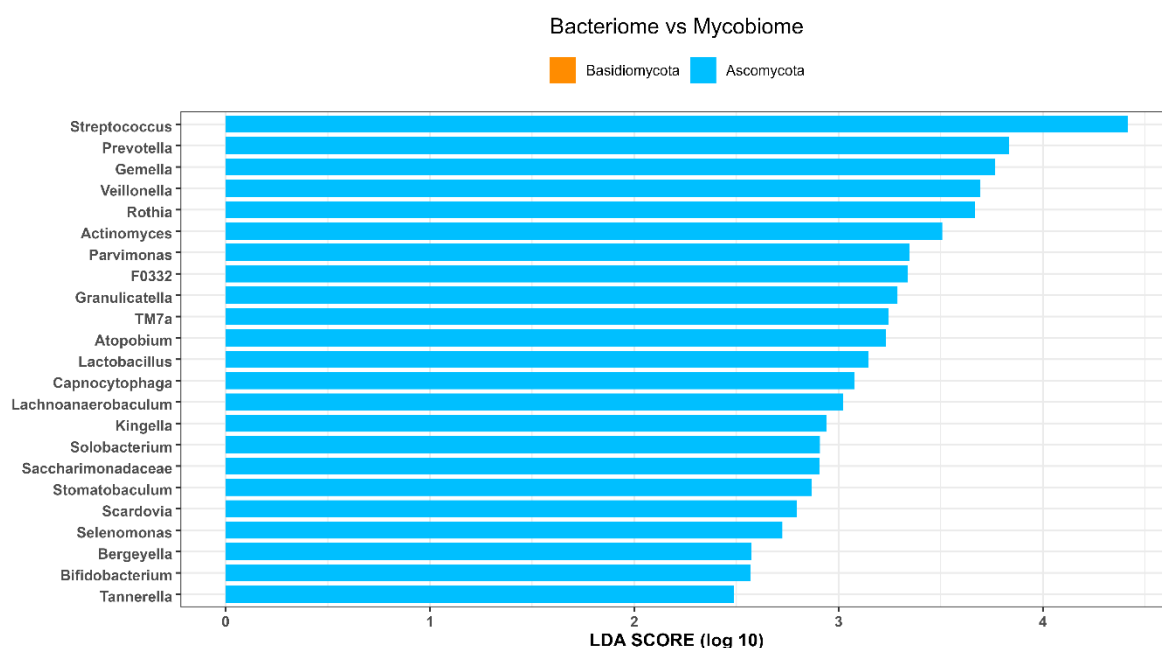


Figura 27: LEfSe mostrando la asociación entre bacterioma y microbioma, para identificar el género con mayores diferencias en abundancia entre grupos. El valor umbral de la puntuación LDA logarítmica para características discriminativas fue 2,0. Las barras azules representan los géneros bacteriano diferenciales asociados con Ascomycota.

5.3. Análisis de las visitas de seguimiento

5.3.1. Evolución del microbioma bacteriano en el tiempo

El análisis del microbioma de las diferentes visitas se realizó mediante el cálculo del índice de disimilitud de Bray-Curtis tanto de las muestras entre visitas como para las muestras dentro de un mismo paciente. Este análisis reveló diferencias significativas entre las comunidades de la V0 y las demás visitas, al igual que entre la VE y el resto. En contraste, las visitas V1 y V2 mostraron una alta similitud entre sí (Tabla 9 y Figura 28).

Tabla 9: Comparación de la distancia de Bray-Curtis entre visitas.

	V0 vs V1	V0 vs V2	V0 vs VE	V1 vs V2	V1 vs VE	V2 vs VE
p-value	0.001 ¹	0.001 ¹	0.001 ¹	0.653 ¹	0.001 ¹	0.001 ¹

¹ Calculado con PERMANOVA

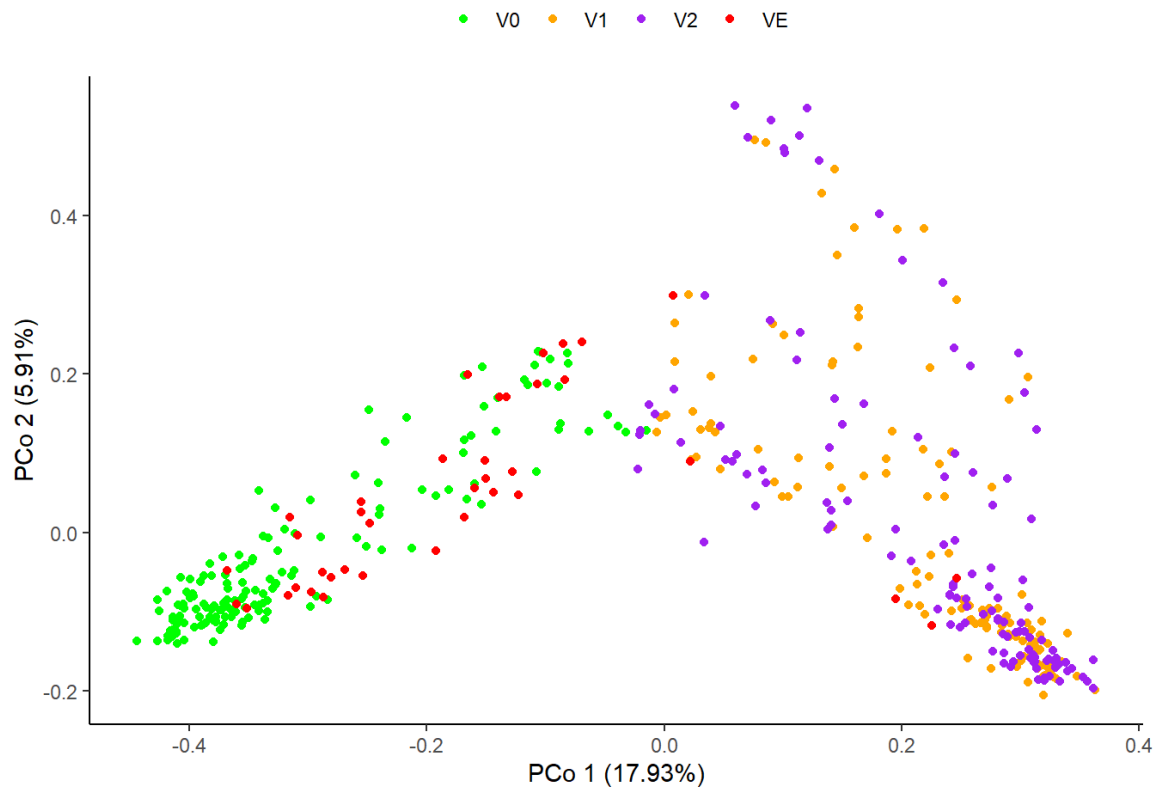


Figura 28: Disimilitud de Bray-Curtis según visitas. V0 (verde): visita basal (V0); VE (rojo): visita de exacerbación (VE); V1 (naranja): visita a los 6 meses; V2 (morado): visita a los 12 meses.

Calculamos la disimilitud media de Bray-Curtis por sujeto para aquellos con tres muestras en estado de estabilidad, con el fin de obtener un rango individual de diversidad entre las distintas muestras de cada paciente. Un valor alto reflejó cambios significativos en la abundancia relativa y composición de las comunidades microbianas a lo largo del tiempo, mientras que un valor bajo indicó similitud entre las muestras del mismo sujeto. La mediana observada fue de 0.97 (0.95; 0.98), lo que sugiere una alta variabilidad entre las muestras de un mismo paciente (Figura 29).

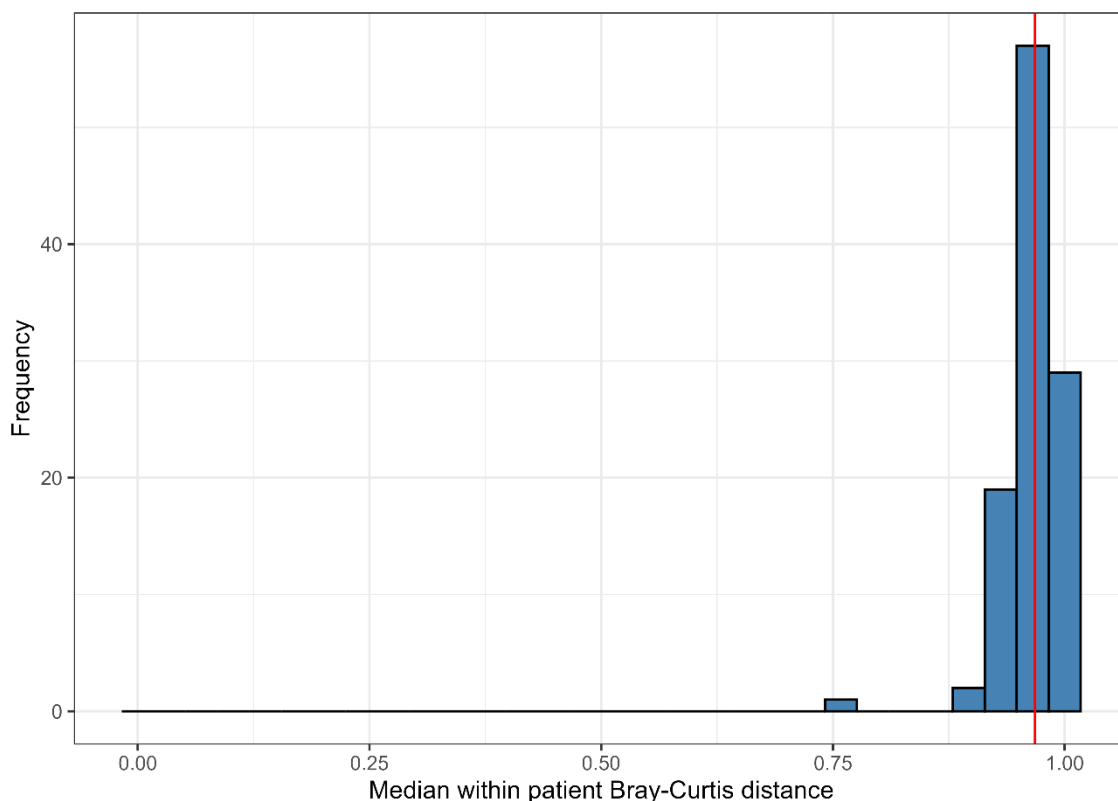


Figura 29: Histograma de la mediana de la disimilitud de Bray Curtis por paciente. La disimilitud de Bray Curtis se calculó para cada paciente con 3 muestras y varió de 0,95 a 0,98.

Analizamos la proporción y la abundancia relativa de los principales géneros dominantes en las diferentes visitas. Observamos una diferencia significativa en la proporción de géneros dominantes en cada visita ($p=0,0069$) (Tabla 10). En cuanto a la abundancia relativa de los principales géneros dominantes se observa una diferencia en el grupo sin dominancia, y en el de dominancia por *Streptococcus* y *Haemophilus* (Tabla 11).

Tabla 10: Comparativa de la proporción de los géneros dominantes por visita.

	V0	V1	V2	VE
	N = 153	N = 124	N = 122	N = 39
Dominant genera	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Not dominated	41 (26.8)	43 (34.68)	38 (31.15)	10 (25.64)
<i>Streptococcus</i>	69 (45.10)	56 (45.16)	42 (34.43)	10 (25.64)
<i>Haemophilus</i>	28 (18.30)	7 (5.65)	19 (15.57)	12 (30.70)
<i>Pseudomonas</i>	6 (6.54)	11 (8.87)	13 (10.66)	3 (7.69)
<i>Moraxella</i>	3 (1.96)	3 (2.24)	3 (2.46)	2 (5.13)
<i>Staphylococcus</i>	1 (1.65)	1 (0.81)	2 (1.64)	0
<i>Neisseria</i>	2 (1.65)	0	0	1 (2.56)
<i>Proteus</i>	0	1 (0.81)	0	0
<i>Dickeya</i>	0	1 (0.81)	2 (1.64)	0
<i>Porphyromonas</i>	0	1 (0.81)	0	0
<i>Corynebacterium</i>	0	0	2 (1.64)	0
<i>Prevotella</i>	0	0	1 (0.82)	0
<i>Stenotrophomonas</i>	0	0	0	1 (2.56)

Tabla 11: Comparativa de la abundancia relativa de los principales géneros dominantes por visita.

	V0	V1	V2	VE	
	N = 153	N = 124	N = 122	N = 39	
	Relative abundance %	Relative abundance %	Relative abundance %	Relative abundance %	p valor
Dominant genera	median (IQR)	median (IQR)	median (IQR)	median (IQR)	
Not dominated	30.19 (10.54)	20 (9.89)	23.69 (8.56)	19.02 (5.88)	<0.0001
<i>Streptococcus</i>	38.94 (16.8)	30.46 (21.42)	32.93 (15.69)	39.18 (36.28)	0.0028
<i>Haemophilus</i>	86.55 (23.91)	62.35 (26.85)	59.77 (25.468)	85.07 (22.24)	0.0047
<i>Pseudomonas</i>	77.98 (30.5)	62.56 (30.8)	77.62 (41.62)	52.65 (18.04)	0.2686

El análisis de la α -diversidad del conjunto de muestras en estabilidad no muestra diferencias significativas entre visitas ($p=0,171$) (Tabla 12).

Tabla 12: Comparación del índice de diversidad de Shannon-Wiener entre visitas.

	V0 N = 153	V1 N = 124	V2 N = 122	N	p-value ¹
Shannon- Wiener diversity index				391	0.171
Median (Q1, Q3)	4.99 (3.77, 5.62)	4.98 (3.47, 5.90)	5.24 (3.56, 6.06)		

¹ Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Sin embargo, al comparar la evolución de la diversidad en función del género dominante, observamos que la dominancia de *Haemophilus* o *Pseudomonas*, en comparación con la dominancia de *Streptococcus*, se asocia con una disminución en el índice de Shannon-Wiener de 1,15 y 1,16 unidades, respectivamente. El impacto negativo de la dominancia de *Pseudomonas* se vuelve aún más pronunciado después de un año, reduciendo el índice de Shannon-Wiener en 1,60 unidades respecto al efecto basal de la dominancia de *Streptococcus* (Figura 30 y Tabla 13).

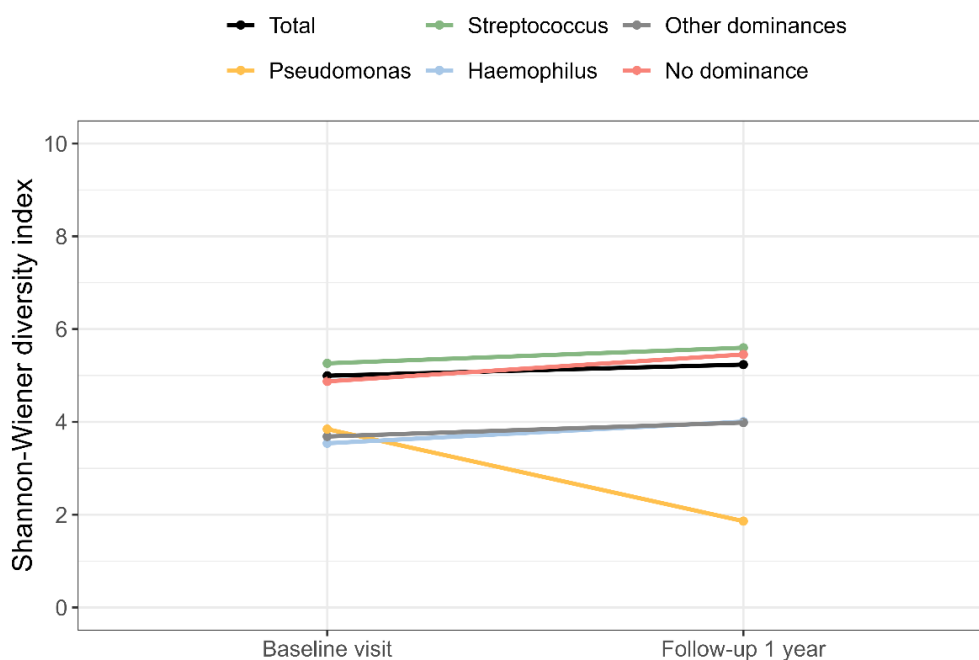


Figura 30: Evolución del índice de diversidad de Shannon-Wiener medio durante el período de 1 año por bacterias dominantes.

Tabla 13: Modelo mixto del Índice de Shannon-Wiener del seguimiento a 1 año.

Predictors	Estimates	std. Error	CI	p
(Intercept)	4.89	0.17	4.56 – 5.22	<0.001
Follow-up [1 year]	0.45	0.25	-0.03 – 0.94	0.066
Dominant bacteria <i>Haemophilus</i>	-1.15	0.31	-1.76 – -0.53	<0.001
Dominant bacteria <i>Pseudomonas</i>	-1.16	0.47	-2.09 – -0.23	0.015
Dominant bacteria Other dominances	-0.61	0.64	-1.88 – 0.66	0.342
Dominant bacteria No dominance	-0.23	0.27	-0.77 – 0.31	0.397
Follow-up [1 year]: <i>Haemophilus</i>	0.07	0.44	-0.79 – 0.94	0.869
Follow-up [1 year]: <i>Pseudomonas</i>	-1.60	0.68	-2.93 – -0.26	0.019
Follow-up [1 year]: Other dominances	-1.10	0.87	-2.82 – 0.61	0.207
Follow-up [1 year]: No dominance	-0.21	0.41	-1.01 – 0.60	0.616

En cuanto a las diferencia entre la α -diversidad del microbioma basal y el de las exacerbaciones, se observa una disminución en el índice de Shannon-Wiener en las exacerbaciones que no es significativo (Figura 31).

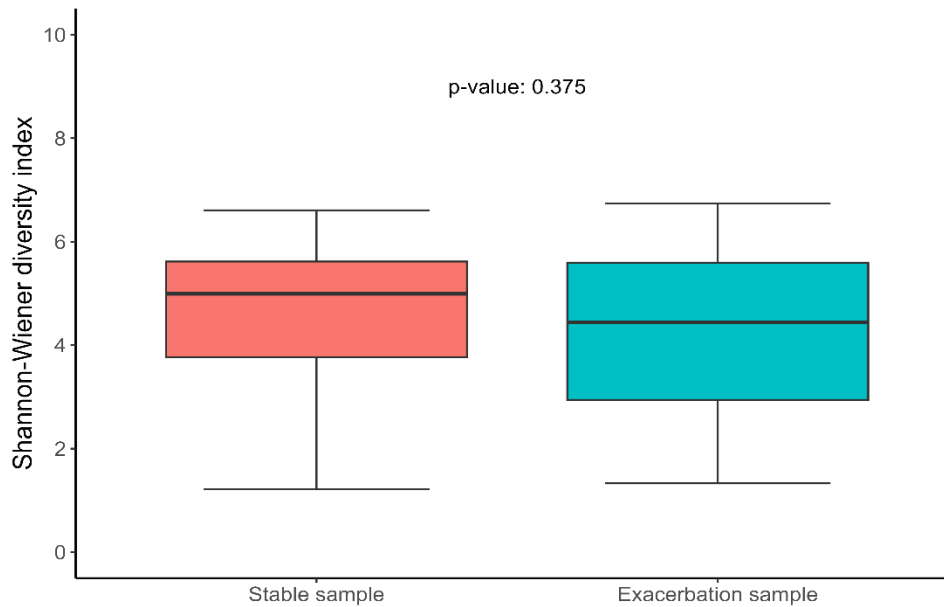


Figura 31: Comparación del índice de diversidad de Shannon-Wiener entre visita basal y visita de exacerbación.

5.3.2. Asociación entre la dominancia de género basal y la evolución clínica

Analizamos datos de mortalidad a los tres años. De los 148 pacientes con datos de mortalidad, 6 (4.1%) fallecieron durante el seguimiento siendo la causa respiratoria la más frecuente. No observamos diferencias significativas en el análisis de mortalidad por dominancias (Tabla 14) y el bajo número de eventos no ha permitido generar modelos (Figura 32).

Tabla 14: Mortalidad a los 3 años según la dominancia de género basal.

	[ALL] N = 153	<i>Haemophilus</i> N = 28	<i>Pseudomonas</i> N = 10	<i>Streptococcus</i> N = 69	Other Dominances N = 5	No dominance N = 41	N
Death, n (%)	6 (4.1%)	1 (3.6%)	2 (20%)	2 (3%)	-	1 (2.6%)	148 ¹
Days Until Death, Median [Q1; Q3]	274 [189; 506]	-	231.5 [189; 274]	575 [158; 992]	-	506 [506; 506]	5
Cause of Death, n (%)							6
Cardiovascular	1 (16.7%)	-	-	-	-	1 (100%)	
Respiratory	3 (50%)	-	2 (100%)	1 (50%)	-	-	
Other	1 (16.7%)	-	-	1 (50%)	-	-	
Unknown	1 (16.7%)	1 (100%)	-	-	-	-	
¹ 6 pacientes sin datos de mortalidad							

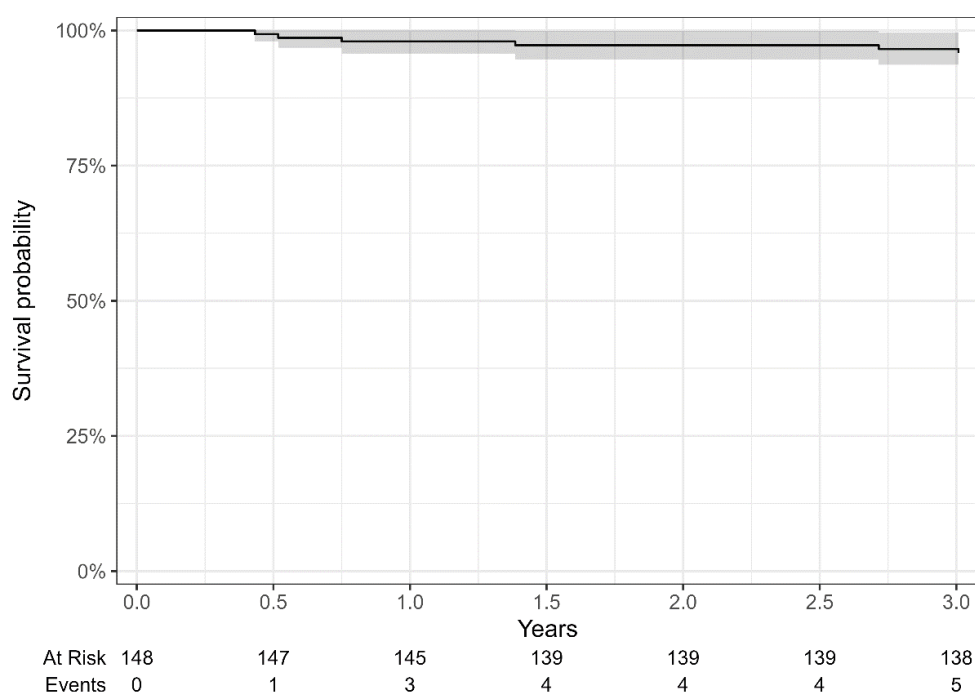


Figura 32: Curva de Kaplan-Meier para mortalidad del conjunto de pacientes (años).

En el análisis de las exacerbaciones totales registradas durante los tres años de seguimiento encontramos 104 (67.9%) pacientes con al menos una exacerbación con una mediana total de 2 en este período. No se observaron diferencias significativas al comparar las exacerbaciones en función de los géneros dominantes (Tabla 15).

Tabla 15: Exacerbaciones totales y según género dominante basal a los 3 años de seguimiento.

	[ALL] N = 153	<i>Haemophilus</i> N = 28	<i>Pseudomonas</i> N = 10	<i>Streptococcus</i> N = 69	Other dominances N = 5	No dominance N = 41	p-value ¹
Exacerbations 3 years after baseline visit, n (%)	104 (67.97%)	16 (57.14%)	5 (50%)	48 (69.57%)	4 (80%)	31 (75.61%)	0.340
Number of exacerbations at 3 years, Median	2 [1; 4]	3 [1; 4.50]	4 [2; 5]	2 [1; 4]	2 [1.50; 3]	3 [1; 4]	0.656
[Q1; Q3]							

¹ Test exacto de Fisher - Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

El modelo inflado a cero que proporciona estimaciones de las exacerbaciones totales basadas en los géneros bacterianos dominantes no permitió extraer conclusiones significativas (Tabla 16).

Tabla 16: Modelo inflado a cero del total de exacerbaciones basado en el género dominante basal.

Predictors ¹	Count model				Zero inflated model			
	Estimate	Std. error	CI [95%]	p-value	Estimate	Std. error	CI [95%]	p-value
(Intercept)	2.03	1.17	1.49-2.76	0.00	0.14	2.65	0.02 - 0.92	0.04
Dominant bacteria [<i>Haemophilus</i>]	1.25	1.30	0.74-2.1	0.40	3.49	2.77	0.47 - 25.78	0.22
Dominant bacteria [<i>Pseudomonas</i>]	1.80	1.47	0.84-3.84	0.13	6.02	3.18	0.62 - 58.23	0.12
Dominant bacteria [No dominance]	1.18	1.24	0.77-1.8	0.45	0.72	3.89	0.05 - 10.33	0.81

¹ Se eliminó la categoría de "Otras dominancias" para ejecutar correctamente el modelo.

También se analizaron el número de exacerbaciones que habían requerido hospitalización. En este caso, 36 (23.53%) pacientes habían ingresado durante el seguimiento con una mediana de 1 sin diferencias significativas entre los géneros dominantes ($p=0.935$) (Tabla 17).

Tabla 17: Hospitalizaciones totales y según género dominante basal a los 3 años de seguimiento.

	[ALL] N = 153	<i>Haemophilus</i> N = 28	<i>Pseudomonas</i> N = 10	<i>Streptococcus</i> N = 69	Other dominances N = 5	No dominance N = 41	p-value ¹
Admissions 3 years after baseline visit, n (%)	36 (23.53%)	7 (25%)	4 (40%)	11 (15.94%)	0 (0%)	14 (34.15%)	0.094
Number of admissions at 3 years, Median [Q1; Q3]	1 [1; 1.50]	1 [1; 2]	1 [1; 2.50]	1 [1; 2]	-	1 [1; 1]	0.935

¹ Test exacto de Fisher - Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

En el modelo logarítmico binomial, se observó que los pacientes sin una especie bacteriana dominante tenían 2,14 veces más probabilidades de ser ingresados en comparación con aquellos con predominio de *Streptococcus* ($p = 0,030$). Por otro lado, los pacientes con predominio de *Pseudomonas* mostraron 2,51 veces más probabilidades de ser ingresados en comparación con los que presentaban predominancia de *Streptococcus*, acercándose a la significación estadística ($p = 0,053$) (Tabla 18).

Tabla 18: Modelo logarítmico binomial del total de exacerbaciones basado en el género dominante basal.

Predictors	Risk Ratios	std. Error	CI	p
(Intercept)	0.16	0.04	0.09 – 0.26	<0.001
Dominant bacteria [<i>Haemophilus</i>]	1.57	0.67	0.64 – 3.58	0.294
Dominant bacteria [<i>Pseudomonas</i>]	2.51	1.19	0.83 – 5.93	0.053
Dominant bacteria [No dominance]	2.14	0.75	1.08 – 4.41	0.030
Observations	148			
R ² Nagelkerke	0.060			
AIC	166.137			

El modelo mixto aplicado al FEV1% indica que no hay un cambio sustancial ni al año ($p=0.078$) ni a los tres años del seguimiento ($p=0.367$). Con respecto a las bacterias dominantes, podemos observar que, en relación con la dominancia de *Streptococcus*, cualquier otra dominancia se asocia con una disminución significativa en el FEV1(%), siendo la dominancia por *Pseudomonas* la que se asocia con la mayor disminución de 29,95 unidades ($p = <0,001$) (Figura 33; Tabla 19).

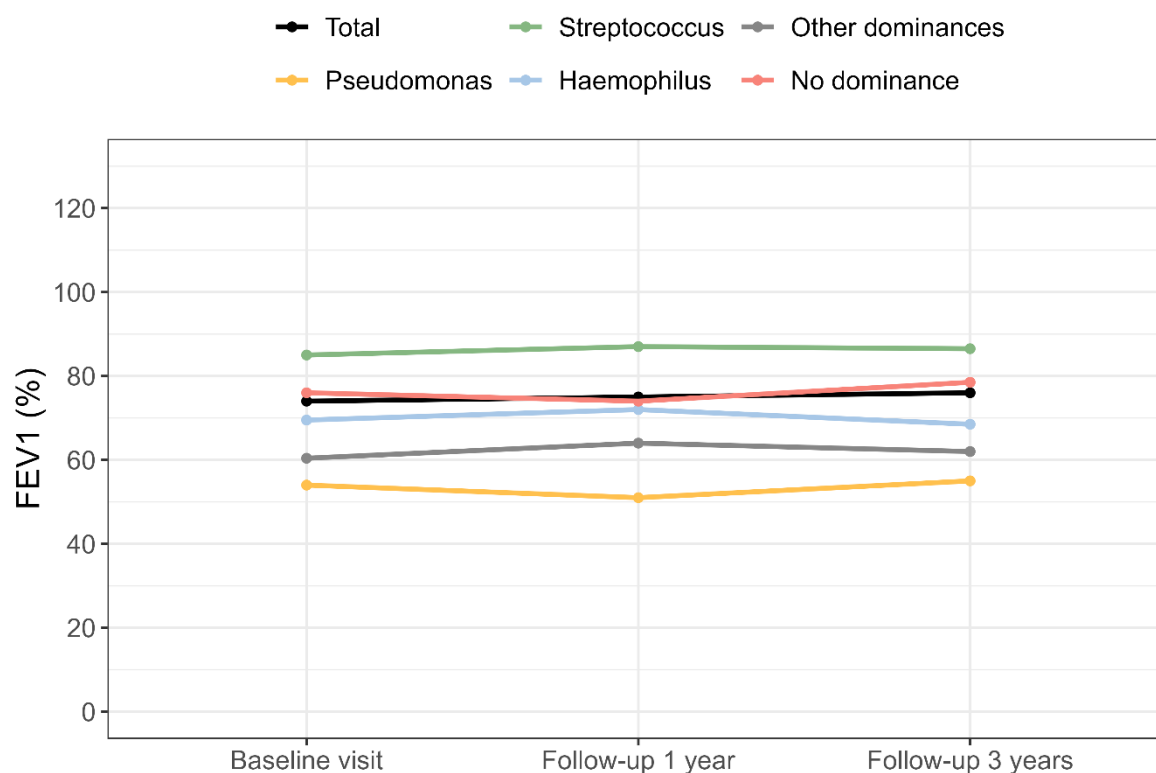


Figura 33: Evolución de la mediana del FEV1% del predicho durante el período de 3 años por bacterias dominantes.

Tabla 19: Modelo mixto del FEV1% del predicho basado en la evolución en a 1 y 3 años y en el género dominante basal.

Predictors	FEV1 (%)			
	Estimates	std. Error	CI	p
(Intercept)	82.92	2.69	77.63 – 88.20	<0.001
Follow-up [1 year]	-0.26	0.91	-2.04 – 1.53	0.778
Follow-up [3 years]	0.43	0.91	-1.37 – 2.23	0.637
Dominant bacteria [<i>Haemophilus</i>]	-14.77	4.93	-24.47 – -5.07	0.003
Dominant bacteria [<i>Pseudomonas</i>]	-29.95	7.47	-44.64 – -15.25	<0.001
Dominant bacteria [Other dominances]	-21.09	10.17	-41.09 – -1.10	0.039
Dominant bacteria [No dominance]	-8.74	4.35	-17.29 – -0.18	0.045
Random Effects				
σ^2	50.64			
$\tau_{00\ id}$	463.13			
ICC	0.90			
N_{id}	153			
Observations	389			
Marginal R^2 / Conditional R^2	0.125 / 0.914			
AIC	3093.114			

El modelo mixto aplicado al BSI indica que el período de seguimiento (1 año) no muestra un efecto significativo en la puntuación ($p=0.940$). Con respecto a las bacterias dominantes, podemos observar que la dominancia de *Pseudomonas*, en relación con la dominancia de *Streptococcus*, se asocia significativamente con un aumento de 3,1 unidades en la puntuación BSI ($p = 0,004$) y la ausencia de dominancia se asocia significativamente con un aumento de 1,58 unidades en la puntuación BSI ($p = 0,013$) (Figura 34; Tabla 20).

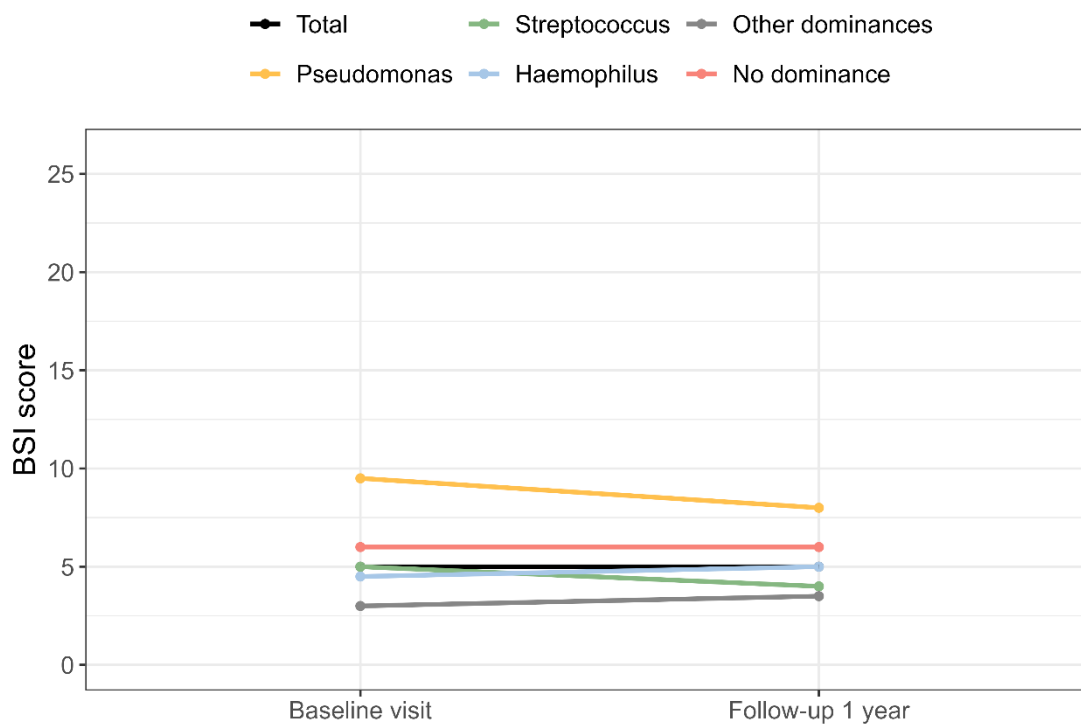


Figura 34: Evolución de la mediana de la puntuación del BSI durante el período de 1 año por bacterias dominantes.

Tabla 20: Modelo mixto de la puntuación del BSI basado en la evolución en a 1 año y en el género dominante basal.

Predictors	Estimates	std. Error	CI	p
(Intercept)	5.24	0.39	4.47 – 6.02	<0.001
Follow-up [1 year]	-0.02	0.25	-0.51 – 0.47	0.940
Dominant bacteria [<i>Haemophilus</i>]	0.52	0.71	-0.88 – 1.92	0.464
Dominant bacteria [<i>Pseudomonas</i>]	3.10	1.08	0.98 – 5.22	0.004
Dominant bacteria [Other dominances]	-0.89	1.46	-3.77 – 1.99	0.543
Dominant bacteria [No dominance]	1.58	0.63	0.34 – 2.82	0.013
Random Effects				

σ^2	3.58
$\tau_{00 \text{ id}}$	7.88
ICC	0.69
N_{id}	153
Observations	262
Marginal R ² / Conditional R ²	0.072 / 0.710
AIC	1317.962

Con base en los valores obtenidos en el modelo mixto, no hay ninguna conclusión significativa que pueda extraerse con seguridad de los predictores de seguimiento y bacterias dominantes de la puntuación BHQ y CAT (Tablas 21 y 22).

Tabla 21: Modelo mixto de la puntuación del cuestionario BHQ basado en la evolución en a 1 año y en el género dominante basal.

Predictors	Estimates	std. Error	CI	p
(Intercept)	66.56	1.12	64.36 – 68.77	<0.001
Follow-up [1 year]	0.22	0.70	-1.16 – 1.60	0.757
Dominant bacteria [<i>Haemophilus</i>]	2.63	2.02	-1.34 – 6.61	0.193
Dominant bacteria [<i>Pseudomonas</i>]	-1.83	3.04	-7.82 – 4.15	0.547
Dominant bacteria [Other dominances]	-0.80	4.22	-9.12 – 7.52	0.850
Dominant bacteria [No dominance]	-1.41	1.79	-4.93 – 2.11	0.432
Random Effects				
σ^2	28.99			
$\tau_{00 \text{ id}}$	63.64			

ICC	0.69
N _{id}	153
Observations	266
Marginal R ² / Conditional R ²	0.022 / 0.694
AIC	

Tabla 22: Modelo mixto de la puntuación del cuestionario BHQ basado en la evolución en a 1 año y en el género dominante basal.

Predictors	Estimates	std. Error	CI	p
(Intercept)	13.33	0.81	11.74 – 14.93	<0.001
Follow-up [1 year]	-0.85	0.54	-1.92 – 0.22	0.120
Dominant bacteria [<i>Haemophilus</i>]	-1.43	1.44	-4.26 – 1.40	0.321
Dominant bacteria [<i>Pseudomonas</i>]	1.54	2.18	-2.76 – 5.84	0.481
Dominant bacteria [Other dominances]	5.09	2.94	-0.69 – 10.87	0.084
Dominant bacteria [No dominance]	1.52	1.27	-0.98 – 4.02	0.233
Random Effects				
σ^2	19.59			
$\tau_{00 \text{ id}}$	30.30			
ICC	0.61			
N _{id}	153			
Observations	281			
Marginal R ² / Conditional R ²	0.040 / 0.623			
AIC	1833.944			

6. DISCUSIÓN

En esta tesis, se ha descrito la composición del microbioma bacteriano y fúngico presente en muestras de esputo de 153 pacientes con BQ no FQ fenotípicamente bien caracterizadas y se ha correlacionado con la etiología de las BQ, las características clínicas de la enfermedad, los patrones de inflamación y el remodelado bronquial y la forma en la que evoluciona en el tiempo, con el objetivo final de identificar qué perfiles de microbioma se relacionan con resultados clínicos de mejor o peor pronóstico.

Los principales hallazgos de esta investigación son:

1) Los géneros bacterianos más frecuentes y también dominantes fueron *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Pseudomonas*. La dominancia de cada uno se relaciona de diversa manera con la diversidad, las variables clínicas y los marcadores inflamatorios. La dominancia de los géneros *Pseudomonas* y *Haemophilus*, aun asociándose ambos con una baja diversidad, se relacionan de distinta manera con las variables clínicas de la enfermedad. Así, mientras el género *Pseudomonas* se asoció con indicadores de mayor gravedad, la dominancia de *Haemophilus* lo hizo con resultados más favorables de la enfermedad, a pesar de su correlación con un mayor nivel de inflamación y remodelado bronquial. Por otra parte, el predominio de *Streptococcus* se relacionó con una alta diversidad con una comunidad bacteriana caracterizada por una presencia significativa de otros géneros, mejores resultados y menor inflamación.

2) Los filos fúngicos dominantes fueron Ascomycota y Basidiomycota. Aunque su presencia no se asoció con características clínicas, la dominancia por Ascomycota se relacionó con una mayor diversidad y menor inflamación, en contraste con la dominancia por Basidiomycota que se asoció con pérdida de diversidad y un incremento en los marcadores inflamatorios. La proporción Basidiomycota/Ascomycota cercana al 1 sugiere que existe una importante participación de Basidiomycota, lo cual, puede reflejar un entorno más disbiótico e inflamatorio. En cuanto a la interacción entre el bacterioma y el micobioma, la prevalencia de Ascomycota se asoció con la presencia de abundantes géneros bacterianos pertenecientes a la flora comensal de la cavidad oral.

3) El análisis del microbioma según la etiología reveló una mayor abundancia de los géneros *Rothia* y *Porphyromonas* en pacientes con inmunodeficiencias, mientras que el género

Staphylococcus fue más prevalente en aquellos con discinesias ciliares. No se detectaron diferencias significativas en términos de diversidad microbiana entre los grupos.

4) La investigación sobre la relación entre el microbioma respiratorio y los marcadores de inflamación y remodelado de las vías aéreas identificó varias correlaciones clave. *Pseudomonas* y *Haemophilus* se asociaron positivamente con citoquinas, elastasa de neutrófilos (EN) y metaloproteinasas. Por otro lado, géneros como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Gemella* y *Neisseria* mostraron correlaciones negativas con estos mismos marcadores y con la proteína C reactiva. En cuanto a los hongos, el filo Ascomycota se correlacionó negativamente con los marcadores inflamatorios, mientras que Basidiomycota presentó correlaciones positivas.

5) La dominancia basal del género *Pseudomonas* se asoció con peores desenlaces clínicos, tales como una disminución de la función pulmonar, un aumento en la gravedad de la enfermedad y una mayor probabilidad de hospitalización durante los tres años de seguimiento. Sin embargo, la mortalidad global fue baja y no se encontró relación entre esta y los géneros microbianos dominantes.

6) Se observó una considerable variabilidad en el microbioma tanto entre diferentes pacientes como dentro de un mismo paciente a lo largo del tiempo. Esta variabilidad podría estar influenciada por la pandemia de COVID-19.

En este estudio, hemos estratificado el microbioma según el género o filo dominante, siguiendo una metodología que, como se ha demostrado previamente, proporciona información más precisa sobre la relación entre el microbioma, las medidas clínicas y el pronóstico en comparación con enfoques alternativos, como el análisis del microbioma central o satélite (114). Sin embargo, otros autores cuestionan esta aproximación, ya que consideran que omite una cantidad significativa de información proporcionada por el microbioma (115).

El concepto de "dominancia" no tiene una definición consensuada. Algunos investigadores definen la dominancia como el taxón más abundante en una muestra (114,115), mientras que en nuestro estudio la hemos definido como el género o filo más abundante que tiene al menos el doble de abundancia que el segundo género más abundante (124). Consideramos que este enfoque refleja mejor un posible desequilibrio o disbiosis en el microbioma.

El análisis de la composición microbiana en nuestro estudio reveló la presencia de numerosos géneros, aunque solo unos pocos eran altamente abundantes. Entre los géneros más presentes y dominantes se encontraban *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Pseudomonas*, tal como se ha descrito en estudios anteriores (114,115,137). Estas dominancias asociaron diferencias importantes en las comunidades microbianas. La dominancia de *Pseudomonas* y *Haemophilus* comportó una disbiosis marcada limitando la representación de otros géneros, al contrario que *Streptococcus*.

Haemophilus y *Pseudomonas*, patógenos respiratorios frecuentemente presentes en las BQ, mostraron una asociación con la reducción de la diversidad microbiana cuando predominaban, lo que conllevaba una menor representación de otros géneros bacterianos. Sin embargo, su impacto clínico varió significativamente. Nuestros resultados indican que la presencia de *Pseudomonas* está asociada con una manifestación más grave de la enfermedad, caracterizada por un aumento en el BSI, peor función pulmonar y niveles elevados de marcadores inflamatorios, como la elastasa del neutrófilo (EN), lo cual refleja un estado de inflamación crónica y daño tisular más pronunciado.

La bacteria gramnegativa *Pseudomonas* tiene gran relevancia clínica en las bronquiectasias debido a su frecuente detección y patogenicidad relacionada. Numerosos estudios basados en técnicas de cultivo convencional han demostrado que los pacientes con infección crónica por *Pseudomonas* experimentan peores resultados clínicos, que incluyen una pérdida acelerada de la función pulmonar, mayor gravedad de la enfermedad, peor calidad de vida, más frecuencia de exacerbaciones y hospitalizaciones y un mayor riesgo de mortalidad (96,156,157). Otros estudios que han analizado el microbioma en BQ utilizando la estratificación por dominancias de género han descrito resultados similares. En el trabajo de Rogers et al. el predominio de *Pseudomonas* se asoció con marcadores de enfermedad más grave, incluida una peor función pulmonar, exacerbaciones frecuentes y un mayor uso de antibióticos (114). De la misma manera, Dicker y colaboradores en su cohorte demostró que la dominancia de *Pseudomonas* se asoció a una diversidad reducida del microbioma y con una mayor gravedad de la enfermedad y aumento de la frecuencia de exacerbaciones (115). Por lo tanto, nuestros resultados se alinean perfectamente con lo descrito anteriormente y confirma el papel de la *Pseudomonas* como principal patógeno que requiere una identificación activa, erradicación y tratamientos eficaces. Destacar que en nuestro estudio *Pseudomonas* no se ha asociado con el número de exacerbaciones ni

hospitalizaciones. Creemos que esto puede deberse a dos factores: Por un lado, en nuestra población de estudio se observa una menor proporción de pacientes graves y de exacerbadores frecuentes respecto a las poblaciones de los estudios anteriores. Por otro lado, la proporción de dominancia por *Pseudomonas* es también inferior.

Haemophilus también es considerado un patógeno relevante en BQ, siendo identificado en varios estudios como una de las principales bacterias colonizadoras del tracto respiratorio en estos pacientes. La dominancia de *Haemophilus* en nuestro estudio se relacionó con enfermedad más leve caracterizada por mejor puntuación del BSI y mejor función pulmonar, a pesar de asociarse a una baja diversidad, y como describiremos más adelante, con un aumento de marcadores inflamatorios. Además, tampoco se observó una relación con el número de exacerbaciones o su gravedad. Estudios previos de microbioma en BQ describen resultados en la misma dirección: Algunos trabajos coinciden en relacionar a *Haemophilus* con menor gravedad de la enfermedad (115,133,158) y otros investigadores lo han relacionado con menor frecuencia de exacerbaciones (114).

En nuestro estudio, cuando *Streptococcus* dominaba la comunidad microbiana, esta presentaba una alta diversidad de géneros y mostraba una composición similar al microbioma respiratorio de un pulmón sano (127) y al de la vía respiratoria superior (128), lo cual traduce un entorno ecológico más rico y equilibrado. En consonancia con estos hallazgos, la dominancia de *Streptococcus* en nuestro estudio se ha relacionado con menor gravedad de la enfermedad y mejor función pulmonar y su abundancia relativa se ha correlacionado con menores niveles de inflamación y remodelado. En cohortes y estudios previos de microbioma en BQ, *Streptococcus* siempre se destaca como uno de los géneros más representativos y su dominancia no se ha asociado a mayor gravedad (115). En un estudio realizado en pacientes con fibrosis quística (159), se observó que una mayor representación de *Streptococcus* en esputo, en una cohorte de pacientes ambulatorios en comparación con pacientes hospitalizados, fue el mejor predictor de estabilidad clínica. Los estreptococos más prevalentes incluían especies típicamente asociadas con la cavidad oral, como *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus parasanguis*, así como especies del grupo *Streptococcus milleri*. Los autores sugirieron que estas especies podrían desempeñar un papel importante en aumentar la diversidad del microbioma pulmonar en fibrosis quística, favoreciendo la estabilidad clínica del paciente.

Es cierto que, al pasar el esputo a través de la cavidad oral antes de la recolección, se debe considerar la posible contaminación salival. Sin embargo, existen evidencias sólidas que indican que las especies de *Streptococcus* y otras bacterias asociadas con la cavidad oral presentes en las muestras de esputo provienen del pulmón y no de la contaminación con saliva (160,161).

En nuestro estudio, las comunidades donde *Streptococcus* es dominante también mostraron la presencia de varios géneros no considerados patógenos comunes. Especulamos que la mayor representación de estos géneros de baja abundancia podría aumentar la diversidad del microbioma pulmonar, lo que posiblemente contribuya a la estabilidad clínica de los pacientes.

Otros géneros asociados con una enfermedad menos grave y mayor diversidad fueron *Veillonella* y *Gemella*, lo que concuerda con su rol como comensales en el microbioma respiratorio. Sin embargo, es importante señalar que, en otros estudios como el de Rogers y colaboradores (114), *Veillonella* ha sido relacionada con un peor pronóstico en ciertos pacientes, especialmente cuando coexiste con patógenos dominantes como *Pseudomonas*. Este hallazgo sugiere que la influencia de *Veillonella* en la progresión clínica de la bronquiectasia podría depender del contexto microbiano, en particular si está asociada con disbiosis o la dominancia de patógenos.

En cuanto a los géneros *Moraxella* y *Neisseria*, en nuestro estudio se asociaron con características clínicas favorables y menores niveles de inflamación. Además, *Neisseria* fue prevalente en pacientes con exacerbaciones frecuentes, lo cual coincide con otros estudios que han vinculado su presencia con exacerbaciones en pacientes con bronquiectasias (162).

En nuestro análisis del microbioma, no fue posible clasificar varias muestras hasta el nivel taxonómico de género. Esta limitación se debe, en parte, a las deficiencias bien documentadas en las bases de datos de secuencias ITS de hongos, lo que dificulta las asignaciones taxonómicas precisas. A diferencia del ARN ribosomal 16S para bacterias, las bases de datos fúngicas aún no alcanzan el mismo nivel de riqueza y desarrollo, lo que impide una categorización confiable de secuencias de ARN ribosomal a nivel de especie (163). Además, la técnica utilizada en nuestro estudio, la secuenciación dirigida de amplicones, tiene una resolución inferior en comparación con la secuenciación completa del genoma, lo que limita la precisión taxonómica (164).

En nuestro análisis, los géneros fúngicos identificados con mayor presencia y abundancia fueron *Candida*, *Saccharomyces*, *Cladosporium* y *Metschnikowia*. Sin embargo, *Aspergillus*, que ha sido reportado como un género relevante en otras cohortes de pacientes con BQ (143), solo se detectó en 15 pacientes y con abundancia relativa baja. Este hallazgo probablemente se debe a la menor cantidad de pacientes en nuestra cohorte con colonización, bronquitis o sensibilización por *Aspergillus*.

Por todo ello escogimos para los análisis el nivel taxonómico de filo. El filo más prevalente y abundante fue Ascomycota y en menor proporción Basidiomycota. Aunque encontramos una relación entre los filos del microbioma y las características clínicas, sí observamos que Ascomycota se asociaba con mayor diversidad y menor inflamación, mostrando una correlación negativa entre su abundancia relativa y numerosos marcadores de inflamación. Contrariamente, el filo Basidiomycota se relacionó con una pérdida de diversidad y un aumento de los mismos marcadores inflamatorios. Algunos estudios de microbioma en enfermedad inflamatoria intestinal y FQ han definido la disbiosis expresada en términos de la proporción de Basidiomycota y Ascomycota (165,166). La proporción Basidiomycota/Ascomycota es un índice clave que se utiliza en estudios del microbioma para medir el equilibrio entre estos dos filos fúngicos dominantes. El cálculo de la proporción Basidiomycota/Ascomycota se realiza dividiendo la abundancia relativa de Basidiomycota por la abundancia relativa de Ascomycota. Esta proporción se ha utilizado en estudios para correlacionar un aumento en la dominancia de Basidiomycota con una menor diversidad fúngica y una mayor predisposición a infecciones e inflamación (165–167). En nuestro estudio la correlación es de 0,86, indicando que, aunque Ascomycota sigue siendo dominante en la mayoría de las muestras, la proporción cercana a 1 sugiere una importante participación de Basidiomycota, lo cual, según los estudios revisados, puede reflejar un entorno más disbiótico e inflamatorio.

El análisis de la interacción entre el bacterioma y el microbioma en función de la dominancia de Ascomycota o Basidiomycota sugiere una relación importante entre estos componentes del microbioma respiratorio. En particular, cuando Ascomycota predomina, se observa una prevalencia de géneros bacterianos como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Gemella* y *Veillonella*, los cuales son comunes en la microbiota respiratoria y oral de individuos sanos. Esto refleja un entorno microbiológico más equilibrado en el que las bacterias comensales típicas están más presentes y que podría estar vinculado a una menor inflamación. Aunque el papel de

los hongos en las BQ todavía no esté del todo claro, cada vez más estudios coinciden en que el microbioma podría influir en el estado clínico de las BQ.

En nuestro estudio, la etiología de las BQ se determinó con precisión mediante un conjunto de exámenes recomendados en las guías de práctica clínica. Es de vital importancia determinar de la manera más fidedigna posible la etiología, puesto que puede comportar actitudes terapéuticas diferentes en algunos casos. Desde el punto de vista del microbioma, existe poca evidencia científica sobre cómo las diferencias en el microbioma pueden respaldar la clasificación clínica por etiologías. Un estudio encontró una correlación pobre con la enfermedad subyacente, aunque sugiere que un pequeño porcentaje de la variación entre muestras (β -diversidad) podría explicarse por la etiología (113). En nuestro análisis no hemos observado variaciones significativas en la composición del microbioma en cuanto a diversidades entre los distintos grupos etiológicos, pero si hemos observado una mayor presencia de los géneros *Rothia* y *Porphyromonas* en el grupo de las inmunodeficiencias y *Staphylococcus* en el grupo de las discinesias ciliares. *Rothia* es un coco grampositivo coagulasa negativo capsulado de la familia Micrococcaceae, que forma parte de la flora orofaríngea normal y es responsable de distintas patologías infecciosas en humanos, principalmente bacteriemia, sobre todo en inmunodeprimidos (168). Varios estudios anteriores han demostrado que *Rothia* (más concretamente la especie *Rothia mucilaginosa*) puede ser un patógeno de las vías respiratorias inferiores tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunocomprometidos y también es un organismo frecuentemente identificado en pacientes con BQ (133) y FQ (169).

El género *Staphylococcus* y la especie *aureus* es un coco grampositivo que ocasionalmente se aísla en pacientes con BQ (5-15%), y que clásicamente se asocia con más frecuencia a pacientes con FQ y con variantes atípicas de esta enfermedad (108). En todo o caso, se trata de un conjunto de enfermedades cuya fisiopatología abarca también una alteración de la motilidad ciliar, por lo que también se observa en pacientes con discinesia ciliar primaria, sobre todo en estudios en edad pediátrica (170).

Los resultados de la investigación sobre la relación entre el microbioma respiratorio y los marcadores de inflamación y remodelado de las vías aéreas revelaron varias correlaciones importantes ya destacadas en estudios previos. La correlación positiva de la abundancia relativa de *Pseudomonas* con los niveles de EN está bien establecida (171) y varios estudios muestran que la actividad de la EN del esputo se relaciona, por un lado, con la pérdida de

diversidad de microbioma, y por otro con la gravedad de las BQ, el FEV₁, la extensión radiológica y el volumen del esputo, y puede predecir futuras exacerbaciones, así como el deterioro de la función pulmonar (172,173). Incluso se está investigando su inhibición como potencial diana terapéutica (174).

También observamos correlaciones positivas de las citoquinas y de las metaloproteinasas, tanto con la abundancia relativa del género *Pseudomonas* como del *Haemophilus*. Aunque la presencia de *Haemophilus* se asocie con una mayor inflamación, no parece reflejar una mayor gravedad de la enfermedad ni peores resultados clínicos, como ya se ha señalado en estudios anteriores (114,115). Se ha planteado la hipótesis de que esta respuesta inflamatoria del huésped podría, en cierto modo, contener la infección y prevenir exacerbaciones, en contraste con lo que ocurre en infecciones dominadas por *Pseudomonas*. Es posible que existan dos tipos distintos de inflamación, con la elastasa de neutrófilos (EN) desempeñando un papel predominante en la inflamación asociada a *Pseudomonas*, pero sin relación con *Haemophilus*.

Por otro lado, la abundancia relativa de géneros como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Veillonella*, *Gemella* y *Neisseria* se correlacionó negativamente con la actividad de EN, citoquinas, metaloproteinasas bronquiales y proteína C reactiva en sangre. Esto refuerza la hipótesis de la "benignidad" de estos microorganismos, ya que son predominantes en el microbioma de sujetos sanos, donde la actividad inflamatoria es mínima o inexistente.

En línea con lo anteriormente expuesto, este estudio también identificó un microbioma diferenciado, caracterizado principalmente por el enriquecimiento de *Pseudomonas* en el grupo con niveles elevados de elastasa de neutrófilos (EN), y por el predominio de *Streptococcus* en el grupo con niveles bajos de EN (171).

En cuanto a la comunidad fúngica, el filo Ascomycota mostró una correlación negativa con los marcadores inflamatorios, mientras que Basidiomycota presentó correlaciones positivas, lo que sugiere que diferentes grupos fúngicos pueden influir de manera distinta en los procesos inflamatorios en pacientes con bronquiectasias. Estos hallazgos sugieren un vínculo entre la composición del microbioma respiratorio y la inflamación y remodelado de las vías aéreas en estos pacientes.

Tras 3 años de seguimiento de estos pacientes, nos gustaría destacar la importancia de la dominancia microbiana en la progresión clínica de las BQ. La dominancia de *Pseudomonas*

se correlacionó con una disminución significativa en el FEV1%, lo que indica un peor pronóstico en términos de evolución de la función pulmonar, y también se correlacionó con un aumento del BSI, lo que se traduce en enfermedad más grave, tal como ya describieron dos estudios previos (115,133), lo que sugiere que posiblemente haya que valorar abordaje terapéutico más contundente a este subgrupo de pacientes.

En contraste, la dominancia de *Streptococcus*, un género generalmente asociado con una alta diversidad microbiana se vinculó a mejores resultados clínicos, lo cual vuelve a resaltar el papel protector de ciertos géneros comensales y la hipótesis de que una microbiota equilibrada puede desempeñar un papel crucial en la modulación de la respuesta inflamatoria y en la reducción de la progresión de la enfermedad.

Durante los tres años de seguimiento más de dos tercios de los pacientes experimentaron al menos una exacerbación, con una mediana de dos exacerbaciones. El análisis de estas exacerbaciones muestra que, si bien no se observaron diferencias significativas en el número total de exacerbaciones entre los géneros dominantes, aquellos pacientes con dominancia de *Pseudomonas* presentaron mayores probabilidades de ser hospitalizados, en comparación con aquellos con dominancia de *Streptococcus*, lo que sugiere que el tipo de microorganismo dominante influye en la gravedad de las exacerbaciones y en la respuesta clínica a estas.

La mortalidad general en nuestra cohorte fue del 4.1% durante los tres años de seguimiento, siendo la causa más frecuente la enfermedad respiratoria. Esta mortalidad es consistente con las tasas observadas en otras cohortes de BQ. En los estudios relacionados con el registro EMBARC se observan tasas de mortalidad que oscilan entre el 2.3% y el 6.8% en cohortes prospectivas dependiendo del grado de exacerbaciones, comorbilidades y la presencia de infecciones crónicas como las causadas por *Pseudomonas*. Estas tasas de mortalidad son consistentes con las de otras cohortes como las incluidas en el registro RIBRON. En nuestro estudio, a diferencia de lo que observaron Dicker y colaboradores, no hemos podido relacionar la mortalidad con los géneros dominantes, probablemente por el reducido número de eventos.

Otro hallazgo importante en nuestra cohorte es la variabilidad de las comunidades microbianas, a lo largo del tiempo. La similitud entre la visita basal y de exacerbación, pero las diferencias entre estas dos visitas y las visitas de seguimiento son claras y obligan a una

reflexión exhaustiva, ya que estudios anteriores demostraron la estabilidad del microbioma a lo largo del tiempo.

Nos gustaría destacar la escasa variabilidad del microbioma entre muestras de visita basal (en estabilidad) y visita de exacerbación. Estos hallazgos se acercan a lo previamente descrito por estudios previos y refuerzan la estabilidad del microbioma antes, durante y después de una exacerbación (113,115) y esta estabilidad es independiente de la dominancia de género, ya sea por patógenos conocidos o por otros microorganismos. Es probable que estén involucrados otros factores, como la carga bacteriana, cambios de cepa o la presencia de virus respiratorios.

Tras revisar el momento exacto de la recogida de muestras, constatamos que la mayoría de muestras de la visita basal y exacerbación fueron recogidas antes del 15/03/2020 y que las muestras recogidas en ambas visitas de seguimiento son posteriores a ese día. Esta fecha marca el inicio del confinamiento, de las medidas de distanciamiento social y del uso obligatorio de mascarilla, en contexto de la pandemia mundial COVID-19, por el virus SARS-Cov-2.

El impacto del uso prolongado de mascarillas y las medidas de distanciamiento social en el microbioma respiratorio ha sido un área de especial interés en la investigación científica. Aunque no existan datos concretos hasta la fecha, algunos estudios sugieren que estas medidas podrían haber alterado, de alguna forma, la composición del microbioma respiratorio en la población general y en pacientes con enfermedades respiratorias crónicas, como las BQ. Un estudio en población pediátrica y adultos reveló que el confinamiento tuvo un impacto importante en el microbioma de la nasofaringe, con una disminución de la abundancia de los patógenos más comunes, independientemente de la detección por SARS-Cov-2 (175, 186-188). Se generaron varias hipótesis para justificar estos hallazgos. El uso de mascarillas y el distanciamiento social redujeron significativamente la exposición a ciertos patógenos respiratorios, como los virus circulantes (rinovirus, virus respiratorio sincitial y virus influenza) y esto, de cierta forma podría haber modificado el equilibrio del microbioma respiratorio, reduciendo temporalmente la diversidad microbiana al limitar la exposición a microorganismos ambientales. Tal como se menciona anteriormente, los virus son una causa importante de exacerbaciones en pacientes con BQ (176), pero también se han detectado en pacientes con BQ estables (111). Además, se ha descrito en otras patologías respiratorias que las infecciones por virus pueden predisponer a co-infecciones bacterianas (177,178).

Una de las hipótesis formuladas propone que la intensidad de la respuesta inflamatoria generada en la vía aérea, con aumento de marcadores de esputo como IL-1 β and TNF- α , de alguna forma podría crear un desequilibrio en el microbioma local. Otro posible papel de los virus a nivel de las vías respiratorias podría estar relacionada con una forma de inmunodeficiencia adquirida, como la causada por el virus de Epstein-Barr o por el virus linfotrópico humano de células T tipo 1, que podrían acortar la homeostasis inmunológica normal y acelerar el “círculo vicioso” de las BQ (179,180). La interacción viroma-bacterioma aún no está bien establecida, pero se sugiere la existencia de una importante relación e influencia. Un buen ejemplo es el papel de los bacteriófagos (virus que infectan exclusivamente a bacterias) y su posible contribución a la arquitectura y estabilidad del microbioma, además de su papel en el contexto de las resistencias a los antimicrobianos y su capacidad para facilitar la transferencia horizontal de genes, que es crucial en enfermedades respiratorias como las BQ (181).

En un primero análisis de la α -diversidad en el conjunto de muestras, impresiona no haber diferencias significativas a lo largo del tiempo. Sin embargo, tras analizarla en función del género que domina, observamos una clara pérdida de α -diversidad asociada a las dominancias de *Haemophilus* o *Pseudomonas*, cuando se compara con la dominancia de *Streptococcus*. Cuando analizamos la proporción y la abundancia relativa de los principales géneros dominantes en las diferentes visitas, llama a la atención una proporción más alta del género abundante *Haemophilus* en exacerbación, respecto al resto de visitas en estabilidad. Otro dato importante que observamos es una disminución general significativa de la abundancia relativa por género dominante de *Streptococcus*, *Haemophilus* y del grupo sin dominancia, desde la V0 a la V1 y V2. Llama a la atención que *Pseudomonas* mantiene una abundancia relativa bastante “estable” a lo largo del tiempo. En verdad, tiene sentido si pensamos que *Pseudomonas* es uno de los microorganismos más frecuentemente aislados en pacientes con BQ estales (15 a 50%) (52,182,183). Una explicación para esta supervivencia y persistencia de *Pseudomonas* en la vía aérea podría ser la formación de las biopelículas, que en última estancia protegen a las bacterias del sistema inmunológico del huésped y aumentan la resistencia a los antibióticos, perpetuando su presencia en las vías respiratorias (184).

Por último, otro hallazgo importante es la cierta tendencia (no significativa) de descenso de la α -diversidad durante los episodios de exacerbación. En otro estudio previo también se

demostró la poca variabilidad del microbioma en las exacerbaciones (115). Se sugiere, pues, que la pérdida de diversidad no juegue un papel tan transcendente en la fisiopatología de las exacerbaciones, ya que son eventos agudos y transitorios, y que probablemente estén involucrados otros factores, como las infecciones víricas (176) o la carga bacteriana (185).

7. CONCLUSIONES

1. La clasificación del microbioma según el género o filo dominante ha demostrado ser una herramienta eficaz para relacionar la composición microbiana con la gravedad de la enfermedad en pacientes con bronquiectasias. Este enfoque ha proporcionado información más precisa sobre la relación entre el microbioma, los resultados clínicos y el pronóstico de la enfermedad.
2. La dominancia de géneros como *Streptococcus* y *Haemophilus* se asocia con mejores resultados clínicos, mientras que la dominancia de *Pseudomonas* se relaciona con una mayor gravedad clínica. El análisis del micobioma reveló que el equilibrio entre los filos Ascomycota y Basidiomycota es importante para la estabilidad microbiana y la inflamación. Estos hallazgos sugieren que tanto el bacterioma como el micobioma desempeñan un papel clave en la progresión de la enfermedad.
3. La etiología de las bronquiectasias influye en la composición del microbioma respiratorio. Los pacientes con inmunodeficiencias presentaron una mayor abundancia de *Rothia* y *Porphyromonas*, mientras que aquellos con discinesia ciliar tuvieron una mayor prevalencia de *Staphylococcus*. Esto podría indicar que el microbioma varía en función de la causa subyacente de la enfermedad.
4. El microbioma respiratorio presenta una clara relación con la inflamación y el remodelado e incluso existen diferentes patrones inflamatorios relacionado con los géneros más abundantes.
5. Los distintos perfiles del microbioma según los géneros dominantes se relacionan de diferente manera con los resultados clínicos a lo largo del tiempo, siendo la dominancia por *Pseudomonas* la que se asocia con peor pronóstico. En contraste, *Streptococcus* se relacionó con una mayor diversidad microbiana y mejores resultados clínicos, reflejando la importancia de un microbioma equilibrado en la progresión de las BQ.
6. Un entorno de distanciamiento social y medidas de protección, como las implementadas durante la pandemia de COVID-19, podría reducir la exposición a patógenos y alterar la diversidad del microbioma.

8. LÍNEAS DE FUTURO

Las futuras líneas de investigación deben centrarse en profundizar en la interacción entre el microbioma bacteriano, fúngico y vírico, explorando cómo el equilibrio o disbiosis de estos afecta la progresión de la enfermedad en pacientes con BQ.

En futuras investigaciones sobre el microbioma respiratorio sería fundamental estandarizar, no solo los protocolos de las técnicas de secuenciación y análisis bioinformático del microbioma, sino también los métodos de recolección, manejo y procesamiento de muestras. Esto garantizaría la calidad y comparabilidad de los datos obtenidos en diferentes estudios, facilitando la interpretación coherente de los resultados y permitiendo la replicación de los hallazgos.

Aunque ha habido avances en la comprensión del microbioma respiratorio, los objetivos terapéuticos aún no se han definido con claridad. Los estudios futuros deberán emplear enfoques con análisis de *multi-ómicas*, integrando datos de genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica para ofrecer una visión holística de la enfermedad. Esta integración permitirá identificar biomarcadores clave para la detección, monitorización y tratamiento personalizado de los pacientes.

Es esencial profundizar en la comprensión del papel de los microorganismos comensales y patógenos en la salud respiratoria, así como en las interacciones entre el microbioma y factores del huésped como la respuesta inmune y la genética. Este enfoque, aplicado a gran escala en biobancos globales, permitirá validar biomarcadores y desarrollar tratamientos dirigidos en diversas poblaciones.

Además, identificar características microbianas tempranas o de "alto riesgo" que contribuyan a la progresión de la enfermedad permitirá pasar de un tratamiento meramente sintomático a uno que aborde los mecanismos fundamentales que impulsan las BQ. Explorar intervenciones terapéuticas que modulen el microbioma, como el uso de probióticos o terapias antimicrobianas dirigidas, podría mejorar significativamente los resultados clínicos.

El impacto de factores externos, como la pandemia de COVID-19 y la reducción en la exposición microbiana, abre nuevas vías de investigación sobre cómo el entorno influye en la composición microbiana y qué implicaciones tiene esto en el manejo a largo plazo de las BQ.

Investigar la relación entre bacterioma, microbioma y viroma seguramente proporcionará una visión más integrada de los factores que modulan el estado clínico de estos pacientes, lo que podría llevar a nuevas estrategias de tratamiento más personalizadas y efectivas.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Polverino E, Goeminne PC, McDonnell MJ, Aliberti S, Marshall SE, Loebinger MR, et al. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. *European Respiratory Journal*. 2017 Sep 9;50(3):1700629.
2. Martínez-García MÁ, Máiz L, Oliveira C, Girón RM, de la Rosa D, Blanco M, et al. Normativa sobre la valoración y el diagnóstico de las bronquiectasias en el adulto. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 Sep 23];54(2):79–87. Available from: <https://www.archbronconeumol.org/en-normativa-sobre-valoracion-el-diagnostico-articulo-S0300289617302727>
3. King PT, Holdsworth SR, Freezer NJ, Villanueva E, Holmes PW. Characterisation of the onset and presenting clinical features of adult bronchiectasis. *Respir Med* [Internet]. 2006 Dec [cited 2023 Mar 6];100(12):2183–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16650970/>
4. Chalmers JD, Aliberti S, Filonenko A, Shteinberg M, Goeminne PC, Hill AT, et al. Characterization of the “Frequent Exacerbator Phenotype” in Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2024 Sep 22];197(11):1410–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29357265/>
5. Barker AF. Bronchiectasis. *N Engl J Med* [Internet]. 2002 May 2 [cited 2024 Sep 22];346(18):1383–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11986413/>
6. Barker AF, Bardana EJ. Bronchiectasis: update of an orphan disease. *Am Rev Respir Dis* [Internet]. 1988 [cited 2024 Sep 22];137(4):969–78. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3281531/>
7. REID LMA. Reduction in bronchial subdivision in bronchiectasis. *Thorax* [Internet]. 1950 [cited 2024 Sep 22];5(3):233–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14776716/>
8. Martínez García MÁVM. Monografías en Neumología: Bronquiectasias no debidas a Fibrosis Quística. Sanchís Aldas J, Picado Valles C, Perpiñá Tordera M, Cobos Barroso N, editors. Zaragoza: NEUMOLOGÍA Y SALUD, SL; 2008. 15–20 p.
9. Gaillard EA, Carty H, Heaf D, Smyth RL. Reversible bronchial dilatation in children: Comparison of serial high-resolution computer tomography scans of the lungs. *Eur J Radiol* [Internet]. 2003 Sep 1 [cited 2024 Sep 22];47(3):215–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12927665/>
10. Agarwal R. Bronchiectasis in acute pneumonia ... Pseudobronchiectasis. *Chest* [Internet]. 2007 [cited 2024 Sep 22];132(6):2054–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18079245/>
11. Travis WD, Colby T V., Koss MN, Rosado-de-Christenson ML, Müller NL, King TE. Non-Neoplastic Disorders of the Lower Respiratory Tract. *Non-Neoplastic Disorders of the Lower Respiratory Tract* [Internet]. 2002 Jun [cited 2024 Sep 22]; Available from: <https://arppress.org/books/book/37/Non-Neoplastic-Disorders-of-the-Lower-Respiratory>
12. Cole P. Bronchiectasis. In: Brewis RAL, Corrin B, Geddes DM, Gibson GJ, editors. *Respiratory Medicine*. 2nd ed. London: WB Saunders Co.; 1995. p. 1286–316.

13. Donnelly D, Critchlow A, Everard ML. Outcomes in children treated for persistent bacterial bronchitis. *Thorax* [Internet]. 2007 Jan [cited 2024 Sep 22];62(1):80–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17105776/>
14. Chang AB, Grimwood K, Gibson PG, Upham JW. PBB: definition, mechanisms, and treatment. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2015 Oct 1 [cited 2024 Sep 22];3(10):743–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26297667/>
15. Chalmers JD, Polverino E, Aliberti S, editors. *Bronchiectasis*. Sheffield, United Kingdom: European Respiratory Society; 2018.
16. Chalmers JD, Elborn S, Greene CM. Basic, translational and clinical aspects of bronchiectasis in adults. *Eur Respir Rev* [Internet]. 2023 Jun 30 [cited 2024 Sep 23];32(168). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37286220/>
17. Boaventura R, Sibila O, Agusti A, Chalmers JD. Treatable traits in bronchiectasis. *Eur Respir J* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2024 Sep 22];52(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30190263/>
18. Fuschillo S, De Felice A, Balzano G. Mucosal inflammation in idiopathic bronchiectasis: cellular and molecular mechanisms. *Eur Respir J* [Internet]. 2008 Feb [cited 2024 Sep 23];31(2):396–406. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18238949/>
19. Chalmers JD, Smith MP, McHugh BJ, Doherty C, Govan JR, Hill AT. Short- and long-term antibiotic treatment reduces airway and systemic inflammation in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2012 Oct 1 [cited 2024 Sep 22];186(7):657–65. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22744718/>
20. Drost N, D'Silva L, Rebello R, Efthimiadis A, Hargreave FE, Nair P. Persistent sputum cellularity and neutrophils may predict bronchiectasis. *Can Respir J* [Internet]. 2011 [cited 2024 Sep 23];18(4):221–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22059180/>
21. Whitters D, Stockley R. Immunity and bacterial colonisation in bronchiectasis. *Thorax* [Internet]. 2012 [cited 2024 Sep 23];67(11):1006–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21933944/>
22. King PT, Hutchinson PE, Johnson PD, Holmes PW, Freezer NJ, Holdsworth SR. Adaptive immunity to nontypeable *Haemophilus influenzae*. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2003 [cited 2024 Sep 23];167(4):587–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12433671/>
23. Tsang KWT, Rutman A, Tanaka E, Lund V, Dewar A, Cole PJ, et al. Interaction of *Pseudomonas aeruginosa* with human respiratory mucosa in vitro. *Eur Respir J* [Internet]. 1994 [cited 2024 Sep 23];7(10):1746–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7828679/>
24. Tan HL, Regamey N, Brown S, Bush A, Lloyd CM, Davies JC. The Th17 pathway in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2011 Jul 15 [cited 2024 Sep 23];184(2):252–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21474644/>
25. Mikami M, Llewellyn-Jones CG, Bayley D, Hill SL, Stockley RA. The chemotactic activity of sputum from patients with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 1998 [cited 2024 Sep 23];157(3 Pt 1):723–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9517582/>

26. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* [Internet]. 2004 Mar 5 [cited 2024 Sep 23];303(5663):1532–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15001782/>
27. Voglis S, Quinn K, Tullis E, Liu M, Henriques M, Zubrinich C, et al. Human neutrophil peptides and phagocytic deficiency in bronchiectatic lungs. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2009 Jul 15 [cited 2024 Sep 23];180(2):159–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19406984/>
28. Bedi P, Davidson DJ, McHugh BJ, Rossi AG, Hill AT. Blood Neutrophils Are Reprogrammed in Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Sep 23];198(7):880–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29733693/>
29. Watt AP, Brown V, Courtney J, Kelly M, Garske L, Elborn JS, et al. Neutrophil apoptosis, proinflammatory mediators and cell counts in bronchiectasis. *Thorax* [Internet]. 2004 Mar [cited 2024 Sep 23];59(3):231–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14985560/>
30. Kavanaugh JS, Flack CE, Lister J, Ricker EB, Ibberson CB, Jenul C, et al. Identification of Extracellular DNA-Binding Proteins in the Biofilm Matrix. *mBio* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Sep 23];10(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31239382/>
31. Young RL, Malcolm KC, Kret JE, Caceres SM, Poch KR, Nichols DP, et al. Neutrophil extracellular trap (NET)-mediated killing of *Pseudomonas aeruginosa*: evidence of acquired resistance within the CF airway, independent of CFTR. *PLoS One* [Internet]. 2011 Sep 1 [cited 2024 Sep 23];6(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21909403/>
32. Wilton M, Halverson TWR, Charron-Mazenod L, Parkins MD, Lewenza S. Secreted Phosphatase and Deoxyribonuclease Are Required by *Pseudomonas aeruginosa* To Defend against Neutrophil Extracellular Traps. *Infect Immun* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2024 Sep 23];86(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29967090/>
33. Pilsczek FH, Salina D, Poon KKH, Fahey C, Yipp BG, Sibley CD, et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* [Internet]. 2010 Dec 15 [cited 2024 Sep 23];185(12):7413–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21098229/>
34. Juneau RA, Pang B, Weimer KWD, Armbruster CE, Swords WE. Nontypeable *Haemophilus influenzae* initiates formation of neutrophil extracellular traps. *Infect Immun* [Internet]. 2011 Jan [cited 2024 Sep 23];79(1):431–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20956567/>
35. Keir HR, Shoemark A, Dicker AJ, Perea L, Pollock J, Giam YH, et al. Neutrophil extracellular traps, disease severity, and antibiotic response in bronchiectasis: an international, observational, multicohort study. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 Sep 23];9(8):873–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33609487/>
36. Pieterse E, Rother N, Yanginlar C, Hilbrands LB, van der Vlag J. Neutrophils Discriminate between Lipopolysaccharides of Different Bacterial Sources and Selectively Release Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol* [Internet]. 2016 Nov 4 [cited 2024 Sep 23];7(NOV). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27867387/>

37. Chalmers JD, Metersky ML, Feliciano J, Fernandez C, Teper A, Maes A, et al. Benefit–risk assessment of brensocatib for treatment of non-cystic fibrosis bronchiectasis. *ERJ Open Res* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Oct 6];9(3). Available from: [/pmc/articles/PMC10152260/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29496464/)
38. Coman I, Pola-Bibián B, Barranco P, Vila-Nadal G, Dominguez-Ortega J, Romero D, et al. Bronchiectasis in severe asthma: Clinical features and outcomes. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];120(4):409–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29496464/>
39. Houtmeyers E, Gosselink R, Gayan-Ramirez G, Decramer M. Regulation of mucociliary clearance in health and disease. *Eur Respir J* [Internet]. 1999 [cited 2024 Sep 23];13(5):1177–88. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10414423/>
40. Pasteur MC, Helliwell SM, Houghton SJ, Webb SC, Foweraker JE, Coulden RA, et al. An investigation into causative factors in patients with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2000 [cited 2024 Sep 23];162(4 Pt 1):1277–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11029331/>
41. Lonni S, Chalmers JD, Goeminne PC, McDonnell MJ, Dimakou K, De Soyza A, et al. Etiology of Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis in Adults and Its Correlation to Disease Severity. *Ann Am Thorac Soc* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2024 Sep 23];12(12):1764–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26431397/>
42. Shah A, Shoemark A, MacNeill SJ, Bhaludin B, Rogers A, Bilton D, et al. A longitudinal study characterising a large adult primary ciliary dyskinesia population. *Eur Respir J* [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2024 Sep 23];48(2):441–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27288033/>
43. Amitani R, Wilson R, Rutman A, Read R, Ward C, Burnett D, et al. Effects of human neutrophil elastase and *Pseudomonas aeruginosa* proteinases on human respiratory epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* [Internet]. 1991 [cited 2024 Sep 23];4(1):26–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1898852/>
44. Nair C, Shoemark A, Chan M, Ollosson S, Dixon M, Hogg C, et al. Cyanide levels found in infected cystic fibrosis sputum inhibit airway ciliary function. *Eur Respir J* [Internet]. 2014 [cited 2024 Sep 23];44(5):1253–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25186256/>
45. De Rose V, Molloy K, Gohy S, Pilette C, Greene CM. Airway Epithelium Dysfunction in Cystic Fibrosis and COPD. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2018 [cited 2024 Sep 23];2018. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29849481/>
46. Wolters PJ, Chapman HA. Importance of lysosomal cysteine proteases in lung disease. *Respir Res* [Internet]. 2000 Nov 20 [cited 2024 Sep 23];1(3):170. Available from: [/pmc/articles/PMC59556/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10414423/)
47. Dunsmore SE, Saarialho-Kere UK, Roby JD, Wilson CL, Matrisian LM, Welgus HG, et al. Matrilysin expression and function in airway epithelium. *Journal of Clinical Investigation* [Internet]. 1998 Oct 10 [cited 2024 Sep 23];102(7):1321. Available from: [/pmc/articles/PMC508979/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10414423/)
48. Bergin DA, Hurley K, Mehta A, Cox S, Ryan D, O'Neill SJ, et al. Airway inflammatory markers in individuals with cystic fibrosis and non-cystic fibrosis bronchiectasis. *J Inflamm Res*

- [Internet]. 2013 Jan 22 [cited 2024 Sep 23];6(1):1. Available from: [/pmc/articles/PMC3576001/](#)
49. Polverino E, Goeminne PC, McDonnell MJ, Aliberti S, Marshall SE, Loebinger MR, et al. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. *Eur Respir J* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2024 Sep 23];50(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28889110/>
 50. Chalmers JD, Polverino E, Crichton ML, Ringshausen FC, De Soyza A, Vendrell M, et al. Bronchiectasis in Europe: data on disease characteristics from the European Bronchiectasis registry (EMBARC). *Lancet Respir Med* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Sep 23];11(7):637–49. Available from: <http://www.thelancet.com/article/S2213260023000930/fulltext>
 51. Monteagudo M, Rodríguez-Blanco T, Barrecheguren M, Simonet P, Miravittles M. Prevalence and incidence of bronchiectasis in Catalonia, Spain: A population-based study. *Respir Med* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2024 Sep 23];121:26–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27888988/>
 52. Martínez-García MA, Villa C, Dobarganes Y, Girón R, Maíz L, García-Clemente M, et al. RIBRON: el registro español informatizado de bronquiectasias. Caracterización de los primeros 1.912 pacientes. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Sep 23];57(1):28–35. Available from: <https://www.archbronconeumol.org/en-ribron-el-registro-espanol-informatizado-articulo-S0300289620300041>
 53. Weycker D, Hansen GL, Seifer FD. Prevalence and incidence of noncystic fibrosis bronchiectasis among US adults in 2013. *Chron Respir Dis* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2024 Sep 23];14(4):377. Available from: [/pmc/articles/PMC5729734/](#)
 54. Quint JK, Millett ERC, Joshi M, Navaratnam V, Thomas SL, Hurst JR, et al. Changes in the incidence, prevalence and mortality of bronchiectasis in the UK from 2004 to 2013: a population-based cohort study. *Eur Respir J* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2024 Sep 23];47(1):186–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26541539/>
 55. De La Rosa D, Martínez-García MA, Oliveira C, Girón R, Maíz L, Prados C. Annual direct medical costs of bronchiectasis treatment: Impact of severity, exacerbations, chronic bronchial colonization and chronic obstructive pulmonary disease coexistence. *Chron Respir Dis* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2024 Sep 23];13(4):361–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27072020/>
 56. Aliberti S, Goeminne PC, O'Donnell AE, Aksamit TR, Al-Jahdali H, Barker AF, et al. Criteria and definitions for the radiological and clinical diagnosis of bronchiectasis in adults for use in clinical trials: international consensus recommendations. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Sep 23];10(3):298–306. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34570994/>
 57. O'Donnell AE. Bronchiectasis - A Clinical Review. *N Engl J Med* [Internet]. 2022 Aug 11 [cited 2024 Sep 23];387(6):533–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35947710/>
 58. Parr DG, Guest PG, Reynolds JH, Dowson LJ, Stockley RA. Prevalence and impact of bronchiectasis in alpha1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2007 Dec 15 [cited 2024 Sep 23];176(12):1215–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17872489/>

59. Chalmers JD, Polverino E, Crichton ML, Ringshausen FC, De Soyza A, Vendrell M, et al. Bronchiectasis in Europe: data on disease characteristics from the European Bronchiectasis registry (EMBARC). *Lancet Respir Med* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Sep 23];11(7):637–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37105206/>
60. Bahous J, Cartier A, Pineau L, Bernard C, Ghezzi H, Martin R, et al. Pulmonary function tests and airway responsiveness to methacholine in chronic bronchiectasis of the adult. *Bull Eur Physiopathol Respir*. 1984;
61. Chalmers JD, Goeminne P, Aliberti S, McDonnell MJ, Lonni S, Davidson J, et al. The bronchiectasis severity index. An international derivation and validation study. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2024 Sep 23];189(5):576–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24328736/>
62. Pande JN, Jain BP, Gupta RG, Guleria JS. Pulmonary ventilation and gas exchange in bronchiectasis. *Thorax* [Internet]. 1971 [cited 2024 Sep 23];26(6):727–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5144652/>
63. Roberts HR, Wells AU, Rubens MB, Cole PJ, Hansell DM, Milne DG, et al. Airflow obstruction in bronchiectasis: correlation between computed tomography features and pulmonary function tests. *Thorax* [Internet]. 2000 [cited 2024 Sep 23];55(3):198–204. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10679538/>
64. Surveillance for respiratory hazards in the occupational setting [American Thoracic Society]. *American Review of Respiratory Disease*. 1982;
65. Pang J, Chan HS, Sung JY. Prevalence of asthma, atopy, and bronchial hyperreactivity in bronchiectasis: a controlled study. *Thorax* [Internet]. 1989 [cited 2024 Sep 23];44(11):948–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2595637/>
66. Spinou A, Siegert RJ, Guan WJ, Patel AS, Gosker HR, Lee KK, et al. The development and validation of the Bronchiectasis Health Questionnaire. *Eur Respir J* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2024 Sep 23];49(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28495688/>
67. Wilson CB, Jones PW, O’Leary CJ, Cole PJ, Wilson R. Validation of the St. George’s Respiratory Questionnaire in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 1997 [cited 2024 Sep 23];156(2 Pt 1):536–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9279236/>
68. Finch S, Laska IF, Abo-Leyah H, Fardon TC, Chalmers JD. Validation of the COPD Assessment Test (CAT) as an Outcome Measure in Bronchiectasis. *Chest* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];157(4):815. Available from: [/pmc/articles/PMC7118240/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32540279/)
69. D’Urzo AD, Jugovic P, Jhirad R, Bouchard J. A 4-year trial of tiotropium in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2008 Aug [cited 2024 Sep 23];359(15):848–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18836213/>
70. Flume PA, Chalmers JD, Olivier KN. Advances in bronchiectasis: endotyping, genetics, microbiome, and disease heterogeneity. *Lancet* [Internet]. 2018 Sep 8 [cited 2024 Sep 27];392(10150):880–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30215383/>
71. de la Rosa Carrillo D, López-Campos JL, Alcázar Navarrete B, Calle Rubio M, Cantón Moreno R, García-Rivero JL, et al. Consensus Document on the Diagnosis and Treatment of Chronic Bronchial Infection in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Sep 23];56(10):651–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32540279/>

72. Martínez-García MÁ, Máiz L, Oliveira C, Girón RM, de la Rosa D, Blanco M, et al. Spanish Guidelines on the Evaluation and Diagnosis of Bronchiectasis in Adults. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 Sep 23];54(2):79–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29128130/>
73. De Soyza A, McDonnell MJ, Goeminne PC, Aliberti S, Lonni S, Davison J, et al. Bronchiectasis Rheumatoid Overlap Syndrome Is an Independent Risk Factor for Mortality in Patients With Bronchiectasis: A Multicenter Cohort Study. *Chest* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Sep 23];151(6):1247–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28093268/>
74. Wilson R, Boyton R. Bronchiectasis. *Encyclopedia of Respiratory Medicine: Volume 1-4* [Internet]. 2023 May 22 [cited 2024 Sep 23];1–4:V1-259-V1-268. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430810/>
75. Maleche-Obimbo E, Odhiambo MA, Njeri L, Mburu M, Jaoko W, Were F, et al. Magnitude and factors associated with post-tuberculosis lung disease in low- and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Global Public Health* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2024 Oct 6];2(12). Available from: [/pmc/articles/PMC10021795/](https://pmc/articles/PMC10021795/)
76. Wanner A, Edwards M, Harries AD, Kirenga BJ, Chakaya J, Jones R, et al. International research and guidelines on post-tuberculosis chronic lung disorders: a systematic scoping review. *BMJ Glob Health* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2024 Oct 6];3(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30057796/>
77. Zhou Y, Mu W, Zhang J, Wen SW, Pakhale S. Global prevalence of non-tuberculous mycobacteria in adults with non-cystic fibrosis bronchiectasis 2006–2021: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2024 Sep 23];12(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35914904/>
78. Máiz L, Girón R, Oliveira C, Vendrell M, Nieto R, Martínez-García MA. Prevalence and factors associated with nontuberculous mycobacteria in non-cystic fibrosis bronchiectasis: a multicenter observational study. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2016 Aug 22 [cited 2024 Sep 23];16(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27549788/>
79. Lonni S, Chalmers JD, Goeminne PC, McDonnell MJ, Dimakou K, De Soyza A, et al. Etiology of Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis in Adults and Its Correlation to Disease Severity. *Ann Am Thorac Soc* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2024 Sep 23];12(12):1764–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26431397/>
80. Polverino E, Dimakou K, Hurst J, Martinez-Garcia MA, Miravittles M, Paggiaro P, et al. The overlap between bronchiectasis and chronic airway diseases: state of the art and future directions. *Eur Respir J* [Internet]. 2018 [cited 2024 Sep 23];52(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30049739/>
81. Paganin F, S  neterre E, Chanez P, Daur  s JP, Bruel JM, Michel FB, et al. Computed tomography of the lungs in asthma: influence of disease severity and etiology. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 1996 [cited 2024 Sep 23];153(1):110–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8542102/>
82. Dimakou K, Gousiou A, Toumbis M, Kaponi M, Chrysikos S, Thanos L, et al. Investigation of bronchiectasis in severe uncontrolled asthma. *Clin Respir J* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Sep 23];12(3):1212–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28544140/>

83. Chalmers JD, Hill AT. Mechanisms of immune dysfunction and bacterial persistence in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Mol Immunol* [Internet]. 2013 Aug [cited 2024 Sep 23];55(1):27–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23088941/>
84. Pasteur MC, Bilton D, Hill AT. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. *Thorax* [Internet]. 2010 [cited 2024 Sep 23];65 Suppl 1(SUPPL. 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20627931/>
85. Shoemark A, Ozerovitch L, Wilson R. Aetiology in adult patients with bronchiectasis. *Respir Med* [Internet]. 2007 Jun [cited 2024 Sep 23];101(6):1163–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17223027/>
86. Zariwala MA, Knowles MR, Omran H. Genetic defects in ciliary structure and function. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 2007 [cited 2024 Sep 23];69:423–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17059358/>
87. Immotile Cilia Syndrome (Primary Ciliary Dyskinesia), Including Kartagener Syndrome | The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease | OMMBID | McGraw Hill Medical [Internet]. [cited 2024 Sep 23]. Available from: <https://ommbid.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2709§ionid=225554987>
88. Gibson PG. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Semin Respir Crit Care Med* [Internet]. 2006 Apr [cited 2024 Sep 23];27(2):185–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16612769/>
89. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2016 Aug 15 [cited 2024 Sep 23];63(4):e1–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27365388/>
90. Wark P, Gibson PG, Wilson A. Azoles for allergic bronchopulmonary aspergillosis associated with asthma. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. 2004 Jul 19 [cited 2024 Sep 23];2017(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15266440/>
91. Jin M, Douglass JA, Elborn JS, Agarwal R, Calhoun WJ, Lazarewicz S, et al. Omalizumab in Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2024 Sep 23];11(3):896–905. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36581073/>
92. Schleich F, Vaia ES, Pilette C, Vandenplas O, Halloy JL, Michils A, et al. Mepolizumab for allergic bronchopulmonary aspergillosis: Report of 20 cases from the Belgian Severe Asthma Registry and review of the literature. *J Allergy Clin Immunol Pract* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2024 Sep 23];8(7):2412–2413.e2. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32268213/>
93. Ali M, Green O. Dupilumab: a new contestant to corticosteroid in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Oxf Med Case Reports* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];2021(4):113–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34081018/>
94. Tanimoto H, Fukutomi Y, Yasueda H, Takeuchi Y, Saito A, Watai K, et al. Molecular-based allergy diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in *Aspergillus fumigatus*-sensitized Japanese patients. *Clinical and Experimental Allergy*. 2015 Dec 1;45(12):1790–800.
95. Hill AT, Haworth CS, Aliberti S, Barker A, Blasi F, Boersma W, et al. Pulmonary exacerbation in adults with bronchiectasis: a consensus definition for clinical research. *Eur Respir J* [Internet].

- 2017 Jun 1 [cited 2024 Sep 23];49(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28596426/>
96. Chalmers JD, Aliberti S, Filonenko A, Shteinberg M, Goeminne PC, Hill AT, et al. Characterization of the “Frequent Exacerbator Phenotype” in Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2024 Sep 23];197(11):1410–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29357265/>
 97. Araújo D, Shteinberg M, Aliberti S, Goeminne PC, Hill AT, Fardon TC, et al. The independent contribution of *Pseudomonas aeruginosa* infection to long-term clinical outcomes in bronchiectasis. *Eur Respir J* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2024 Sep 27];51(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29386336/>
 98. Metersky ML, Aksamit TR, Barker A, Choate R, Daley CL, Daniels LA, et al. The Prevalence and Significance of *Staphylococcus aureus* in Patients with Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis. *Ann Am Thorac Soc* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2024 Sep 27];15(3):365–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29345970/>
 99. Metersky ML, Choate R, Aksamit TR, Conrad D, Lapinel NC, Maselli DJ, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* in patients with bronchiectasis: An analysis of the US bronchiectasis and NTM Research Registry. *Respir Med* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Sep 27];193. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35124355/>
 100. Choi H, Chalmers JD. Bronchiectasis exacerbation: a narrative review of causes, risk factors, management and prevention. *Ann Transl Med* [Internet]. 2023 Jan [cited 2024 Sep 27];11(1):25–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36760239/>
 101. Chen CL, Huang Y, Yuan JJ, Li HM, Han XR, Martinez-Garcia MA, et al. The Roles of Bacteria and Viruses in Bronchiectasis Exacerbation: A Prospective Study. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2024 Sep 23];56(10):621. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33071478/>
 102. Crichton ML, Shoemark A, Chalmers JD. The Impact of the COVID-19 Pandemic on Exacerbations and Symptoms in Bronchiectasis: A Prospective Study. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Sep 27];204(7):857–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34265234/>
 103. Menéndez R, Méndez R, Amara-Elori I, Reyes S, Montull B, Feced L, et al. Systemic Inflammation during and after Bronchiectasis Exacerbations: Impact of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Med* [Internet]. 2020 [cited 2024 Sep 27];9(8):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32746399/>
 104. Posadas T, Oscullo G, Zaldivar E, Villa C, Dobarganes Y, Girón R, et al. C-Reactive Protein Concentration in Steady-State Bronchiectasis: Prognostic Value of Future Severe Exacerbations. Data From the Spanish Registry of Bronchiectasis (RIBRON). *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2024 Sep 27];57(1):21–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32331706/>
 105. Shoemark A, Shteinberg M, De Soyza A, Haworth CS, Richardson H, Gao Y, et al. Characterization of Eosinophilic Bronchiectasis: A European Multicohort Study. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2022 Apr 15 [cited 2024 Sep 27];205(8):894–902. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35050830/>

106. King PT, Holdsworth SR, Freezer NJ, Villanueva E, Holmes PW. Microbiologic follow-up study in adult bronchiectasis. *Respir Med* [Internet]. 2007 Aug [cited 2024 Sep 23];101(8):1633–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17467966/>
107. King PT. The pathophysiology of bronchiectasis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* [Internet]. 2009 [cited 2024 Sep 23];4:411–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20037680/>
108. Solarat B, Perea L, Faner R, de La Rosa D, Martínez-García MÁ, Sibila O. Pathophysiology of Chronic Bronchial Infection in Bronchiectasis. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2024 Sep 23];59(2):101–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36180278/>
109. Kavanaugh JS, Flack CE, Lister J, Ricker EB, Ibberson CB, Jenul C, et al. Identification of Extracellular DNA-Binding Proteins in the Biofilm Matrix. *mBio* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2024 Sep 23];10(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31239382/>
110. Máiz L, Nieto R, Cantón R, de la Pedrosa EGG, Martínez-García MÁ. Fungi in Bronchiectasis: A Concise Review. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018 Jan 4 [cited 2024 Sep 23];19(1). Available from: <https://pmc/articles/PMC5796091/>
111. Mitchell AB, Mourad B, Buddle L, Peters MJ, Oliver BGG, Morgan LC. Viruses in bronchiectasis: a pilot study to explore the presence of community acquired respiratory viruses in stable patients and during acute exacerbations. *BMC Pulm Med* [Internet]. 2018 May 22 [cited 2024 Sep 23];18(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29788952/>
112. Metaxas EI, Balis E, Papaparaskevas J, Spanakis NE, Tatsis G, Tsakris A. Bronchiectasis exacerbations: The role of atypical bacteria and respiratory syncytial virus. *Canadian Respiratory Journal : Journal of the Canadian Thoracic Society* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2024 Sep 27];22(3):163. Available from: <https://pmc/articles/PMC4470550/>
113. Cox MJ, Turek EM, Hennessy C, Mirza GK, James PL, Coleman M, et al. Longitudinal assessment of sputum microbiome by sequencing of the 16S rRNA gene in non-cystic fibrosis bronchiectasis patients. *PLoS One* [Internet]. 2017 Feb 1 [cited 2024 Sep 23];12(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28170403/>
114. Rogers GB, Zain NMM, Bruce KD, Burr LD, Chen AC, Rivett DW, et al. A novel microbiota stratification system predicts future exacerbations in bronchiectasis. *Ann Am Thorac Soc* [Internet]. 2014 [cited 2024 Sep 23];11(4):496–503. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24592925/>
115. Dicker AJ, Lonergan M, Keir HR, Smith AH, Pollock J, Finch S, et al. The sputum microbiome and clinical outcomes in patients with bronchiectasis: a prospective observational study. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 Sep 23];9(8):885–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33961805/>
116. Watson RL, De Koff EM, Bogaert D. Characterising the respiratory microbiome. *Eur Respir J* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2024 Sep 23];53(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30487204/>
117. Wang Z, Singh R, Miller BE, Tal-Singer R, Van Horn S, Tomsho L, et al. Sputum microbiome temporal variability and dysbiosis in chronic obstructive pulmonary disease exacerbations: an analysis of the COPDMap study. *Thorax* [Internet]. 2018 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];73(4):331–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29269441/>

118. Chakravorty S, Helb D, Burday M, Connell N, Alland D. A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2007 May [cited 2024 Sep 23];69(2):330. Available from: [/pmc/articles/PMC2562909/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23943792/)
119. Cox MJ, Cookson WOCM, Moffatt MF. Sequencing the human microbiome in health and disease. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2013 Oct [cited 2024 Sep 23];22(R1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23943792/>
120. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2024 Sep 23];41(Database issue):D590. Available from: [/pmc/articles/PMC3531112/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23899327/)
121. Campbell CD, Barnett C, Sulaiman I. A clinicians' review of the respiratory microbiome. *Breathe (Sheff)* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2024 Sep 23];18(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36338247/>
122. Cui L, Morris A, Ghedin E. The human mycobiome in health and disease. *Genome Med* [Internet]. 2013 Jul 30 [cited 2024 Sep 23];5(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23899327/>
123. Abarenkov K, Nilsson RH, Larsson KH, Taylor AFS, May TW, Frøslev TG, et al. The UNITE database for molecular identification and taxonomic communication of fungi and other eukaryotes: sequences, taxa and classifications reconsidered. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2024 Jan 5 [cited 2024 Sep 27];52(D1):D791–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37953409/>
124. Coburn B, Wang PW, Diaz Caballero J, Clark ST, Brahma V, Donaldson S, et al. Lung microbiota across age and disease stage in cystic fibrosis. *Sci Rep* [Internet]. 2015 May 14 [cited 2024 Sep 27];5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25974282/>
125. Morgan XC, Huttenhower C. Chapter 12: Human microbiome analysis. *PLoS Comput Biol* [Internet]. 2012 [cited 2024 Sep 23];8(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23300406/>
126. Faner R, Sibila O, Agustí A, Bernasconi E, Chalmers JD, Huffnagle GB, et al. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *Eur Respir J* [Internet]. 2017 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];49(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28404649/>
127. Dickson RP, Erb-Downward JR, Freeman CM, McCloskey L, Falkowski NR, Huffnagle GB, et al. Bacterial topography of the healthy human lower respiratory tract. *mBio* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2024 Sep 23];8(1). Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mbio.02287-16>
128. Caselli E, Fabbri C, D'Accolti M, Soffritti I, Bassi C, Mazzacane S, et al. Defining the oral microbiome by whole-genome sequencing and resistome analysis: the complexity of the healthy picture. *BMC Microbiol* [Internet]. 2020 May 18 [cited 2024 Sep 23];20(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32423437/>
129. Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One* [Internet]. 2010 Jan 5 [cited 2024 Sep 23];5(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20052417/>

130. Young JC, Chehoud C, Bittinger K, Bailey A, Diamond JM, Cantu E, et al. Viral metagenomics reveal blooms of anelloviruses in the respiratory tract of lung transplant recipients. *Am J Transplant* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2024 Sep 23];15(1):200–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25403800/>
131. Cui L, Lucht L, Tipton L, Rogers MB, Fitch A, Kessinger C, et al. Topographic diversity of the respiratory tract mycobiome and alteration in HIV and lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2015 Apr 15 [cited 2024 Sep 23];191(8):932–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25603113/>
132. Sulaiman I, Wu BG, Li Y, Scott AS, Malecha P, Scaglione B, et al. Evaluation of the airway microbiome in nontuberculous mycobacteria disease. *European Respiratory Journal* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2024 Sep 23];52(4). Available from: <https://erj.ersjournals.com/content/52/4/1800810>
133. Lee SH, Lee Y, Park JS, Cho YJ, Yoon H II, Lee CT, et al. Characterization of Microbiota in Bronchiectasis Patients with Different Disease Severities. *J Clin Med* [Internet]. 2018 Nov 9 [cited 2024 Sep 27];7(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30423913/>
134. Fodor AA, Klem ER, Gilpin DF, Elborn JS, Boucher RC, Tunney MM, et al. The adult cystic fibrosis airway microbiota is stable over time and infection type, and highly resilient to antibiotic treatment of exacerbations. *PLoS One* [Internet]. 2012 Sep 26 [cited 2024 Sep 23];7(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23049765/>
135. Carmody LA, Zhao J, Kalikin LM, LeBar W, Simon RH, Venkataraman A, et al. The daily dynamics of cystic fibrosis airway microbiota during clinical stability and at exacerbation. *Microbiome* [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];3(1). Available from: </pmc/articles/PMC4381400/>
136. Han MLK, Zhou Y, Murray S, Tayob N, Noth I, Lama VN, et al. Lung microbiome and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis of the COMET study. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2014 [cited 2024 Sep 23];2(7):548–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24767767/>
137. Tunney MM, Einarsson GG, Wei L, Drain M, Klem ER, Cardwell C, et al. Lung microbiota and bacterial abundance in patients with bronchiectasis when clinically stable and during exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2013 May 15 [cited 2024 Sep 23];187(10):1118–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23348972/>
138. Wypych TP, Wickramasinghe LC, Marsland BJ. The influence of the microbiome on respiratory health. *Nat Immunol* [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2024 Sep 23];20(10):1279–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31501577/>
139. Nicotra MB, Rivera M, Dale AM, Shepherd R, Carter R. Clinical, pathophysiologic, and microbiologic characterization of bronchiectasis in an aging cohort. *Chest* [Internet]. 1995 [cited 2024 Sep 23];108(4):955–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7555168/>
140. Pasteur MC, Helliwell SM, Houghton SJ, Webb SC, Foweraker JE, Coulden RA, et al. An investigation into causative factors in patients with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2000 [cited 2024 Sep 23];162(4 Pt 1):1277–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11029331/>

141. Angrill J, Agustí C, De Celis R, Rañó A, Gonzalez J, Solé T, et al. Bacterial colonisation in patients with bronchiectasis: microbiological pattern and risk factors. *Thorax* [Internet]. 2002 [cited 2024 Sep 23];57(1):15–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11809984/>
142. Metersky ML, Choate R, Addrizzo-Harris D, Aksamit TR, Barker A, Basavaraj A, et al. The Association of Long-term Macrolide Therapy and Nontuberculous Mycobacterial Culture Positivity in Patients With Bronchiectasis. *Chest* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2024 Sep 23];160(2):466–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33617806/>
143. Aogáin M Mac, Chandrasekaran R, Hou Lim AY, Low TB, Tan GL, Hassan T, et al. Immunological corollary of the pulmonary mycobiome in bronchiectasis: the CAMEB study. *Eur Respir J* [Internet]. 2018 [cited 2024 Sep 23];52(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29880655/>
144. Mac Aogáin M, Narayana JK, Tiew PY, Ali NABM, Yong VFL, Jaggi TK, et al. Integrative microbiomics in bronchiectasis exacerbations. *Nat Med* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];27(4):688–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33820995/>
145. Naidich DP, McCauley DI, Khouri NF, Stitik FP, Siegelman SS. Computed tomography of bronchiectasis. *J Comput Assist Tomogr* [Internet]. 1982 [cited 2024 Sep 23];6(3):437–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7096687/>
146. Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology (Reading)* [Internet]. 2002 [cited 2024 Sep 27];148(Pt 1):257–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11782518/>
147. Willis JR, González-Torres P, Pittis AA, Bejarano LA, Cozzuto L, Andreu-Somavilla N, et al. Citizen science charts two major “stomatotypes” in the oral microbiome of adolescents and reveals links with habits and drinking water composition. *Microbiome*. 2018 Dec 6;6(1).
148. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2019 Aug 1 [cited 2024 Sep 27];37(8):852–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31341288/>
149. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* [Internet]. 2016 Jun 29 [cited 2024 Sep 27];13(7):581–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27214047/>
150. Katoh K, Misawa K, Kuma KI, Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2002 Jul 15 [cited 2024 Sep 27];30(14):3059–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12136088/>
151. Price MN, Dehal PS, Arkin AP. FastTree 2 – Approximately Maximum-Likelihood Trees for Large Alignments. *PLoS One* [Internet]. 2010 Mar 10 [cited 2024 Sep 27];5(3). Available from: [/pmc/articles/PMC2835736/](https://pmc/articles/PMC2835736/)
152. Shannon CE. A Mathematical Theory of Communication. *The Bell System Technical Journal*. 27:623–56.
153. Bray JR, Curtis JT. An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecol Monogr* [Internet]. 1957 Oct 1 [cited 2024 Sep 27];27(4):325–49. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2307/1942268>

154. Neu AT, Allen EE, Roy K. Defining and quantifying the core microbiome: Challenges and prospects. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2021 Dec 21 [cited 2024 Sep 27];118(51):e2104429118. Available from: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.2104429118>
155. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol* [Internet]. 2011 Jun 24 [cited 2024 Sep 27];12(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21702898/>
156. Wang R, Ding S, Lei C, Yang D, Luo H. The contribution of *Pseudomonas aeruginosa* infection to clinical outcomes in bronchiectasis: a prospective cohort study. *Ann Med* [Internet]. 2021 [cited 2024 Oct 9];53(1):459–69. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33754900/>
157. Martínez-García MA, Oscullo G, Posadas T, Zaldivar E, Villa C, Dobarganes Y, et al. *Pseudomonas aeruginosa* and lung function decline in patients with bronchiectasis. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2024 Oct 9];27(3):428–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32311472/>
158. Duan JL, Li CY, Jiang Y, Liu C, Huang PR, Gao LF, et al. Microbiological characteristics of the lower airway in adults with bronchiectasis: a prospective cohort study. *Respir Res* [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2024 Oct 9];25(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39020401/>
159. Filkins LM, Hampton TH, Gifford AH, Gross MJ, Hogan DA, Sogin ML, et al. Prevalence of streptococci and increased polymicrobial diversity associated with cystic fibrosis patient stability. *J Bacteriol* [Internet]. 2012 Sep [cited 2024 Oct 9];194(17):4709–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22753064/>
160. Harris JK, De Groote MA, Sagel SD, Zemanick ET, Kapsner R, Penvari C, et al. Molecular identification of bacteria in bronchoalveolar lavage fluid from children with cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2007 Dec 18 [cited 2024 Oct 9];104(51):20529–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18077362/>
161. Rogers GB, Carroll MP, Serisier DJ, Hockey PM, Jones G, Kehagia V, et al. Use of 16S rRNA gene profiling by terminal restriction fragment length polymorphism analysis to compare bacterial communities in sputum and mouthwash samples from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2006 Jul [cited 2024 Oct 9];44(7):2601–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16825392/>
162. Li L, Mac Aogáin M, Xu T, Jaggi TK, Chan LLY, Qu J, et al. *Neisseria* species as pathobionts in bronchiectasis. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2022 Sep 14 [cited 2024 Oct 6];30(9):1311–1327.e8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36108613/>
163. Ong SH, Kukkillaya VU, Wilm A, Lay C, Ho EXP, Low L, et al. Species Identification and Profiling of Complex Microbial Communities Using Shotgun Illumina Sequencing of 16S rRNA Amplicon Sequences. *PLoS One* [Internet]. 2013 Apr 8 [cited 2024 Oct 6];8(4):60811. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23620293/>
164. Iquebal MA, Jaiswal S, Mishra VK, Jasrotia RS, Angadi UB, Singh BP, et al. Fungal Genomic Resources for Strain Identification and Diversity Analysis of 1900 Fungal Species. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Oct 6];7(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33921243/>

165. Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD. *Gut* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2024 Sep 23];66(6):1039–48. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26843508/>
166. Soret P, Vandenborgh LE, Francis F, Coron N, Enaud R, Avalos M, et al. Respiratory mycobiome and suggestion of inter-kingdom network during acute pulmonary exacerbation in cystic fibrosis. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2024 Sep 23];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34674374/>
167. Martinsen EMH, Eagan TML, Leiten EO, Haaland I, Husebø GR, Knudsen KS, et al. The pulmonary mycobiome-A study of subjects with and without chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2024 Sep 23];16(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33826639/>
168. Becker K, von Eiff C. *Staphylococcus, micrococcus, and other catalase-positive cocci. Manual of Clinical Microbiology: Tenth Edition.* 2022 Jun 3;1–2:308–30.
169. Lim YW, Schmieder R, Haynes M, Furlan M, Matthews TD, Whiteson K, et al. Mechanistic model of *Rothia mucilaginosa* adaptation toward persistence in the CF lung, based on a genome reconstructed from metagenomic data. *PLoS One* [Internet]. 2013 May 30 [cited 2024 Oct 6];8(5). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23737977/>
170. Montaner AE, Carceller MA. Discinesia ciliar primaria. *Anales de Pediatría Continuada* [Internet]. 2013 Jan [cited 2024 Oct 6];11(1):38–45. Available from: https://www.researchgate.net/publication/257684433_Discinesia_ciliar_primaria
171. Oriano M, Gramegna A, Terranova L, Sotgiu G, Sulaiman I, Ruggiero L, et al. Sputum neutrophil elastase associates with microbiota and *Pseudomonas aeruginosa* in bronchiectasis. *Eur Respir J* [Internet]. 2020 [cited 2024 Oct 6];56(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32499333/>
172. Chalmers JD, Moffitt KL, Suarez-Cuartin G, Sibila O, Finch S, Furrie E, et al. Neutrophil Elastase Activity Is Associated with Exacerbations and Lung Function Decline in Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2017 May 15 [cited 2024 Oct 6];195(10):1384–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27911604/>
173. Aliberti S, Lonni S, Dore S, McDonnell MJ, Goeminne PC, Dimakou K, et al. Clinical phenotypes in adult patients with bronchiectasis. *Eur Respir J* [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2024 Oct 6];47(4):1113–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26846833/>
174. Stockley R, De Soyza A, Gunawardena K, Perrett J, Forsman-Semb K, Entwistle N, et al. Phase II study of a neutrophil elastase inhibitor (AZD9668) in patients with bronchiectasis. *Respir Med* [Internet]. 2013 Apr [cited 2024 Oct 6];107(4):524–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23433769/>
175. Rocafort M, Henares D, Brotons P, Launes C, Fernandez de Sevilla M, Fumado V, et al. Impact of COVID-19 Lockdown on the Nasopharyngeal Microbiota of Children and Adults Self-Confined at Home. *Viruses* [Internet]. 2022 Jul 1 [cited 2024 Oct 6];14(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35891502/>
176. Gao YH, Guan WJ, Xu G, Lin ZY, Tang Y, Lin ZM, et al. The role of viral infection in pulmonary exacerbations of bronchiectasis in adults: a prospective study. *Chest* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2024 Oct 6];147(6):1635–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25412225/>

177. George SN, Garcha DS, Mackay AJ, Patel ARC, Singh R, Sapsford RJ, et al. Human rhinovirus infection during naturally occurring COPD exacerbations. *Eur Respir J* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2024 Oct 6];44(1):87–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24627537/>
178. Rynda-Apple A, Robinson KM, Alcorn JF. Influenza and Bacterial Superinfection: Illuminating the Immunologic Mechanisms of Disease. *Infect Immun* [Internet]. 2015 [cited 2024 Oct 6];83(10):3764–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26216421/>
179. Chen CL, Huang Y, Martinez-Garcia MA, Yuan JJ, Li HM, de la Rosa-Carrillo D, et al. The Role of Epstein-Barr Virus in Adults With Bronchiectasis: A Prospective Cohort Study. *Open Forum Infect Dis* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2024 Oct 6];7(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32766379/>
180. Normando VMF, Dias ÁRN, da Silva ALSE, da Silva Pinto D, de Souza Santos MC, Rodrigues CL, et al. HTLV-I induces lesions in the pulmonary system: A systematic review. *Life Sci* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2024 Oct 6];256. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32553930/>
181. Rolain JM, Fancello L, Desnues C, Raoult D. Bacteriophages as vehicles of the resistome in cystic fibrosis. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2011 Nov [cited 2024 Oct 6];66(11):2444–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21816766/>
182. Dhar R, Singh S, Talwar D, Mohan M, Tripathi SK, Swarnakar R, et al. Bronchiectasis in India: results from the European Multicentre Bronchiectasis Audit and Research Collaboration (EMBARC) and Respiratory Research Network of India Registry. *Lancet Glob Health* [Internet]. 2019 Sep 1 [cited 2024 Oct 9];7(9):e1269–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31402007/>
183. Rodrigo-Troyano A, Sibila O. The respiratory threat posed by multidrug resistant Gram-negative bacteria. *Respirology* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2024 Oct 9];22(7):1288–99. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28681941/>
184. Klausen M, Heydorn A, Ragas P, Lambertsen L, Aaes-Jørgensen A, Molin S, et al. Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol Microbiol* [Internet]. 2003 Jun [cited 2024 Oct 9];48(6):1511–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12791135/>
185. Sibila O, Laserna E, Shoemark A, Keir HR, Finch S, Rodrigo-Troyano A, et al. Airway Bacterial Load and Inhaled Antibiotic Response in Bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2019 [cited 2024 Oct 9];200(1):33–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31109172/>
186. Chow EJ, Uyeki TM, Chu HY. The effects of the COVID-19 pandemic on community respiratory virus activity. *Nat Rev Microbiol*. 2023 Mar;21(3):195–210. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36253478/>
187. Brueggemann AB, Jansen van Rensburg MJ, Shaw D, et al. Changes in the incidence of invasive disease due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis* during the COVID-19 pandemic in 26 countries and territories in the Invasive Respiratory Infection Surveillance Initiative: a prospective analysis of surveillance data. *Lancet Digit Health*. 2021 Jun;3(6):e360–e370. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34045002/>

188. Danino D, Ben-Shimol S, van der Beek BA, Givon-Lavi N, Avni YS, Greenberg D, Weinberger DM, Dagan R. Decline in Pneumococcal Disease in Young Children During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic in Israel Associated With Suppression of Seasonal Respiratory Viruses, Despite Persistent Pneumococcal Carriage: A Prospective Cohort Study. *Clin Infect Dis.* 2022 Aug 24;75(1):e1154-e1164. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34904635/>

10.ANEXOS

10.1. ANEXO I. Aprobación Comité de Ética de centros participantes



Germans Trias i Pujol
Hospital

Comitè d'Ètica de la Investigació



DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN

El Dr. Magí Farré Albaladejo, Presidente del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta de realización del proyecto de investigación:

CÓDIGO	no consta	REF.CEI	PI-18-093
TÍTULO	Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huesped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica. Versión: no consta		
PROMOTOR	Dra. Alicia Marín Tàpia (Servicio de Neumología - HUGTIP)		
Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado versión , y retirada de muestras Versión 1 (Abril 2018)			

y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y que el estudio cumple con los aspectos que se recogen en la Ley de Investigación Biomédica 14/2007.
- El procedimiento para obtener el consentimiento informado, incluyendo la hoja de información para los sujetos y el plan de reclutamiento de sujetos previstos son adecuados.
- El procedimiento previsto para el manejo de datos personales es adecuado.
- La capacidad del investigador y sus colaboradores, así como los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el proyecto.
- En caso de obtención y procesamiento de muestras biológicas, ésta se adecuará a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011.

Que este Comité ha decidido emitir DICTAMEN FAVORABLE en la reunión celebrada el día 25/05/2018 aceptando que dicho estudio sea realizado en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol por el/la **Dra. Alicia Marín Tàpia** del servicio de Neumología como investigador/a principal.

Que en dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente para que la decisión del citado CEI sea válida.

Que el CEI del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la **composición del CEI** es la indicada en el **anexo I**.

Que en el supuesto que algún miembro del CEI sea investigador principal o colaborador del estudio evaluado, éste se ausentará de la reunión durante la deliberación y toma de decisión.

Lo que firmo en Badalona, a 25 de mayo de 2018

Dr. Magí Farré Albaladejo

Generalitat de Catalunya
Departament de Salut


Germans Trias i Pujol
Hospital
Institut Català de la Salut

Comitè d'Ètica de la Investigació

REF.CEI: PI-18-093
Página 1 de 2



ANEXO I: COMPOSICIÓN CEI HOSPITAL UNIVERSITARI GERMANS TRIAS I PUJOL

Presidente

Farré Albaladejo, Magí. Farmacología Clínica

Vicepresidenta

Balañá Quintero, Carme. Oncología Médica (ICO)

Secretaria Técnica

Fortes Villegas, Àngels. (IGTP)

Vocales

Alonso Fernández, Sergio. Enfermería

Avecilla Palau, M^a Àngels. Ginecología y Obstetricia (BSA)

Bayés Genís, Beatriu. Dirección de Centro

Bret Garriga, Esteve. Representante del Paciente

Cabrera Jaime, Sandra. Enfermería

Casanovas Cuellar, Cristina. Enfermería

Dachary Jiménez, Natàlia. Jurista

Jiménez López, Irene. Unidad de Atención a la Ciudadanía

López Andrés, Anna. Farmacología Clínica (IGTP)

Montané Esteve, Eva. Farmacología Clínica

Moreira Porta, Berna. Representante del Paciente

Oriol Rocafiguera, Albert. Hematología y Hemoterapia (ICO)

Peláez de Loño, Jordi. Farmacia (CATSALUT)

Puyalto de Pablo, Paloma. Radiología

Ramo Tello, Cristina. Neurología

Romeu Fontanillas, Joan. Medicina Interna -VIH

Sánchez Fernández, Mayka. Biología-Genética (IJC)

Solà Suárez, Montserrat. Medicina Nuclear

Vilaró Jaques, Laia. Farmacia

Sra. Mireia Navarro Sebastian, secretaria del CEIm del Hospital Universitario Vall d'Hebron,

CERTIFICA:

Que se ha recibido la petición por parte de la Dra. Eva Polverino para que nuestro CEIm evalúe el siguiente estudio,

Título del Proyecto: Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica. Proyecto Bronchi-Omics

Investigador principal: Dra. Eva Polverino

y que este CEIm acepta esta función y se realizarán los trámites pertinentes.

**MIREIA NAVARRO
SEBASTIAN**

Firmado digitalmente por MIREIA NAVARRO
SEBASTIAN
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES,
ou=Vegeu <https://www.aoc.cat/CATCert/>
Regulacio, sn=NAVARRO SEBASTIAN,
givenName=MIREIA, serialNumber=38121226Z,
cn=MIREIA NAVARRO SEBASTIAN
Fecha: 2018.11.23 15:04:19 +01'00'

Lo firmo en Barcelona, a 23 de Noviembre de 2018

Sra. Mireia Navarro Sebastian
Secretaria del CEIm

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Coloma Moreno Quiroga, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm) del Parc Taulí de Sabadell (Barcelona),

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor CIBER-Hospital Germans Trias i Pujol código para que se realice el estudio titulado: "Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huesped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica", Protocolo versión 1, de abril 2018, y considera que:

1. Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsible para el sujeto.
2. La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
3. Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudiera derivarse de su participación en el estudio.
4. El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
5. Y que el Comité acepta que dicho estudio sea realizado en la Corporació Sanitària Parc Taulí de Sabadell por Pomares Amigo, Xavier, como investigador principal.

El CEIm del Parc Taulí, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento. La composición del CEIm es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que los miembros del Comité se ausentan de la sesión durante la valoración de los proyectos en los que participan.

Lo que firma en Sabadell, 15 de octubre de 2018

Firmado:

Dra. Coloma Moreno Quiroga
Ref.: 2018623

**MORENO
QUIROGA
COLOMA -
40859447Q**

Firmado digitalmente por
MORENO QUIROGA COLOMA -
40859447Q
Nombre de reconocimiento (DN):
c=ES, serialNumber=40859447Q,
sn=MORENO QUIROGA,
givenName=COLOMA,
o=MORENO QUIROGA COLOMA -
40859447Q
Fecha: 2018.10.25 12:57:37 +02'00'

Anexo I COMPOSICIÓN DEL CEIm

Presidente: Seguí Palmer, Miquel Àngel. Médico. Oncología. Miembro del Comité de Investigación

Secretaria: Moreno Quiroga, Coloma. Médico. Fundació Parc Taulí

Vocales:

- Alfonso Zamora, Santiago. Miembro no sanitario. Representante de pacientes
- Badia Barnusell, Joan. Médico. Pediatría
- Calvet Fontova, Joan. Médico. Reumatología
- Capel Flores, Ismael. Médico. Endocrinología y Nutrición
- Cardoner Alvarez, Narcís. Médico. Salud Mental
- Diaz Santos, Emilio. Médico. Medicina Intensiva
- García Domínguez, Rosa M^a. Miembro del Servicio de Atención al Usuario
- Ibeas Lopez, José. Médico. Nefrología y Diálisis
- Liesa Torre-Marin, Ana María. Enfermera
- Massot Mesquida, Mireia. Farmacéutica de Primaria. Miembro ajeno a la institución
- Molas Ferrer, Glòria. Farmacia Hospitalaria
- Reig Loncán, Guillem, Jurista.
- Pontes García, Caridad. Farmacóloga
- Vergara Gómez, Mercè. Médico. Digestivo
- Vives Vilagut, Roser. Médico. Farmacia Hospitalaria

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA SOBRE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

El Dr. Enric Sospedra Martínez, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari de Bellvitge,

CERTIFICA

Que el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Universitari de Bellvitge, en su reunión de fecha 25/10/2018 (Acta 18/18), tras examinar toda la documentación presentada sobre el proyecto de investigación con nuestra ref. **PR366/18**, titulado:

"HETEROGENEIDAD EN LA SUSCEPTIBILIDAD A LA INFECCIÓN EN LAS BRONQUIECTASIAS: INTERACCIÓN HUÉSPED-MICROBIOMA Y SU VALOR PREDICTIVO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA. ESTUDIO BRONCHI-OMICS",

Documentos con versiones:

TIPO	VERSION
Hoja de Información al Paciente y Consentimiento Informado	Versión 1 (Abril/2018)

Presentado por la Dra. SALUD SANTOS PÉREZ del Servicio de Neumología del Hospital Universitari de Bellvitge, como investigador principal y promovido por la Dra. Alicia Marín Tapia del Servicio de Neumología del Hospital Germans Trias i Pujol, ha acordado emitir INFORME FAVORABLE al mencionado proyecto.

Que la composición actual del Comité de Ética de Investigación Clínica es la siguiente:

Presidente	Dr. Francesc Esteve Urbano	Médico - Medicina Intensiva
Vicepresidente	Dra. Pilar Hereu Boher	Médico - Farmacología Clínica
Secretario	Dr. Enric Sospedra Martínez	Farmacéutico - Farmacia Hospitalaria
Vocales:	Dr. Jordi Adamuz Tomás	Enfermero - Enfermería
	Dra. María Berdasco Menéndez	Bióloga - miembro no sanitario
	Dra. Concepción Cañete Ramos	Médico - Neumología
	Dr. Enric Condom Mundo	Médico - Anatomía Patológica
	Dr. Xavier Corbella Virós	Médico - Medicina Interna

Sra. Consol Felip Farrás
Dr. José Luis Ferreiro Gutiérrez
Dra. Ana María Ferrer Artola
Dr. Josep Ricard Frago Montanuy
Dr. Xavier Fulladosa Oliveras
Dra. Margarita García Martín
Dr. Carles Lladó i Carbonell
Dr. Josep Manel Llop Talaveron
Sra. Sonia López Ortega
Dr. Sergio Morchón Ramos
Dr. Joan Josep Queralt Jiménez
Dr. Ricard Ramos Izquierdo
Dra. Gemma Rodríguez Palomar
Dra. Nuria Sala Serra
Dr. Petru Cristian Simon

Miembro Laico - Docencia
Médico - Cardiología
Farmacéutica - miembro sanitario
Médico - Cirugía General y Digestiva
Médico - Nefrología
Médico - Oncología Médica
Médico- Urología
Farmacéutico - Farmacia Hospitalaria
Graduado Social - Atención a la Ciudadanía
Médico - Medicina Preventiva
Jurista
Médico - Cirugía Torácica
Farmacéutica - Atención Primaria
Bióloga - miembro no sanitario
Médico - Farmacología Clínica

Que este Comité cumple la legislación española vigente para este tipo de proyectos, así como las normas ICH y las Normas de Buena Práctica Clínica.

Que en dicha reunión del Comité de Ética de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

Lo que firmo en L'Hospitalet de Llobregat, a 25 de Octubre de 2018



Fdo. Dr. Enric Sospedra Martínez
Secretario del CEIC



Mútua Terrassa

COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Lda. Susana Redondo Capafons, como Secretaria del Comité Ético de Investigación con Medicamentos del Hospital Universitari Mútua Terrassa

CERTIFICO:

Que este comité ha recibido para su evaluación en la próxima reunión del CEIm del 19 de diciembre de 2018, el proyecto titulado "Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica. Proyecto Bronchl-Omics".

Terrassa, a 21 de noviembre de 2018

Lda. Susana Redondo
Secretaria del CEIC

INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

La Dra. Esther Jovell Fernández, Secretaria Técnica del Comité de Ética de Investigación con Medicamentos del Consorci Sanitari de Terrassa

CERTIFICA

Que este Comité ha aprobado, con fecha 25 de febrero de 2019, el estudio titulado **Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica** que será realizado por la Dra. Antònia Lluell Casanovas como investigadora principal y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad investigadora y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados el procedimiento para obtener el consentimiento informado, y el modo de reclutamiento previsto.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en el Consorci Sanitari de Terrassa por la Dra. Antònia Lluell Casanovas como investigadora principal.

Se acuerda emitir **INFORME FAVORABLE**

Lo que firmo en Terrassa a 05 de marzo de 2019



Dra. Esther Jovell Fernández

Informe del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Parc de Salut Mar

Doña Cristina Llop Julià Secretaria del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos Parc de Salut MAR,

CERTIFICA

Que este Comité, de acuerdo a la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, Principios éticos de la Declaración de Helsinki, y resto de principios éticos aplicables, ha evaluado la propuesta para que se realice el proyecto de investigación núm. 2019/8482/I, promovido por el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, y titulado "*Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica. Proyecto Bronchi-Omics*", de fecha enero de 2019
Que adjunta hoja de información y consentimiento informado, versión 3 de fecha enero de 2019.

Y considera que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Son adecuados el procedimiento para obtener el consentimiento informado, y el modo de reclutamiento previsto, así como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité acepta que dicho proyecto de investigación sea realizado en el Servicio de Neumología del Hospital del Mar por la Dra. Esther Barreiro Portela como investigadora principal, tal como recoge el ACTA de la reunión del día 26/02/2019.

Lo que firmo en Barcelona, 14 de marzo de 2019

COMITÈ ÈTIC D'INVESTIGACIÓ
CEIC - PARC DE SALUT MAR



Firmado:
Doña Cristina Llop Julià



Conformidad de la Dirección del Centro

Doña Olga Pané Mena, Gerente del Consorci Mar Parc de Salut de Barcelona, y vista la autorización del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos del Parc de Salut MAR

CERTIFICA

Que conoce la propuesta para que sea realizado en este Centro el proyecto de investigación nº 2019/8482/I titulado "*Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias: Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica. Proyecto Bronchi-Omics*", y que será realizado por la Dra. Esther Barreiro Portela como investigadora principal.

Que está de acuerdo con el contrato firmado entre el Centro y el promotor en el que se especifican todos los aspectos económicos de este proyecto.

Que acepta la realización de dicho proyecto de investigación en este Centro.

Lo que firma en Barcelona, 21 de marzo de 2019

Firmado:
Doña Olga Pané Mena

10.2. ANEXO II. Consentimiento informado

HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

Nombre del Estudio:

**“Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias:
Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica”**

Nombre del investigador principal: _____

Centro: _____

Teléfono de contacto: _____

Objetivo/finalidad del estudio

Estimado paciente,

Está siendo tratado en esta consulta como resultado de haberle diagnosticado Bronquiectasias. Actualmente, estamos llevando a cabo un proyecto de investigación cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de la composición de las bacterias del pulmón para determinar los mecanismos que influyen en la adquisición de infecciones respiratorias en pacientes con enfermedades pulmonares como la suya. Por este motivo, le pedimos su colaboración en este proyecto.

Las bronquiectasias son una enfermedad pulmonar crónica caracterizada por la dilatación permanente de los bronquios que se asocian a una inflamación crónica de las vías respiratorias e infecciones. Clínicamente suelen aparecer con tos crónica, expectoración y sensación de falta de aire, así como con infecciones agudas recurrentes caracterizadas por síntomas de fiebre, tos productiva, expectoración muco-purulenta y sensación de ahogo que se asocian con un empeoramiento de la calidad de vida. Dado el papel de las infecciones, es importante entender bien la relación entre los microbios de las vías respiratorias y las bronquiectasias. En nuestras vías respiratorias convive una amplia flora microbiana llamada microbioma. Tenemos pocos conocimientos acerca de este microbioma en los pacientes con bronquiectasias.

Se le pide que otorgue su consentimiento para que, en cuatro visitas médicas separadas por seis meses y un año (Visita inicial, 6, 12 y 24 meses) durante dos años y una visita en agudización, done una muestra de esputo, sangre y orina, siendo pruebas rutinarias que no comportan riesgos importantes para su salud.

En este estudio participan los servicios de Neumología y microbiología y otros 10 hospitales adicionales. Se estima que participen un total de 200 pacientes entre todos los hospitales.

Participación voluntaria

Su participación en este estudio es **totalmente voluntaria** y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que usted necesite. Del mismo modo, su relación con el equipo médico que le atiende no va a verse afectada.

Antes de tomar una decisión, lea atentamente este documento y haga tantas preguntas como desee para asegurarse que lo ha entendido y desea participar.

Investigación

Desde la inclusión en el estudio, se recogerán datos clínicos así como los resultados de diferentes pruebas realizadas de forma habitual para el seguimiento de su enfermedad durante 2 años. Se obtendrán muestras de sangre, en las que se les realizará la determinación de diferentes parámetros analíticos generales (p. e. determinación de la función renal o hemoglobina). Parte de la sangre será procesada y se almacenada a -80°C en el Biobanco del Instituto de Investigación Germans Trias i Pujol, Biobanco autorizado por el Departament de

Salut de la Generalitat e inscrito en el Registro Nacional de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III (B.0000643), hecho que garantiza que el Biobanco cumple con las garantías de trazabilidad, calidad y seguridad de datos, procesos y muestras; hasta su transferencia al laboratorio de análisis para analizar ciertas sustancias químicas inflamatorias y muestras de ADN (de acuerdo con la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica). El ADN es un elemento que está presente en todas sus células porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código de información en forma de “genes” que determina sus características físicas personales, como el color de ojos o del pelo. Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas personas desarrollan unas enfermedades y otras no. Se obtendrán muestras de orina para evaluar ciertas sustancias químicas inflamatorias. Las muestras de esputo, además de realizarse un cultivo microbiológico convencional, se procesarán y se almacenarán a -80°C en el biobanco del Instituto de Investigación Germans Trias i Pujol hasta su transferencia al laboratorio de análisis para determinaciones de sustancias específicas y estudio de bacterias mediante estudios genéticos (de acuerdo con la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica).

Todas las muestras se guardarán codificadas, garantizando la confidencialidad pero de manera que sea posible recuperar el vínculo con la persona que la cede.

Las muestras sobrantes del estudio serán conservadas en el biobanco del Instituto de Investigación Germans Trias i Pujol después de que el estudio haya finalizado. Estas podrían utilizarse en un futuro para estudios del mismo campo de investigación. En caso de que no desee que se utilice esta información para estos fines, deberá indicarlo en el consentimiento informado; asimismo, y posteriormente, podrá retirar el permiso para futuras investigaciones:

Derechos de los interesados

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, limitación, portabilidad, borrado, y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras dirigiéndose a:

Responsable del Tratamiento:

Fundació Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol
Carretera de Can Ruti. Camí de les Escoles s/n . 08916, Badalona. España
Tel 93 497 8653 / 8658
E-mail biobanc@igtp.cat; igtp@igtp.cat
[Delegado de Protección de datos: dpd@igtp.cat](mailto:dpd@igtp.cat)

Procedimiento

Si acepta participar, se obtendrá una muestra de sangre venosa (32 ml) en cuatro visitas durante el seguimiento. Los riesgos de la obtención de estas muestras son los mismos que para la realización de cualquier analítica rutinaria. Además, en cada visita se recogerá una muestra de esputo y orina. En el caso de las exacerbaciones durante el seguimiento y, si es posible, también se recogerán las muestras anteriormente citadas.

Ventajas

La investigación con su material no le aportará ningún beneficio directo. El beneficio es colectivo, a la contribución del conocimiento de las causas y/o riesgos de una enfermedad tan prevalente en nuestra sociedad.

Ética

Este estudio cumple con los principios de la Declaración de Helsinki y ha sido aprobado por el Comité de Ética del Hospital Germans Trias i Pujol. Asimismo, este proyecto cumple con lo establecido por la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica en lo que se refiere a la gestión de muestras biológicas para investigación. Solo en el caso de que esta investigación proporcione datos que pudieran ser clínicamente relevantes para usted e interesar a su salud le serán comunicados. Este proyecto cumple con lo establecido en el reglamento General Europeo de Protección de Datos.

Retirada del consentimiento y Confidencialidad

Usted puede en todo momento interrumpir su participación en este estudio y retirar su permiso a dicha participación. Debe decirlo a su médico y sus muestras serían entonces destruidas y no se utilizarían más.

De acuerdo con el Reglamento (UE) 2016/679 General de protección de datos se tomarán las siguientes medidas de confidencialidad: Su nombre, número de historia clínica o cualquier otro dato que pueda identificarle estarán resguardados por un código. Este código se le asignará cuando acepte ser incluido en el estudio y servirá para identificar sus muestras con sus datos médicos, sin tener que utilizarse sus datos verdaderos. Solamente una o varias personas responsables del estudio podrían desvelar estos códigos en caso de ser necesario. En ningún caso habrá terceras personas que tengan acceso a estos datos. En el caso de las publicaciones científicas generadas con los resultados del estudio, no aparecerá ningún dato identificativo de los pacientes participantes. De acuerdo con la ley orgánica 15/1999, se contemplan los derechos de Acceso, Rectificación, Cancelación y Oposición (ARCO) de sus datos personales (para ejercerlos se deberá dirigir por escrito al investigador del estudio).

Preguntas/información

Si tiene preguntas sobre esta investigación, puede contactar al investigador principal del proyecto, **Dra. Marín, en 93 4978920**.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del Estudio:

**“Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias:
Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica”**

El presente formulario deberá ser suministrado por uno de los investigadores del estudio antes de la primera visita del estudio.

Yo _____
<Nombre completo del paciente>

He leído la hoja de información que se me ha entregado.
He podido hacer preguntas sobre el estudio.
He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con _____
Investigador del estudio

Comprendo que mi participación es voluntaria.
Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1º Cuando quiera
- 2º Sin tener que dar explicaciones
- 3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio, cediendo las siguientes muestras:

- Sangre venosa
- Muestra de esputo
- Muestra de orina

☐ Doy el consentimiento para el almacenamiento en el Biobanco del Instituto de Investigación Germans Trias i Pujol de parte de estas muestras para su utilización en futuros estudios.

Fecha _____ Firma del participante _____

Fecha _____ Firma del investigador _____

Distribución: original al investigador, copia al paciente.

FORMULARIO DE RETIRADA DE MUESTRAS

Nombre del Estudio:

**“Heterogeneidad en la susceptibilidad a la infección en las bronquiectasias:
Interacción huésped-microbioma y su valor predictivo en la práctica clínica”**

El sujeto del estudio con código: _____

Proporcionó inicialmente consentimiento informado para que sus muestras se utilizarán para la investigación de este proyecto. Después de reunirse con su médico u otro médico de su equipo, ha indicado ahora que desea retirar su consentimiento y desea que su muestra se destruya.

CONFIRMACIÓN DE LA DESTRUCCIÓN DE LA MUESTRA

Tanto la sangre, como el esputo, la orina y los datos médicos recogidos en este estudio del paciente:

<Nombre completo del paciente>

han sido destruidos y no serán utilizados en adelante de acuerdo con la ley orgánica 15/1999 y el nuevo Reglamento General de Protección de Datos de la Unión Europea 2016/679.

Fecha _____ Firma del responsable del estudio _____

Fecha _____ Firma del investigador _____

Distribución: original al investigador, copia al paciente.

10.3. ANEXO III. Formularios de las visitas (V0, V1, V2, VE)

Formulario de datos

CÓDIGO DE CENTRO	
Hospital Germans Trias	01
Hospital Vall d'Hebron	02
Hospital de Bellvitge	03
Hospital Parc Taulí	04
Hospital Josep Trueta	05
Hospital Virgen del Rocio	06
Hospital Mutua de Terrassa	07
Hospital Plató	08
Consorti Sanitari de Terrassa	09
Hospital del Mar	10
Hospital de Sant Pau	11

VISITA BASAL (V0)**Bronchi-Omics Project**

Nombre del centro: _____

Nombre del investigador: _____

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

	<i>SI</i>
TC consistente con bronquiectasias	☐
>18 años	☐
Está estable en las últimas 6 semanas	☐
No tiene Fibrosis Quística	☐
No tiene BE por tracción	☐
No toma macrólidos	☐
No toma inmunosupresores	☐
No corticoides (>10 mg prednisona/día)	☐
No toma Ac.monoclonales	☐
No tiene neoplasia activa	☐
No está trasplantado	☐
No tiene infección por VIH	☐
Puede seguir el periodo del estudio	☐
Ha firmado consentimiento informado	☐

DATOS PERSONALESNúmero de identificador: (XX-XX)*

Código de paciente: Código de centro (2 dígitos)+números consecutivos (2 dígitos)

Número de historia clínica Fecha de inclusión: (dd-mm-aaaa) Fecha de Nacimiento: (dd-mm-aaaa) Edad *HOMBRE**MUJER*Sexo ☐☐

< 12 años

12 - 18 a.

> 18 a.

Nivel de estudios ☐☐*ACTIVO**PARO**INVALIDEZ**JUBILADO*Situación laboral ☐☐*SOLTERO**CASADO**SEPARADO**VIUDO*Estado Civil ☐☐*SI**NO*Hijos ☐☐

HÁBITOS TÓXICOS

	NO	Activo	Ex >1 año
Tabaquismo	☐	☐	☐
Nº Paquetes/Año Acumulados			
	NO	Activo	Ex >1 año
Enolismo	☐	☐	☐
UBE alcohol/día*			

*1 UBE = 10 gramos

COMORBILIDADES

	SI
Dislipemia	☐
Hipertensión pulmonar	☐
Osteoporosis	☐
Sd. ansioso-depresivo	☐
Reflujo Gastro-esofágico	☐

Índice de Charlson

	SI
Enfermedad coronaria	☐
Insuficiencia cardíaca	☐
Enfermedad arterial periférica	☐
Enfermedad cerebrovascular	☐
Demencia	☐
Enfermedad respiratoria crónica	☐
Enfermedad del tejido conectivo	☐
Úlcera gastroduodenal	☐
Hepatopatía crónica leve	☐
Diabetes	☐
Hemiplejia	☐
IRC moderada-severa	☐
DM con lesión en órganos diana	☐
Neoplasia sólida, Leucemia, Linfoma	☐
Hepatopatía crónica moderada-severa	☐
Neoplasia sólida con metástasis	☐
SIDA definido	☐

TRATAMIENTOS

NO RESPIRATORIOS

IECAS/ARAII	SI
Betabloqueantes	
Antiagregantes	
Anticoagulantes	
Estatinas	
IBP	

RESPIRATORIOS

Antibiótico nebulizado	SI
SABA/SAMA	
LAMA	
LABA	
CI	Budesonida beclometasona fluticasona F. de fluticasona
Dosis CI/día mcg	
Broncodilatadores nebulizados	
Roflumilast	
Antileucotrienos	
Inmunoglobulinas	
Alfa 1 antitripsina	
N-Acetilcisteína	
Suero fisiológico nebulizado	
Suero hipertónico nebulizado	
Hialurónico nebulizado	
Oxigenoterapia	
VMNI	
Vacuna gripe anual*	
*En el último año	
Vacuna neumococo*	
*En algún momento	
Drenaje secreciones*	
*Habitualmente	
Rehabilitación pulmonar*	
*En algún momento	

HISTORIA DE LAS BEAño de inicio de los síntomas Año del diagnóstico por TACAR **Diagnóstico definitivo*****marcar la opción a criterio del investigador*

Idiopáticas	☐
Post-infecciosas	☐
Post-tuberculosis	☐
Micobacterias no tuberculosas	☐
APBA	☐
EPOC	☐
ASMA	☐
Déficit de alfa-1-antitripsina	☐
Enfermedad del tejido conectivo	☐
Enfermedad inflamatoria intestinal	☐
Reflujo gastroesofágico	☐
Aspiración	☐
Inmunodeficiencia común variable	☐
Déficit de subclases de IgG	☐
Déficit de IgA	☐
Discinesia ciliar primaria	☐
Síndrome de kartagener	☐
Malformaciones congénitas	☐
Obstrucción bronquial	☐
Otras	☐

Historia de hemoptisis y neumoníasNº de hemoptisis previas Gravedad hemoptisis* ☐**Seleccionar la opción más grave*☐ Exp. hemoptoica☐ Hemoptisis moderada☐ Hemoptisis amenazanteTratamiento* ☐☐ Conservador☐ Embolización☐ Cirugía**Seleccionar el tratamiento más invasivo*Nº de neumonías previas

Exacerbaciones y uso de recursos en el año previo

Nº de exacerbaciones/año previo que han requerido hospitalización	
Nº de exacerbaciones/año previo atendidas en urgencias que no han requerido hospitalización	
Nº de exacerbaciones/año previo atendidas en HDIA que no han requerido hospitalización	
Nº de exacerbaciones/año previo que no han requerido atención especializada	
Nº de tandas de antibiótico/año previo	
Nº de tandas de corticoides orales /año previo	

MicrobiologíaNº Cultivos respiratorios año previo* ***Completar los 5 últimos priorizando los cultivos positivos****Cultivo 1**Fecha 1 (mm/aaaa) Estado clínico 1 Estabilidad ☐ Exacerbación ☐Muestra 1 Esputo ☐ BAL ☐ BAS ☐Microorganismo 1 SI ☐ NO ☐Bacteria 1*

**Anotar la opción: No, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkolderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros*

Multirresistente 1*

**Anotar la opción: No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos*

Micobacteria 1*

**Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros*

Hongo 1*

**Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros*

Virus 1*

**Anotar la opción: No procede, No, Influenza, VRS, metapneumovirus, otros*

Cultivo 2Fecha 2 (mm/aaaa) Estado clínico 2 Estabilidad ☐ Exacerbación ☐Muestra 2 Esputo ☐ BAL ☐ BAS ☐Microorganismo 2 SI ☐ NO ☐Bacteria 2*

**Anotar la opción: No, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkolderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros*

Multirresistente 2*

**Anotar la opción: No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos*

Micobacteria 2*

**Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros*

Hongo 2*

*Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros

Virus 2*

*Anotar la opción: No procede, No, Influenza, VRS, metapneumovirus, otros

Cultivo 3

Fecha 3 (mm/aaaa)

Estado clínico 3

Estabilidad

Exacerbación

Muestra 3

Esputo

BAL

BAS

Microorganismo 3

SI

NO

Bacteria 3*

*Anotar la opción: No, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros

Multirresistente 3*

*Anotar la opción: No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos

Micobacteria 3*

*Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros

Hongo 3*

*Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros

Virus 3*

*Anotar la opción: No procede, No, Influenza, VRS, metapneumovirus, otros

Cultivo 4

Fecha 4 (mm/aaaa)

Estado clínico 4

Estabilidad

Exacerbación

Muestra 4

Esputo

BAL

BAS

Microorganismo 4

SI

NO

Bacteria 4*

*Anotar la opción: No, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros

Multirresistente 4*

*Anotar la opción: No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos

Micobacteria 4*

*Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros

Hongo 4*

*Anotar la opción: No procede, No, *Aspergillus spp*, *candida spp*, *candida albicans*, otros

Virus 4*

*Anotar la opción: No procede, No, Influenza, VRS, metapneumovirus, otros

Cultivo 5

Fecha 5 (mm/aaaa)

Estado clínico 5

Estabilidad

Exacerbación

Muestra 5

Espudo

BAL

BAS

Microorganismo 5

SI

NO

Bacteria 5*

*Anotar la opción: No, Flora comensal, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Bordetella*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *E.coli*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Morganella*, *Nocardia*, *Proteus*, *P.aeruginosa*, *P.aeruginosa* tipo mucoide, *S.aureus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *S. pneumoniae*, Otros

Multirresistente 5*

*Anotar la opción: No, MARSa, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos

Micobacteria 5*

*Anotar la opción: No procede, No, *M.tuberculosis*, *M.avium intracellulare*, *M. abscessus*, *M.kansasii*, *M.fortuitum*, *M.xenopi*, *M.chelonae*, Otros

Hongo 5*

*Anotar la opción: No procede, No, *Aspergillus spp*, *candida spp*, *candida albicans*, otros

Virus 5*

*Anotar la opción: No procede, No, Influenza, VRS, metapneumovirus, otros

Pseudomonas aeruginosaEvidencia de *P.aeruginosa* en algún momento

Si

No

Tiempo desde último aislamiento

No

Último año

Entre 1-5 años

>5 años

Tratamiento erradicador

No

Último año

Entre 1-5 años

>5 años

IBC por *P.aeruginosa* último año*

Si

No

*Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para *P.aeruginosa* en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes

IBC por otro MPPs último año*

Si

No

*Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para otro microorganismo en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes

Exploración física

Sat O2 (AA) (%)

Peso (Kg)

Talla (metros)

IMC

Autocalculado

Boca séptica*

Si

No

*Hemorragia gingival, falta de piezas dentales, sarro dental.

Evaluación de las BE

Tos	No ☐	Ocasional ☐	Diaria ☐			
Expectoración diaria	No ☐	Ocasional ☐	<20 cc ☐	20-50 cc ☐	50-100 ☐	>100 ☐
Color del esputo en estabilidad*	1-2 ☐	3-4 ☐	5-6 ☐	7-8 ☐		

* Ver escala de Murray cuantificada

Estado general	Normal ☐	Astenia ☐	Febrícula ☐	Otros ☐	
Dolor torácico pleurítico	Si ☐	No ☐			
Escala de Disnea mMRC	0 ☐	1 ☐	2 ☐	3 ☐	4 ☐

Espirometria

*Realizada entre 1 año previo y 6 meses posteriores a la fecha de inclusión

Fecha (mm/aaaa)	
FVC (L)	
FVC (%)	
FEV1 (L)	
FEV1 (%)	
FEV1/FVC (%)	
FEV1 post (L)	
FEV1 post (L)	
TLC (L)	
TLC (%)	
VR (L)	
VR (%)	
DLCO (%)	
DLCO/VA (%)	

E-FACED

Exacerbación con ingreso/año previo	No ☐	≥1 ☐
FEV1%	Autocalculado	
Edad	Autocalculado	
Colonización por P.aeruginosa	No ☐	Si ☐

*Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para un mismo MPP en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes

Extensión radiológica	1-2 lóbulos ☐	>2 lóbulos ☐
Disnea (escala MRC)	Autocalculado	

Score autocalculado

BSIEdad **Autocalculado**IMC **Autocalculado**FEV1% **Autocalculado**

Colonización por P.aeruginosa

No

Si

**Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para P.aeruginosa en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes*

Colonización por otro microorganismo*

No

Si

**Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para un mismo MPP en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes*

Disnea (escala MRC)

Autocalculado

Extensión radiológica

<3 lóbulos

≥3 lóbulos

Exacerbaciones año previo

0-2

≥3

Exacerbaciones con ingreso 2 años previos

No

Si

Score autocalculado**CAT****BHQ****Autocalculado**

Su nombre:

Fecha actual:

¿Cómo es la EPOC que padece? Realización del COPD Assessment Test™ (CAT)

Este cuestionario les ayudará a usted y al profesional del cuidado de la salud a medir el impacto que la EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) está teniendo en su bienestar y su vida diaria. Sus respuestas y la puntuación de la prueba pueden ser utilizadas por usted y por el profesional del cuidado de la salud para ayudar a mejorar el manejo de la EPOC y obtener el máximo beneficio del tratamiento.

En cada uno de los siguientes enunciados, ponga una X en la casilla que mejor describa su estado actual. Asegúrese de seleccionar sólo una respuesta para cada pregunta.

Ejemplo: Estoy muy contento 0 ☒ 1 2 3 4 5 Estoy muy triste

			PUNTUACIÓN
Nunca toso	0 1 2 3 4 5	Siempre estoy tosiendo	
No tengo flema (mucosidad) en el pecho	0 1 2 3 4 5	Tengo el pecho completamente lleno de flema (mucosidad)	
No siento ninguna opresión en el pecho	0 1 2 3 4 5	Siento mucha opresión en el pecho	
Cuando subo una pendiente o un tramo de escaleras, no me falta el aire	0 1 2 3 4 5	Cuando subo una pendiente o un tramo de escaleras, me falta mucho el aire	
No me siento limitado para realizar actividades domésticas	0 1 2 3 4 5	Me siento muy limitado para realizar actividades domésticas	
Me siento seguro al salir de casa a pesar de la enfermedad pulmonar que padezco	0 1 2 3 4 5	No me siento nada seguro al salir de casa debido a la enfermedad pulmonar que padezco	
Duermo sin problemas	0 1 2 3 4 5	Tengo problemas para dormir debido a la enfermedad pulmonar que padezco	
Tengo mucha energía	0 1 2 3 4 5	No tengo ninguna energía	
			PUNTUACIÓN TOTAL

Cuestionario de salud sobre la bronquiectasia (BHQ)

Este cuestionario se ha diseñado para evaluar de qué modo afecta a su vida la bronquiectasia.

Lea atentamente cada pregunta y responda SELECCIONANDO la respuesta que mejor describa su caso. Es importante que conteste todas las preguntas con sinceridad.

INFORMACIÓN DEL PACIENTE:

Nombre

Fecha de nacimiento

Número de identificación del hospital.....

Fecha.....

1. En los últimos 14 días he estado cansado/a.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

2. En los últimos 14 días he hecho las cosas mucho más despacio que otras personas de mi edad.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

3. En los últimos 14 días he estado preocupado/a.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

4. En los últimos 14 días me he sentido sin flemas.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

5. En los últimos 14 días he sentido vergüenza a causa de las flemas (esputos) que tenía.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

6. En los últimos 14 días me ha faltado el aire.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

7. En los últimos 14 días he tenido problemas para dormir a causa de las bronquiectasias.

1. Todas las noches
2. La mayoría de las noches
3. Bastantes noches
4. Algunas noches
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

8. En los últimos 14 días he tenido ataques de tos.

1. Todos los días
2. La mayoría de los días
3. Bastantes días
4. Algunos días
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

9. En los últimos 14 días las flemas (esputos) que expulsaba tenían sangre.

1. Todas las veces
2. La mayoría de las veces
3. Bastantes veces
4. Algunas veces
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

10. En el ÚLTIMO AÑO, he tomado tratamientos con antibióticos para infecciones respiratorias.

1. Más de cinco veces
2. Cinco veces
3. Cuatro veces
4. Tres veces
5. Dos veces
6. Una vez
7. En ninguna ocasión

Muchas gracias por haber respondido a este cuestionario.

© Copyright BHQ. King's College Hospital NHS Trust 2014. Dr SS Birring

TACAR

**Realizada entre 2 años previo y 6 meses posteriores a la fecha de inclusión*

Fecha (mm/aaaa)

Escala de Reiff*

**Escala de Reiff modificada. Puntuación de 0 a 18.*

Puntuación según el cociente entre el diámetro de la luz bronquial y el diámetro del vaso adyacente: 0 puntos ≤ 1 ; 1 punto = 1-2; 2 puntos = 2-3; 3 puntos ≥ 3 .

LSD	0		1		2		3	
LM	0		1		2		3	
LID	0		1		2		3	
LSI	0		1		2		3	
Língula	0		1		2		3	
LII	0		1		2		3	

Score autocalculado

Enfisema SI NO

Analítica

Fecha (mm/aaaa)

**Escribir unidades correspondientes*

	Unidades	Valor
Hemoglobina		
Hematocrito		
Plaquetas		
Leucocitos		
Neutrófilos		
Linfocitos		
Eosinófilos		
Neutrófilos (%)		
Linfocitos (%)		
Eosinófilos (%)		
Fibrinógeno		
Glucosa		
Proteínas		
Albúmina		
PCR		
Creatinina		
GGT		
ALT (GPT)		

IgM	☐	☐
IgA	☐	☐
IgG	☐	☐
IgE Total	☐	☐
IgE específica Aspergillus fumigatus	☐	☐
IgG Aspergillus fumigatus	☐	☐
α -1 antitripsina	☐	☐
Test del sudor	☐	☐

Cultivo de esputo

Fecha (mm/aaaa)			
Obtención	☐ Espontáneo	☐ Inducido	
Grado de Murray			
Cultivo bacteriano cualitativo	<i>*Anotar la opción: No, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkolderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros</i>		
Cultivo bacteriano semicuantitativo	☐ Escasas*	☐ Algunas*	☐ Abundantes*
	<i>*Colonias</i>		
Multirresistente	<i>*Anotar la opción: No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos</i>		
Cultivo micobacterias	<i>*Anotar la opción: No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M. abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros</i>		
Cultivo micológico	<i>*Anotar la opción: No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros</i>		

***Citar para Visita 1 en seis meses (usar herramienta de la base de datos para el cálculo)**

***Entregar dos contenedores de esputo**

***Recordar al paciente que debe llamar antes síntomas de agudización para realizar visita de exacerbación**

VISITA 1 (V1) 6 meses

Número de identificador: (xx-xx)*

*Código de paciente: Código de centro (2 dígitos)+números consecutivos (2 dígitos)

Número de historia clínica

Fecha de la visita: (dd-mm-aaaa)

Tiempo desde la V0 (días)

Autocalculado

Cambios en el tratamiento

No							
Cambios en atb nebulizado	No	Inicio	Retirada	Cambio dosis	Cambio sustancia		
Inicio de macrólidos	No	Si					
Inicio otro atb oral crónico (doxiciclina..)	No	Si					
Inicio tto antifúngico	No	Si					
Inicio tto micobacterias	No	Si					
Cambios CI	No	Inicio	Retirada	Cambio dosis	Cambio sustancia		

Exacerbaciones y uso de recursos desde V0

Nº de exacerbaciones que han requerido hospitalización	
Nº de exacerbaciones atendidas en urgencias que no han requerido hospitalización	
Nº de exacerbaciones atendidas en HDIA que no han requerido hospitalización	
Nº de exacerbaciones que no han requerido atención especializada	
Nº de tandas de antibiótico	
Nº de tandas de corticoides orales	

Microbiología

Cultivos de muestras respiratorias desde V0

*Añadir hasta 3 aislamientos microbiológicos del periodo previo

Cultivo 1

*Recoger los esputos posteriores a la V0

Fecha 1 (dd-mm-aaaa)

Estado clínico 1	Estabilidad		Exacerbación			
Muestra 1	Esputo		BAL		BAS	
Bacteria 1						Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros
Multiresistente 1						Anotar la opción: No procede, No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos
Micobacteria 1						Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M. kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros
Hongo 1						Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros

Cultivo 2

Fecha 2 (dd-mm-aaaa)

Estado clínico 2	Estabilidad	Exacerbación	
Muestra 2	Esputo	BAL	BAS
Bacteria 2	Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros		
Multiresistente 2	Anotar la opción: No procede, No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos		
Micobacteria 2	Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M. kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros		
Hongo 2	Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros		

Cultivo 3

Fecha 3 (dd-mm-aaaa)

Estado clínico 3	Estabilidad		Exacerbación		
Muestra 3	Esputo		BAL		BAS
Bacteria 3					

Anotar la opción: *Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros*

Multiresistente 3

Anotar la opción: *No procede, No, MARSA, BLEE, carbapenemas, >3 grupos antibióticos*

Micobacteria 3

Anotar la opción: *No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros*

Hongo 3

Anotar la opción: *No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros*

Síntomas

Tos	No	Ocasional	Diaria
Expectoración diaria	No	Ocasional	<20 cc
			20-50 cc
			50-100
			>100
Color del esputo	1-2	3-4	5-6
			7-8
* Ver escala de Murray cuantificada			
Estado general	Normal	Astenia	Febrícula
			Otros
Dolor torácico pleurítico	Si	No	
Escala de Disnea mMRC	0	1	2
			3
			4

CAT

BHQ

Autocalculado

Analítica V1

Fecha (dd/mm/aaaa)

*Escribir unidades correspondientes

	Unidades	Valor
Hemoglobina		
Hematocrito		
Plaquetas		
Leucocitos		
Neutrófilos		
Linfocitos		
Eosinófilos		
Neutrófilos (%)		
Linfocitos (%)		
Eosinófilos (%)		
Fibrinógeno		
PCR		
Albumina		
Proteínas		

Cultivo de esputo V1

Fecha (dd/mm/aaaa)

Obtención Espontáneo Inducido

Grado de Murray

Cultivo bacteriano cualitativo

*Anotar la opción: *Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros*

Cultivo bacteriano semicuantitativo Escasas* Algunas* Abundantes* No procede

*Colonias

Multiresistente

Anotar la opción: *No, No procede, MARSA, BLEE, carbapenemas, >3 grupos antibiótico*

Cultivo micobacterias

Anotar la opción: *Negativo, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros*

Cultivo micológico

Anotar la opción: *Negativo, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros*

*Citar para Visita 2 en seis meses (usar herramienta de la base de datos para el cálculo)

*Entregar dos contenedores de esputo

*Recordar al paciente que debe llamar antes síntomas de agudización para realizar visita de exacerbadón

(Si es que no la ha hecho previamente)

Su nombre:

Fecha actual:

¿Cómo es la EPOC que padece? Realización del COPD Assessment Test™ (CAT)

Este cuestionario les ayudará a usted y al profesional del cuidado de la salud a medir el impacto que la EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) está teniendo en su bienestar y su vida diaria. Sus respuestas y la puntuación de la prueba pueden ser utilizadas por usted y por el profesional del cuidado de la salud para ayudar a mejorar el manejo de la EPOC y obtener el máximo beneficio del tratamiento.

En cada uno de los siguientes enunciados, ponga una X en la casilla que mejor describa su estado actual. Asegúrese de seleccionar sólo una respuesta para cada pregunta.

Ejemplo: Estoy muy contento 0 ☒ 1 2 3 4 5 Estoy muy triste

			PUNTUACIÓN
Nunca toso	0 1 2 3 4 5	Siempre estoy tosiendo	
No tengo flema (mucosidad) en el pecho	0 1 2 3 4 5	Tengo el pecho completamente lleno de flema (mucosidad)	
No siento ninguna opresión en el pecho	0 1 2 3 4 5	Siento mucha opresión en el pecho	
Cuando subo una pendiente o un tramo de escaleras, no me falta el aire	0 1 2 3 4 5	Cuando subo una pendiente o un tramo de escaleras, me falta mucho el aire	
No me siento limitado para realizar actividades domésticas	0 1 2 3 4 5	Me siento muy limitado para realizar actividades domésticas	
Me siento seguro al salir de casa a pesar de la enfermedad pulmonar que padezco	0 1 2 3 4 5	No me siento nada seguro al salir de casa debido a la enfermedad pulmonar que padezco	
Duermo sin problemas	0 1 2 3 4 5	Tengo problemas para dormir debido a la enfermedad pulmonar que padezco	
Tengo mucha energía	0 1 2 3 4 5	No tengo ninguna energía	
			PUNTUACIÓN TOTAL

Cuestionario de salud sobre la bronquiectasia (BHQ)

Este cuestionario se ha diseñado para evaluar de qué modo afecta a su vida la bronquiectasia.

Lea atentamente cada pregunta y responda SELECCIONANDO la respuesta que mejor describa su caso. Es importante que conteste todas las preguntas con sinceridad.

INFORMACIÓN DEL PACIENTE:

Nombre

Fecha de nacimiento

Número de identificación del hospital.....

Fecha.....

1. En los últimos 14 días he estado cansado/a.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

2. En los últimos 14 días he hecho las cosas mucho más despacio que otras personas de mi edad.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

3. En los últimos 14 días he estado preocupado/a.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

4. En los últimos 14 días me he sentido sin flemas.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

5. En los últimos 14 días he sentido vergüenza a causa de las flemas (esputos) que tenía.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

6. En los últimos 14 días me ha faltado el aire.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

7. En los últimos 14 días he tenido problemas para dormir a causa de las bronquiectasias.

1. Todas las noches
2. La mayoría de las noches
3. Bastantes noches
4. Algunas noches
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

8. En los últimos 14 días he tenido ataques de tos.

1. Todos los días
2. La mayoría de los días
3. Bastantes días
4. Algunos días
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

9. En los últimos 14 días las flemas (esputos) que expulsaba tenían sangre.

1. Todas las veces
2. La mayoría de las veces
3. Bastantes veces
4. Algunas veces
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

10. En el ÚLTIMO AÑO, he tomado tratamientos con antibióticos para infecciones respiratorias.

1. Más de cinco veces
2. Cinco veces
3. Cuatro veces
4. Tres veces
5. Dos veces
6. Una vez
7. En ninguna ocasión

Muchas gracias por haber respondido a este cuestionario.

© Copyright BHQ. King's College Hospital NHS Trust 2014. Dr SS Birring

VISITA 2 (V2) 12 meses

Número de identificador: (xx-xx)*

*Código de paciente: Código de centro (2 dígitos)+números consecutivos (2 dígitos)

Número de historia clínica

Fecha de la visita: (dd-mm-aaaa)

Tiempo desde la V0 (días)

Autocalculado

Cambios en el tratamiento desde V1

No

Cambios en atb nebulizado

No

Inicio

Retirada

Cambio dosis

Cambio sustancia

Inicio de macrólidos

No

Si

Inicio otro atb oral crónico (doxiciclina..)

No

Si

Inicio tto antifúngico

No

Si

Inicio tto micobacterias

No

Si

Cambios CI

No

Inicio

Retirada

Cambio dosis

Cambio sustancia

Exacerbaciones y uso de recursos desde V1

Nº de exacerbaciones que han requerido hospitalización

Nº de exacerbaciones atendidas en urgencias que no han requerido hospitalización

Nº de exacerbaciones atendidas en HDIA que no han requerido hospitalización

Nº de exacerbaciones que no han requerido atención especializada

Nº de tandas de antibiótico

Nº de tandas de corticoides orales

Microbiología

Cultivos de muestras respiratorias desde V1

*Añadir hasta 3 aislamientos microbiológicos del periodo previo

Cultivo 1

*Recoger los esputos posteriores a la V1

Fecha 1 (dd-mm-aaaa)

Estado clínico 1

Estabilidad

Exacerbación

Muestra 1

Espito

BAL

BAS

Bacteria 1

Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros

Multiresistente 1

Anotar la opción: No procede, No, MARSAs, BLEEs, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos

Micobacteria 1

Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros

Hongo 1

Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros

Cultivo 2

Fecha 2 (dd-mm-aaaa)

Estado clínico 2 Estabilidad ☐ Exacerbación ☐

Muestra 2 Esputo ☐ BAL ☐ BAS ☐

Bacteria 2

Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros

Multiresistente 2

Anotar la opción: No procede, No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos

Micobacteria 2

Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M. kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros

Hongo 2

Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros

Cultivo 3

Fecha 3 (dd-mm-aaaa)

Estado clínico 3 Estabilidad ☐ Exacerbación ☐

Muestra 3 Esputo ☐ BAL ☐ BAS ☐

Bacteria 3

Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkholderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros

Multiresistente 3

Anotar la opción: No procede, No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos

Micobacteria 3

Anotar la opción: No procede, No, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M. kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros

Hongo 3

Anotar la opción: No procede, No, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros

Síntomas

Tos No ☐ Ocasional ☐ Diaria ☐

Expectoración diaria No ☐ Ocasional ☐ <20 cc ☐ 20-50 cc ☐ 50-100 ☐ >100 ☐

Color del esputo 1-2 ☐ 3-4 ☐ 5-6 ☐ 7-8 ☐

* Ver escala de Murray cuantificada

Estado general Normal ☐ Astenia ☐ Febrícula ☐ Otros ☐

Dolor torácico pleurítico Si ☐ No ☐

Escala de Disnea mMRC 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐

Espirometria

*Realizada entre la fecha del año de la inclusión y los 6 meses posteriores

Fecha (mm/aaaa)

FVC (L)

FVC (%)

FEV1 (L)

FEV1 (%)

FEV1/FVC (%)

FEV1 post (L)

FEV1 post (L)

E-FACED

Exacerbación con ingreso/año previo	No ☐	≥1 ☐
FEV1%	Autocalculado	
Edad	Autocalculado	
Colonización por P.aeruginosa	No ☐	Si ☐
<i>*Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para un mismo MPP en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes</i>		
Extensión radiológica	1-2 lóbulos ☐	>2 lóbulos ☐
Disnea (escala MRC)	Autocalculado	
Score autocalculado		

BSI

Edad	Autocalculado	
IMC	Autocalculado	
FEV1%	Autocalculado	
Colonización por P.aeruginosa	No ☐	Si ☐
<i>*Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para P.aeruginosa en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes</i>		
Colonización por otro microorganismo*	No ☐	Si ☐
<i>*Definido por tres o más cultivos consecutivos positivos para un mismo MPP en un periodo de al menos 6 meses en muestras separadas entre sí por al menos un mes</i>		
Disnea (escala MRC)	Autocalculado	
Extensión radiológica	<3 lóbulos ☐	≥3 lóbulos ☐
Exacerbaciones año previo	0-2 ☐	≥3 ☐
Exacerbaciones con ingreso 2 años previos	No ☐	Si ☐
Score autocalculado		

CAT

BHQ

Autocalculado

Analítica V2

Fecha (dd/mm/aaaa)

**Escribir unidades correspondientes*

	Unidades	Valor
Hemoglobina		
Hematocrito		
Plaquetas		
Leucocitos		
Neutrófilos		
Linfocitos		
Eosinófilos		
Neutrófilos (%)		
Linfocitos (%)		
Eosinófilos (%)		
Fibrinógeno		
PCR		
Albumina		
Proteinas		

Cultivo de esputo V2

Fecha (dd/mm/aaaa)				
Obtención	<i>Espontáneo</i>	<i>Inducido</i>		
Grado de Murray				
Cultivo bacteriano cualitativo				
	<i>*Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkolderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P.aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros</i>			
Cultivo bacteriano semicuantitativo	<i>Escasas*</i>	<i>Algunas*</i>	<i>Abundantes*</i>	<i>No procede</i>
	<i>*Colonias</i>			
Multirresistente				
	<i>Anotar la opción: No, No procede, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibiótico</i>			
Cultivo micobacterias				
	<i>Anotar la opción: Negativo, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M. abscessus, M.kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros</i>			
Cultivo micológico				
	<i>Anotar la opción: Negativo, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros</i>			

Su nombre:

Fecha actual:

¿Cómo es la EPOC que padece? Realización del COPD Assessment Test™ (CAT)

Este cuestionario les ayudará a usted y al profesional del cuidado de la salud a medir el impacto que la EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) está teniendo en su bienestar y su vida diaria. Sus respuestas y la puntuación de la prueba pueden ser utilizadas por usted y por el profesional del cuidado de la salud para ayudar a mejorar el manejo de la EPOC y obtener el máximo beneficio del tratamiento.

En cada uno de los siguientes enunciados, ponga una X en la casilla que mejor describa su estado actual. Asegúrese de seleccionar sólo una respuesta para cada pregunta.

Ejemplo: Estoy muy contento 0 ☒ 1 2 3 4 5 Estoy muy triste

			PUNTUACIÓN
Nunca toso	0 1 2 3 4 5	Siempre estoy tosiendo	
No tengo flema (mucosidad) en el pecho	0 1 2 3 4 5	Tengo el pecho completamente lleno de flema (mucosidad)	
No siento ninguna opresión en el pecho	0 1 2 3 4 5	Siento mucha opresión en el pecho	
Cuando subo una pendiente o un tramo de escaleras, no me falta el aire	0 1 2 3 4 5	Cuando subo una pendiente o un tramo de escaleras, me falta mucho el aire	
No me siento limitado para realizar actividades domésticas	0 1 2 3 4 5	Me siento muy limitado para realizar actividades domésticas	
Me siento seguro al salir de casa a pesar de la enfermedad pulmonar que padezco	0 1 2 3 4 5	No me siento nada seguro al salir de casa debido a la enfermedad pulmonar que padezco	
Duermo sin problemas	0 1 2 3 4 5	Tengo problemas para dormir debido a la enfermedad pulmonar que padezco	
Tengo mucha energía	0 1 2 3 4 5	No tengo ninguna energía	
			PUNTUACIÓN TOTAL

Cuestionario de salud sobre la bronquiectasia (BHQ)

Este cuestionario se ha diseñado para evaluar de qué modo afecta a su vida la bronquiectasia.

Lea atentamente cada pregunta y responda SELECCIONANDO la respuesta que mejor describa su caso. Es importante que conteste todas las preguntas con sinceridad.

INFORMACIÓN DEL PACIENTE:

Nombre

Fecha de nacimiento

Número de identificación del hospital.....

Fecha.....

1. En los últimos 14 días he estado cansado/a.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

2. En los últimos 14 días he hecho las cosas mucho más despacio que otras personas de mi edad.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

3. En los últimos 14 días he estado preocupado/a.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

4. En los últimos 14 días me he sentido sin flemas.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

5. En los últimos 14 días he sentido vergüenza a causa de las flemas (esputos) que tenía.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

6. En los últimos 14 días me ha faltado el aire.

1. Todo el tiempo
2. La mayor parte del tiempo
3. Buena parte del tiempo
4. Parte del tiempo
5. Alguna vez
6. Casi nunca
7. Nunca

7. En los últimos 14 días he tenido problemas para dormir a causa de las bronquiectasias.

1. Todas las noches
2. La mayoría de las noches
3. Bastantes noches
4. Algunas noches
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

8. En los últimos 14 días he tenido ataques de tos.

1. Todos los días
2. La mayoría de los días
3. Bastantes días
4. Algunos días
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

9. En los últimos 14 días las flemas (esputos) que expulsaba tenían sangre.

1. Todas las veces
2. La mayoría de las veces
3. Bastantes veces
4. Algunas veces
5. De vez en cuando
6. Muy pocas veces
7. Nunca

10. En el ÚLTIMO AÑO, he tomado tratamientos con antibióticos para infecciones respiratorias.

1. Más de cinco veces
2. Cinco veces
3. Cuatro veces
4. Tres veces
5. Dos veces
6. Una vez
7. En ninguna ocasión

Muchas gracias por haber respondido a este cuestionario.

© Copyright BHQ. King's College Hospital NHS Trust 2014. Dr SS Birring

Bronchi-Omics Project

VISITA EXACERBACIÓN (VE)

Número de identificador: (xx-xx)*

*Código de paciente: Código de centro (2 dígitos)+números consecutivos (2 dígitos)

Número de historia clínica

Fecha de la visita: (dd-mm-aaaa)

Tiempo desde la inclusión (días) Autocalculado

Aumento de la tos	Si	No			
Aumento del volumen del esputo	Si	No			
Cambios en la coloración del esputo	Si	No			
Escala de color de Murray	1-2	3-4	5-6	7-8	
* Ver escala de Murray cuantificada					
Aumento de la disnea habitual	Si	No			
Escala de Disnea mMRC	0	1	2	3	4
Sat O2 (AA) (%)					
Hemoptisis	Si	No			
Gravedad hemoptisis	Exp. hemoptoica	Hemoptisis moderada	Hemoptisis amenazante		
Tratamiento	Conservador	Embolización	Cirugía		
Diagnóstico radiológico de neumonía	Si	No			
Gravedad de la exacerbación	Moderada	Grave	Muy grave		
*Exacerbación moderada se definirá como aquella que requiere tratamiento ambulatorio. Exacerbación grave aquella que requiera hospitalización o terapia con antibióticos por vía intravenosa. Exacerbación muy grave para aquellos con admisión en la UCI o necesidad de ventilación mecánica.					
Ingreso hospitalario	Si	No			
Días de ingreso					
Corticoides sistémicos	Si	No			
Corticoides inhalados	Si	No			
Oxigenoterapia	Si	No			
Antibiótico	Si	No			
Nombre genérico antibiótico					
Duración del tratamiento antibiótico (días)					
Vía administración - Oral	Si	No			
Vía administración - Endovenoso	Si	No			
Vía administración - Nebulizado	Si	No			

Analítica

Fecha (mm/aaaa)

**Escribir unidades correspondientes*

	Unidades	Valor
Hemoglobina		
Hematocrito		
Plaquetas		
Leucocitos		
Neutrófilos		
Linfocitos		
Eosinófilos		
Neutrófilos (%)		
Linfocitos (%)		
Eosinófilos (%)		
Fibrinógeno		
PCR		
Creatinina		

Cultivo de esputo

Fecha (mm/aaaa)

Obtención *Espontáneo* ☐ *Inducido* ☐

Grado de Murray

Cultivo bacteriano cualitativo

**Anotar la opción: Negativo, Flora comensal, Achromobacter, Acinetobacter, Bordetella, Burkolderia, Enterobacter, E.coli, Haemophilus, Klebsiella, Moraxella, Morganella, Nocardia, Proteus, P.aeruginosa, P. aeruginosa tipo mucoide, S.aureus, Serratia, Stenotrophomonas, S. pneumoniae, Otros*

Cultivo bacteriano semicuantitativo *Escasas** ☐ *Algunas** ☐ *Abundantes** ☐

**Colonias*

Multirresistente

**Anotar la opción: No procede, No, MARSA, BLEE, carbapenemasa, >3 grupos antibióticos*

Cultivo micobacterias

**Anotar la opción: Negativo, M.tuberculosis, M.avium intracellulare, M.abcessus, M. kansasii, M.fortuitum, M.xenopi, M.chelonae, Otros*

Cultivo micológico

**Anotar la opción: Negativo, Aspergillus spp, candida spp, candida albicans, otros*

10.4. ANEXO IV. Protocolo de recogida de muestras

Estudio Bronchi-Omics

Protocolo de recogida de muestras

MUESTRAS A RECOGER

Sangre total: 25,5mL
• 1 tubo hemograma EDTA 3mL • 1 tubo coagulación Citrato 3mL • 1 tubo bioquímica gel separador 5mL • 1 tubo bioquímica gel separador 8,5mL • 1 tubos tempus 3mL • 1 tubo Paxgene DNA 3mL
Suero: 8,5mL
• 1 tubo gel separador ST II 8,5mL
Plasma: 6mL
• 2 tubos EDTA K3E/ K2E 3mL
Espito
• 2 contenedores estériles
Orina
• 1 contenedor estéril
* Tubo CPT (1) (Sólo en caso de aislamiento MNT)

**a realizar sólo en HUGTIP*

CODIFICACIÓN

8 dígitos (xx-xx-xx-xx)

centro (XX)-número de paciente (XX)-visita (XX)-muestra y número de tubo (XX)

Número de paciente: Asignar números consecutivos (01, 02, 03, ...) a cada paciente por orden de inclusión.

Número de visita: V0, V1, V2 y VE.

Codificación del centro

Hospital Germans Trias i Pujol	01
Hospital Vall d'Hebron	02
Hospital de Bellvitge	03
Hospital Parc Taulí	04
Hospital Josep Trueta	05
Hospital Virgen del Rocio	06
Hospital Mútua de Terrassa	07
Consorci Sanitari Terrassa	09
Hospital del Mar	10

Codificación de la muestra (acompañado del número de alícuota de cada muestra 1,2,3,4...)

Suero	S
Plasma -tubo EDTA	P
Espito	E
Microorganismo	M

SANGRE PERIFÉRICA

De cada participante se obtendrán 40 ml de sangre periférica por venopunción.

- a) LABORATORIO CENTRAL: Hemograma, Bioquímica y coagulación.** 18,5 ml: 1 tubo citrato 3 ml, 1 tubo EDTA 3 ml, 1 tubo Gel-separador 5 ml, 1 tubo Gel-separador 8,5 ml.
- V0:** Hemograma, Fibrinógeno, Bioquímica: Glucosa, proteínas, albúmina, creatinina, PCR, GGT, GPT/ALT, alfa-1-antitripsina, IgG, IgM, IgA, IgE total, IgG Aspergillus, IgE Aspergillus.
- V1, V2, V2, VE:** Hemograma, Fibrinógeno, Bioquímica: Glucosa, proteínas, albúmina, creatinina, PCR, GGT, GPT/ALT.
- b) SUERO-GEL SEPARADOR:** 1 tubo de suero con gel separador (SST II) de 8.5 ml.
- b.1. Tras la extracción Invertir 10 veces y reposar 30 minutos.
 - b.2. Transportarla al laboratorio para su procesamiento en un tiempo no superior a 45 minutos.
 - b.3. Centrifugar a 1600 g durante 15 minutos. La fracción superior o sobrenadante tras la centrifugación de aspecto claro y transparente, y de un color amarillento, corresponde al suero sanguíneo.
 - b.4. Durante el tiempo de centrifugación preparar de 4-6 crioviales para el almacenaje del suero, debidamente etiquetados e identificados.
 - b.5. Después de la centrifugación, aspirar cuidadosamente el sobrenadante (fase superior) con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril, a ser posible completamente en una sola aspiración, y alicuotar 0,5ml de este aspirado (que corresponde al suero sanguíneo) en cada uno de los crioviales debidamente etiquetados e identificados.
 - b.6. Seguidamente almacenar los crioviales en cajas de crio almacenaje y guardarlas en un congelador de -80°C antes de 3 horas tras la extracción.
 - b.7. Registrar el número de alícuotas obtenidas en la hoja de recogida de muestras y la ubicación de la muestra en la plantilla de localización de muestras (Anexo 1).

Todas las visitas

- c) PLASMA-EDTA:** 2 tubos de EDTA K3E/K2E ml (6 ml).
- c.1. Inmediatamente tras la extracción invertir suavemente el tubo para favorecer que la sangre se mezcle bien con el anticoagulante.
 - c.2. Transportarla al laboratorio para su procesamiento en un tiempo no superior a 45 minutos.
 - c.3. Centrifugar los tubos de sangre a 1500 g durante 15 minutos. Tras la centrifugación observaremos tres capas:
 - La fracción superior o sobrenadante, de aspecto claro y transparente, y de un color amarillo pálido que corresponde al plasma sanguíneo.
 - La segunda fracción o intermedia es fina y de color gris-blanco, y representa la fracción de leucocitos.
 - La tercera fracción o inferior es de un color rojo oscuro y corresponde a los eritrocitos o hematíes.
 - c.4. Durante el tiempo de centrifugación preparar 4-6 crioviales para el almacenaje del plasma, debidamente etiquetado e identificado.
 - c.5. Después de la centrifugación, aspirar cuidadosamente el sobrenadante (fase superior) con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril, a ser posible completamente en una sola aspiración, y alicuotar 0,5ml de este aspirado (que corresponde al plasma sanguíneo) en cada uno de los crioviales debidamente etiquetados e identificados.
 - c.6. Seguidamente almacenar los crioviales en cajas de crio almacenaje y guardarlas en un congelador de -80°C antes de 3 horas tras la extracción.
 - c.7. Registrar el número de alícuotas obtenidas en la hoja de recogida de muestras y la ubicación de la muestra en la plantilla de localización de muestras (Anexo 1).

ESPUTO

Se recogerá muestra de esputo en cada una de las visitas del estudio y en la primera exacerbación. **La muestra deberá separarse en dos partes** por lo que siempre que sea posible se le solicitará al paciente que traiga 2 contenedores estériles con muestra de esputo. En caso de no ser posible la muestra deberá separarse en dos partes trabajando en cabina de flujo laminar. Priorizar obtener el esputo el mismo día de la visita. Si se recoge en domicilio: guardar en la nevera hasta que acuda a la visita. Si el paciente no es capaz de producir esputo se puede inducir con suero salino hipertónico (Anexo 2).

- a) **LABORATORIO CENTRAL:** Seleccionar una porción del esputo para el laboratorio central de cada centro.
 - a.1. Cultivo bacteriano convencional semicuantitativo.
 - a.2. Cultivo para micobacterias y hongos.
 - a.3. Congelación de las cepas de los microorganismo potencialmente patógenos aislados en tubos de congelación a -80°C (Obtener al menos 2 tubos).
 - a.4. Registrar el número de alícuotas obtenidas en la hoja de recogida de muestras y la ubicación de la muestra en la plantilla de localización de muestras (Anexo 1).
 - a.5. Estudio de sensibilidad antibiótica mediante el método de microdilución o disco difusión, siguiendo la normativa del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).
- b) **MICROBIOMA/VIROMA:**
 - b.1. Trabajando en cabina de flujo laminar, depositar la muestra entera de esputo en una placa de petri.
 - b.2. Con unas pinzas finas estériles, separar y seleccionar porciones de esputo (de aprox. 200 µL) e introducir en crioviales. Siempre que sea posible al menos 5 alícuotas.
 - b.3. Almacenar los crioviales a -80°C antes de 3 horas tras la extracción.
 - b.4. Registrar el número de alícuotas obtenidas en la hoja de recogida de muestras y la ubicación de la muestra en la plantilla de localización de muestras (Anexo 1).

Todas las visitas

HOJA DE RECOGIDA DE SANGRE

Hospital: _____

Número de historia clínica: _____

Número de paciente: _____

Número de visita: _____

Fechas de obtención de la muestra: _____

SUERO	CÓDIGO
Alícuota 1	
Alícuota 2	
Alícuota 3	
Alícuota 4	
Alícuota 5	

*Ejemplo codificación: **0101V0S1**

PLASMA	CÓDIGO
Alícuota 1	
Alícuota 2	
Alícuota 3	
Alícuota 4	
Alícuota 5	

*Ejemplo codificación: **0101V0P1**

CODIFICACIÓN

8 dígitos (xx-xx-xx-xx)
 centro (XX)-número de paciente (XX)-visita (XX)-muestra y número de tubo (XX)
 Número de paciente: Asignar números consecutivos (01, 02, 03,...) a cada paciente por orden de inclusión.
 Número de visita: V0, V1, V2, V3 y VE.

HOJA DE RECOGIDA DE ESPUTO

Hospital: _____

Número de historia clínica: _____

Número de paciente: _____

Número de visita: _____

Fechas de obtención de la muestra: _____

Método de obtención: Espontáneo Inducido

*Separar esputo en dos partes una para congelar en alícuotas y otra para el laboratorio central para cultivo bacteriano, micobacterias y hongos. Registrar las alícuotas de esputo fresco y las alícuotas de las cepas aisladas.

ESPUTO FRESCO PARA CONGELAR	CÓDIGO
Alícuota 1	
Alícuota 2	
Alícuota 3	
Alícuota 4	
Alícuota 5	

*Ejemplo codificación: **0101V0E1**

CULTIVO BACTERIANO	CÓDIGO
Microorganismo aislado	
Alícuota 1	
Alícuota 2	

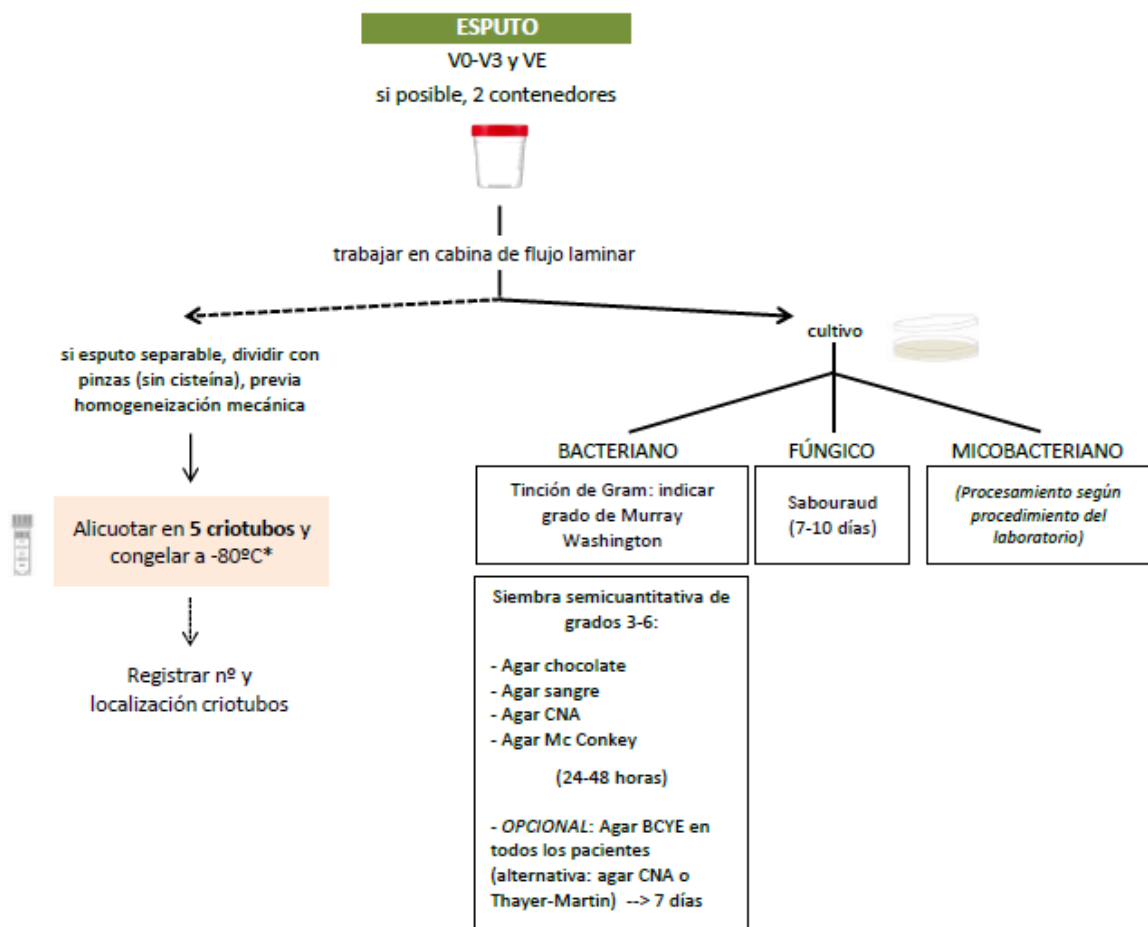
*Ejemplo codificación: **0101V0M1**

* Congelar cepas de *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*.

CODIFICACIÓN

8 dígitos (xx-xx-xx-xx)
 centro (XX)-número de paciente (XX)-visita (XX)-muestra y número de tubo (XX)
 Número de paciente: Asignar números consecutivos (01, 02, 03,...) a cada paciente por orden de inclusión.
 Número de visita: V0, V1, V2, V3 y VE.

10.5. ANEXO V. Diagrama de microbiología



Informar resultados de cultivo y antibiograma

Congelar 2 criotubos a -80°C cepas de:
Staphylococcus aureus, *Pseudomonas* spp o
Haemophilus spp**

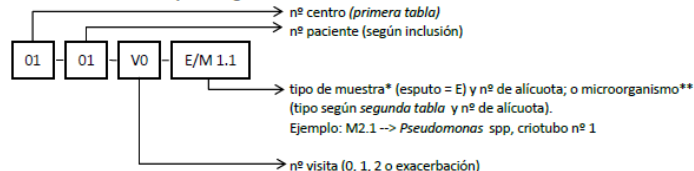
OPCIONAL (según disponibilidad del laboratorio, no estudios actuales previstos):
Streptococcus pneumoniae, *Nocardia*, hongos filamentosos y micobacterias ambientales

Registrar nº y localización criotubos

Hospital Germans Trias i Pujol	1
Hospital Vall d'Hebron	2
Hospital de Bellvitge	3
Hospital Parc Taulí	4
Hospital Josep Trueta	5
Hospital Virgen del Rocío	6
Hospital Mútua de Terrassa	7
Hospital Plató	8
Consorci Sanitari Terrassa	9
Hospital del Mar	10
Hospital de Sant Pau	11

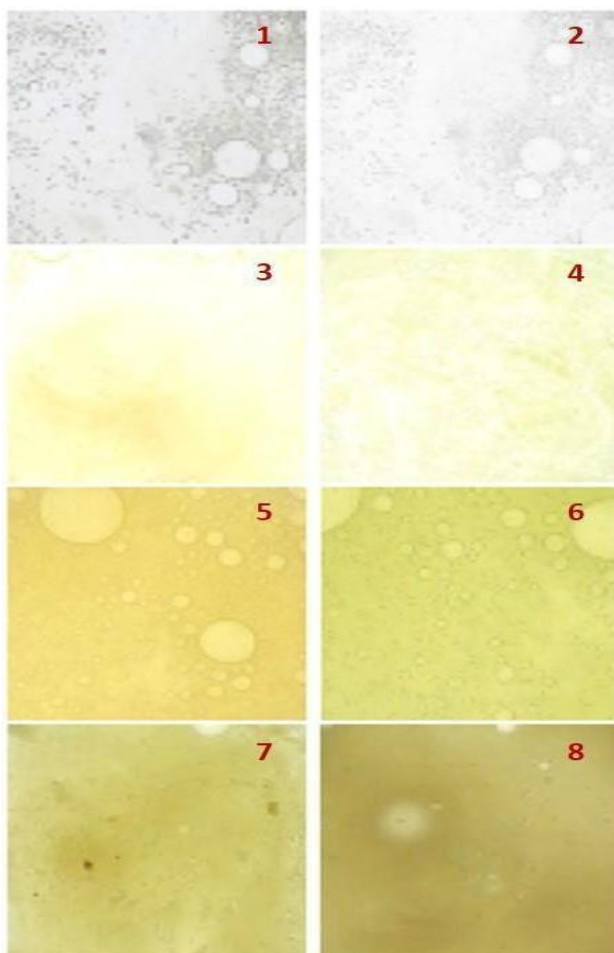
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Pseudomonas</i> spp	2
<i>Haemophilus</i> spp	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4
<i>Nocardia</i>	5
Hongos filamentosos	6
Micobacterias ambientales	7

Codificación de muestras* y microorganismos**



10.6. ANEXO VI. Escala De Murray cuantificada y codificación de etiquetas y muestras

Escala De Murray cuantificada



Codificación de las etiquetas

8 dígitos (xx-xx-xx-xx)

Centro (XX)-número de paciente (XX)-visita (XX)-muestra y número de tubo (XX)

Número de paciente: Asignar números consecutivos (01, 02, 03,...) a cada paciente por orden de inclusión.

Número de visita: V0, V1, V2 y VE.

Codificación de la muestra

Suero	S
Plasma	P
Espuito	E

10.7. ANEXO VII. Premios

- ✓ Premi ex aequo Segona Millor Comunicació en Medicina, en el congreso: XXXIX Diada Pneumològica de la SOCAP (Societat Catalana de Pneumologia), 2022, Barcelona: “Caracterització del microbioma en els pacients amb bronquièctasis i la seva relació amb la gravetat i la inflamació bronquial. Estudi Bronchi-Omics.”

- ✓ Premio Comunicación Oral de Oro en el congreso: 55º Congreso SEPAR (Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica), 2022, Pamplona: “Caracterización del microbioma en los pacientes con bronquiectasias y su relación con la gravedad y la inflamación bronquial. Estudio Bronchi-Omics.”

10.8. ANEXO VIII. Abstracts y Posters en congresos científicos nacionales e internacionales

10.8.1. Abstract 1. Microbiome characterization in patients with bronchiectasis and its association with severity and bronchial inflammation. Bronchi-Omics Project.

F Gonçalves Dos Santos Carvalho, T Zapata Comas, L Rodríguez Pons, S Quero Blanca, E Barreiro Portela, L Quin, A Navarro Rolon, J Pomares Amigó, C Montón Soler, M Vendrell Relat, G Muñoz Castro, E Polverino, A Llunell Casanoves, G Suarez Cuartin, C Calero Acuña, J Abad Capa, A Rosell Gratacós, A Marin Tapia.

Eur Respir J 2022; 60: Suppl. 66, 4594; DOI: 10.1183/13993003.congress-2022.4594



Microbiome characterization in patients with bronchiectasis and its association with severity and bronchial inflammation. Bronchi-Omics Project

F Gonçalves Dos Santos Carvalho, T Zapata Comas, L Rodríguez Pons, S Quero Blanca, E Barreiro Portela, L Quin, A Navarro Rolon, J Pomares Amigó, C Montón Soler, M Vendrell Relat, G Muñoz Castro, E Polverino, A Llunell Casanoves, G Suarez Cuatrin, C Calero Acuña, J Abad Capa, A Rosell Gratacós, A Marin Tapia
European Respiratory Journal 2022; 60: 4594; DOI: 10.1183/13993003.congress-2022.4594

Article

Info & Metrics

Abstract

Aims: Characterize the microbiome (MB) in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis (BE) and its correlation with relevant clinical variables, bronchial and systemic inflammation.

Methods: Observational, prospective, multicentre study involving 9 university hospitals. Clinical data, sputum and blood samples have been collected in stability. Bacterial and fungal MB has been determined by amplification and sequencing of 16S rRNA and Internal Transcribed Spacer (ITS). Bronchial inflammatory markers have been analysed by ELISA. Systemic inflammation was measured by C-reactive protein (CPR).

Results: The analysis of the basal MB has detected 14 phyla dominated by Firmicutes and Proteobacteria, and 149 genera, dominated by *Streptococcus*, *Haemophilus* and *Pseudomonas*. Diversity loss is significantly associated with BE severity ($p=0.002$), airflow obstruction ($p<0.001$), severe exacerbations ($p=0.022$), and sputum production ($p=0.0003$). However, no significant differences have been observed in this microbial diversity depending on the various BE aetiologies. Regarding the presence of dominant genera, the dominance of *Haemophilus* genera is associated with an increase in inflammatory interleukins in sputum, as well as an increase in systemic inflammation measured by CPR, which, however, is not related to variables of severity of the disease. Though, the dominance of the *Pseudomonas* genera is associated with increased levels of neutrophil elastase, and greater severity of BE.

Conclusions: The characteristics of the respiratory MB in BE are significantly correlated with clinical markers of disease severity and with bronchial and systemic inflammation.

Microbiome/Microbiota

Bronchiectasis

Footnotes

Cite this article as *Eur Respir J* 2022; 60: Suppl. 66, 4594.

This article was presented at the 2022 ERS International Congress, in session "4".

This is an ERS International Congress abstract. No full-text version is available. Further material to accompany this abstract may be available at www.ers-education.org (ERS member access only).

Copyright ©the authors 2022

Vol 60 Issue suppl 66 Table of Contents

Table of Contents
Index by author

Email Request Permissions
Citation Tools Share

Jump To

Article
Info & Metrics

The new ERS *handbook*

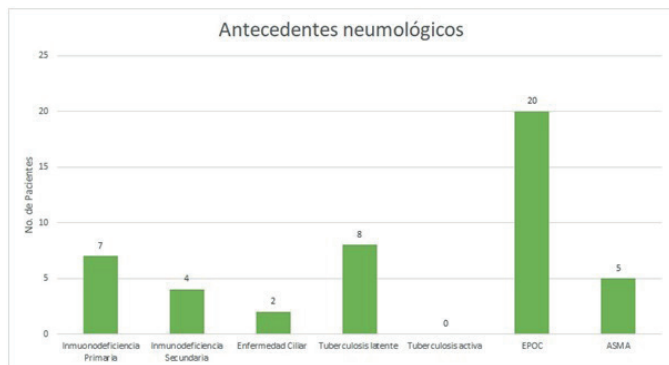
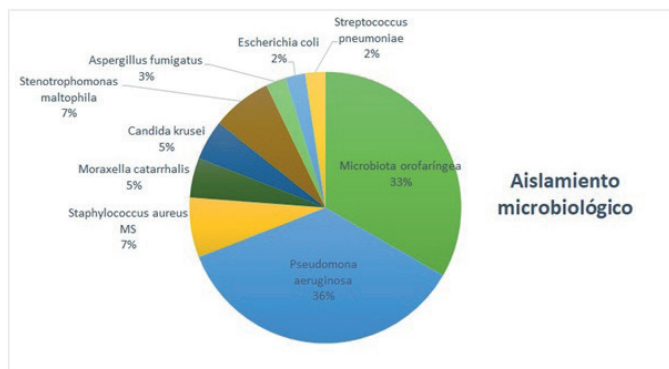
Self-Assessment in
Respiratory Medicine
3rd edition
ORDER YOUR COPY AT
ERSBOOKSHOP.COM

ERS | RESPIRATORY
channel

10.8.2. Abstract 2. Caracterización del microbioma en los pacientes con bronquiectasias y su relación con la gravedad y la inflamación bronquial. Estudio Bronchi-Omics.

F. Gonçalves Carvalho, A. Zapata Comas, L. Rodríguez Pons, S. Quero Blanca, E. Barreiro Portela, L. Quin, A. Navarro Rolon, J. Pomares Amigó, C. Montón Soler, M. Vendrell Relat, G. Muñoz Castro, E. Polverino, A. Llunell Casanoves, G. Suárez Cuartin, C. Calero Acuña, J. Abad Capa, A. Rosell Gratacós y A. Marín Tapia

Archivos de Bronconeumología; Vol. 58. Issue SC1. 55 - Congreso de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR)



complejo, demostrada previamente la asociación entre la infección por *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) y un peor pronóstico.

Material y métodos: Estudio descriptivo, transversal de pacientes ingresados con diagnóstico principal de agudización de bronquiectasias en los últimos 5 años. Se recogieron la edad, el sexo, los antecedentes personales de interés (inmunodeficiencia primaria, inmunodeficiencia secundaria, tuberculosis latente, tuberculosis activa, EPOC y asma), el aislamiento microbológico en el cultivo de esputo en la hospitalización y previo al ingreso. Base de datos obtenida de documentación clínica.

Resultados: Se incluyeron 44 sujetos, 29 varones y 15 mujeres, con una edad media de 63 años. Respecto a sus antecedentes neumológicos, la mayoría padecían de EPOC (20), seguido de tuberculosis latente (8), inmunodeficiencia primaria (7), asma (5), inmunodeficiencia secundaria (4) y enfermedad ciliar (2). Teniendo en cuenta que algunos pacientes tienen más de un antecedente. Se aisló en el cultivo de esputo de hospitalización en mayor proporción microbiota orofaríngea (33%) y *P. aeruginosa* (36%). En el último cultivo de esputo previo al ingreso también se aisló en mayor proporción *P. aeruginosa* en 46,67% seguido de microbiota orofaríngea en 56%; otros aislamientos representados en menor proporción.

Conclusiones: Los datos apoyan que la *P. aeruginosa* es uno de los gérmenes más frecuentes tanto en la infección bronquial crónica como en las agudizaciones, se observó que menos de la mitad (26,67%) corresponde a *Pseudomonas* multiresistente. Sin embargo, cabe destacar que siendo el *Haemophilus influenzae* otra de las bacterias más comunes, no se ha detectado en ninguno de los cultivos de esputo de esta cohorte. Aunque es una enfermedad más prevalente en mujeres, la mayor composición de sujetos del estudio son varones. Las enfermedades pulmonares que coexisten con mayor frecuencia son EPOC, tuberculosis latente e inmunodeficiencias primarias, rasgos característicos importantes al momento de realizar un abordaje terapéutico personalizado.

347. CARACTERIZACIÓN DEL MICROBIOMA EN LOS PACIENTES CON BRONQUIECTASIAS Y SU RELACIÓN CON LA GRAVEDAD Y LA INFLAMACIÓN BRONQUIAL. ESTUDIO BRONCHI-OMICS

F. Gonçalves Carvalho¹, A. Zapata Comas¹, L. Rodríguez Pons¹, S. Quero Blanca², E. Barreiro Portela³, L. Quin⁴, A. Navarro Rolon⁵, J. Pomares Amigó⁶, C. Montón Soler⁷, M. Vendrell Relat⁸, G. Muñoz Castro⁹, E. Polverino¹⁰, A. Lluell Casanoves¹¹, G. Suárez Cuartin¹², C. Calero Acuña¹³, J. Abad Capa¹⁴, A. Rosell Gratacós¹⁵ y A. Marín Tapia¹⁵

¹Dirección Clínica del Área del Tórax, Servicio de Neumología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, España. ²Infectious Diseases Unit, Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Badalona, España. ³Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona, España. ⁴Pulmonology Department-Muscle Wasting and Cachexia in Chronic Respiratory Diseases and Lung Cancer Research Group, IMIM-Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Health and Experimental Sciences Department (CEXS), Universitat Pompeu Fabra (UPF), Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB), Barcelona, España. ⁵Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona, España. ⁶Pulmonology Department-Muscle Wasting and Cachexia in Chronic Respiratory Diseases and Lung Cancer Research Group, IMIM-Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Health and Experimental Sciences Department (CEXS), Universitat Pompeu Fabra (UPF), Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB), Barcelona, España. ⁷Servicio de Neumología, Hospital Universitari Mútua Terrassa, Terrassa, España. ⁸Servicio de Neumología, Hospital Universitari Parc Taulí, Sabadell, España. ⁹Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona, España. ¹⁰Servicio de Neumología, Hospital Universitari Parc Taulí, Sabadell, España. ¹¹Servicio de Neumología, Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona, España. ¹²Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona, España. ¹³Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Institut d'Investigació Biomèdica de Girona (IdIBGi) Department of physical Therapy EUSES, Girona, España. ¹⁴Servicio de Neumología, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España. ¹⁵Servicio de Neumología, Consorci Sanitari de Terrassa, Terrassa, España. ¹⁶Servicio de Neumología, Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España. ¹⁷Servicio de Neumología, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España. ¹⁸Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Sevilla, España. ¹⁹Dirección Clínica del Área del Tórax, Servicio de Neumología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, España. ²⁰Dirección Clínica del Área del Tórax, Servicio de Neumología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, España. ²¹Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona, España.

Introducción: La infección es un componente clave en la fisiopatología de las bronquiectasias. El estudio del microbioma ofrece un mayor grado de sensibilidad y resolución que los métodos de cultivo tradicionales. Nuestro objetivo es caracterizar el microbioma en pacientes con bronquiectasias no fibrosis quística (BE) y su relación con variables clínicas relevantes, inflamación y remodelado bronquial.

Material y métodos: Estudio observacional, prospectivo y multicéntrico con 9 hospitales involucrados. Se han recogido datos clínicos y recolectado muestras de sangre y esputo en estabilidad. Se ha determinado el microbioma bacteriano y fúngico mediante amplificación y secuenciación de ARNr 16S e ITS. Los marcadores bronquiales inflamatorios y de remodelado se han analizado mediante ELISA.

Resultados: Se han incluido 165 pacientes (edad media 63 años, 61% mujeres), de los cuales 153 aportaron muestra de esputo de calidad para estudio microbiológico. La etiología de las BE es en el 39% post infecciosa, 31% idiopática, 9% discinesia ciliar, 9% asma y EPOC y 12% otras etiologías. La gravedad de las BE es leve-moderada en el 75% de los casos según los índices E-FACED y BSI. El 25% presenta alta fre-

cuencia de exacerbaciones (≥ 3 exacerbaciones/año) y el 13% ha requerido un ingreso hospitalario el año previo. El análisis del microbioma basal ha detectado 14 filos dominados por firmicutes y proteobacterias, y 149 géneros, dominados por *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Pseudomonas*. La pérdida de diversidad se asocia significativamente a la gravedad de las BE ($p = 0,002$), a la obstrucción del flujo aéreo ($p < 0,001$), a las exacerbaciones graves ($p = 0,022$) y a la producción de esputo ($p = 0,0003$), con una presencia dominante del género *Pseudomonas* asociada a la gravedad, la obstrucción y la producción de esputo. Se observa un aumento significativo de marcadores de inflamación y de remodelado asociados a la gravedad y a la producción de esputo.

Conclusiones: Las características del microbioma respiratoria de los pacientes con BQ se correlacionan significativamente con marcadores clínicos de gravedad de la enfermedad, más inflamación bronquial y remodelado de la vía aérea.

224. CEFTAZIDIMA INHALADA EN PACIENTES CON INFECCIÓN BRONQUIAL CRÓNICA NO DEBIDA A PSEUDOMONAS AERUGINOSA EN BRONQUIECTASIAS NO FIBROSIS QUÍSTICA

R. Soto Feijoo¹, V. Riveiro Blanco¹, A. Casal Mourinho¹, P. Mascareñas Pazos¹, L. Fernández González-Cuevas¹, T. Lourido Cebreiro¹, C. Rodríguez García¹, R. Abelleira París¹, L. Ferreiro Fernández^{1,2}, N. Rodríguez Núñez¹, A. Lama López¹, J.M. Álvarez Dobaño^{1,2,3} y L. Valdés Cuadrado^{1,2,3}

¹Servicio de Neumología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España. ²Servicio de Neumología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela; Grupo Interdisciplinar de Investigación en Neumología, Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago (IDIS), Santiago de Compostela, España. ³Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

Introducción: La colistina inhalada en pacientes con bronquiectasias (BQ) no asociadas a fibrosis quística e infección bronquial crónica (IBC) por *Pseudomonas aeruginosa* ha demostrado ser eficaz. Sin embargo, existe menos evidencia sobre el uso de otros antibióticos. El objetivo del estudio es conocer la eficacia de la ceftazidima inhalada en IBC por un microorganismo potencialmente patógeno no *Pseudomonas aeruginosa*.

Material y métodos: Estudio cuasi experimental con controles pre/post intervención no concurrentes en el tiempo. La recogida de datos se hizo de forma retrospectiva (12 meses previos al inicio del tratamiento como los de los 12 meses posteriores a su comienzo). Se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon para el contraste de hipótesis. El análisis se realizó con SPSS v22.

Resultados: Se reclutaron 21 pacientes (57,1% mujeres; edad media de $65,57 \pm 17,1$ años) tratados con ceftazidima 500 mg nebulizada cada 12 horas. El 47,6% presentaban BQ posinfecciosas, seguido de las idiopáticas en el 33,3%. Todos presentaban IBC (*Escherichia coli* y *Proteus*: 28,6%, respectivamente; *Haemophilus influenzae*: 14,3%; *Achromobacter xylosoxidans*: 9,5%; *Staphylococcus aureus*, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus pneumoniae* y *Hafnia alvei*: 4,8%, respectivamente). Se observó una disminución significativa de las exacerbaciones medias de $4,29 \pm 2,12$ a $1,24 \pm 1,84$ comparando 12 meses pre y post-tratamiento ($p = 0,001$). También disminuyeron los ingresos medios de $1,24 \pm 1,64$ a $0,52 \pm 0,98$ ($p = 0,008$) y los días de ingresos ($p = 0,040$). No se observaron diferencias significativas en la disnea ($p = 0,317$) ni función pulmonar (FEV1 (%): $p = 0,727$; FVC (%): $p = 0,382$). La duración media del tratamiento fueron $8,05 \pm 3,52$ meses (con la excepción de 2 pacientes, los cuales continuaron durante 2 y 6 años respectivamente). Se consiguió la erradicación bacteriana en el 90% de los casos, aunque en un 50% volvió a reaparecer el microorganismo tratado tras la suspensión del antibiótico (el 22,2% volvió a presentar una IBC). El

23,5% de los pacientes presentaron efectos secundarios (5,9% por tos y 17,6% por hiperreactividad bronquial).

Conclusiones: La ceftazidima inhalada reduce las exacerbaciones, ingresos y días de estancia hospitalaria en los pacientes con BQ e IBC diferente a *Pseudomonas aeruginosa*. Durante el tratamiento se consigue la erradicación bacteriana en la mayoría de pacientes, sin grandes efectos secundarios. Se precisan más estudios con mayor tamaño muestral para confirmar estos datos, así como un seguimiento más prolongado.

369. COMPARACIÓN DE LOS INGRESOS POR INFECCIÓN RESPIRATORIA EN PERSONAS CON BRONQUIECTASIAS ENTRE EL AÑO 2019 (PRE-PANDEMIA) Y 2020 (PANDEMIA)

X. Lin¹, A. García Esteban¹, G.S. Loscertales Vacas¹, M. Martín Lana¹, E. Borobia Irache¹, A.C. Aguelo Velilla¹ y B. Herrero Cortina^{1,2,3}

¹Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, España. ²IIS Aragón, Zaragoza, España. ³Universidad San Jorge, Zaragoza, España.

Introducción: La pandemia por SARS-CoV-2 ha impulsado la implantación de medidas sanitarias para prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas. Estas medidas protegen, no solo del SARS-CoV-2, sino también de la transmisión de otras infecciones respiratorias, ¿cómo han afectado en las agudizaciones de los pacientes con bronquiectasias?

Objetivos: Analizar si existen diferencias en las características sociodemográficas y clínicas de los ingresos por una infección respiratoria en pacientes con bronquiectasias entre el año 2019 (pre-pandémico) y el año 2020 (pandémico) en un hospital terciario.

Material y métodos: Estudio observacional, analítico, de carácter retrospectivo que incluyó todos los ingresos por infección respiratoria en el Hospital Clínico Lozano Blesa de Zaragoza de personas con diagnóstico principal de bronquiectasias entre enero del 2019 y diciembre del 2020. Se excluyeron los ingresos con positividad por SARS-CoV-2. Se compararon datos sociodemográficos (edad, sexo, índice de masa corporal), clínicos (escala de severidad, infección crónica, exacerbaciones último año y hospitalización previas) y las características del ingreso entre el año 2019 (año prepandémico) y 2020 (año pandémico) mediante una prueba t-Student para muestras independientes o prueba U de Mann Whitney o chi-cuadrado.

Resultados: En el año 2019, 35 pacientes fueron hospitalizados con una media de edad de 77 años (11), siendo el 60% clasificados como severos acorde a la Bronchiectasis Severity Index (BSI). Tres de estos

Tabla 1. Características sociodemográficas y clínicas de los ingresos registrados durante el año 2019 (año pre-pandémico) y 2020 (año pandémico)

	2019	2020	p valor
Pacientes, n	35	25	-
Ingresos, n	39	33	-
Edad, años, media (DS)	77 (11)	74 (12)	0,4
Mujeres, n (%)	21 (60)	15 (55)	0,6
IMC, media (DS)	27,5 (4,5)	28,8 (6,5)	0,4
BSI, mediana [P ₂₅ -P ₇₅]	12,5 [7,7 - 16,0]	11,5 [10,0 - 15,7]	0,8
Severos n (%)	21 (60)	19 (76)	0,5
Infección crónica, n (%)	14 (40)	10 (40)	0,6
<i>Pseudomona aeruginosa</i> , n (%)	11(31)	9 (36)	0,8
Exacerbaciones último año, mediana [P ₂₅ -P ₇₅]	2 [1 - 3]	1 [1 - 4]	0,7
Hospitalización previa, n (%)	19 (54)	16 (64)	0,6
Durante el ingreso			
Test de infección vírica, n (%)	11 (28)	19 (57)	0,02
Positividad infección vírica, n (%)	2 (5)	1 (3)	0,5
Test de infección bacteriana, n (%)	28 (72)	24 (73)	0,6
Positividad infección bacteriana, n (%)	20 (51)	14 (42)	0,5
Días de ingreso, mediana [P ₂₅ -P ₇₅]	8,0 [5,0 - 11,0]	9,0 [5,5 - 13,5]	0,2

IMC, índice de masa corporal; BSI, bronchiectasis severity index; DS, desviación estándar; P₂₅, percentil 25; P₇₅ percentil 75

10.8.3. Poster. Microbiome characterization in patients with bronchiectasis and its association with severity and bronchial inflammation. Bronchi-Omics Project.

F Gonçalves Dos Santos Carvalho, T Zapata Comas, L Rodríguez Pons, S Quero Blanca, E Barreiro Portela, L Quin, A Navarro Rolon, J Pomares Amigó, C Montón Soler, M Vendrell Relat, G Muñoz Castro, E Polverino, A Llunell Casanoves, G Suarez Cuartin, C Calero Acuña, J Abad Capa, A Rosell Gratacós, A Marin Tapia.

Presentación de poster: *5th World Bronchiectasis & NTM Conference (Prague, 2022)*

Microbiome characterization in patients with bronchiectasis and its association with severity and bronchial inflammation. Bronchi-Omics Project

PRAGUE
30 JUNE – 2 JULY 2022



Filipe Gonçalves Carvalho¹, Toni Zapata Comas¹, Laura Rodríguez Pons¹, Sara Quero Blanca², Esther Barreiro Portela³, Liyun Quin⁴, Annie Navarro Rolon⁴, Javier Pomares Amigó⁵, Concepción Montón Soler⁶, Montserrat Vendrell Relat⁶, Gerard Muñoz Castro⁶, Eva Polverino⁷, Antonia Lluell Casanoves⁸, Guillermo Suarez Cuartin⁹, Carmen Calero Acuña¹⁰, Jorge Abad Capa¹, Antoni Rosell Gratacós¹, Alicia Marin Tapia¹

1. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona. 2. Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Badalona. 3. Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Barcelona. 4. Hospital Universitari Mútua Terrassa, Terrassa. 5. Hospital Universitari Parc Taulí, Sabadell. 6. Hospital Universitari Dr. Josep Trueta, Girona. 7. Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona. 8. Consorci Sanitari de Terrassa, Terrassa. 9. Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet De Llobregat. 10. Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.



Germania Trias i Pujol
HOSPITAL

www.world-bronchiectasis-conference.org

AIM

Our objective is to characterize the microbiome in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis (NCFB) and its correlation with relevant clinical variables, and bronchial and systemic inflammation.

METHODS

Observational, prospective, and multicentre study involving 9 university hospitals. Clinical data, sputum and blood samples have been collected in stability. The bacterial microbiome has been determined by amplification and sequencing of 16S rRNA. Bronchial inflammatory markers have been analysed by ELISA. Systemic inflammation was measured by C-reactive protein (CRP).

RESULTS

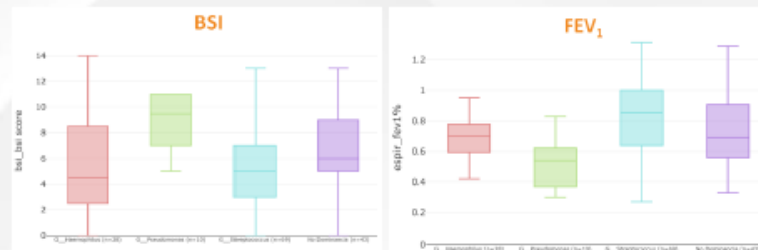
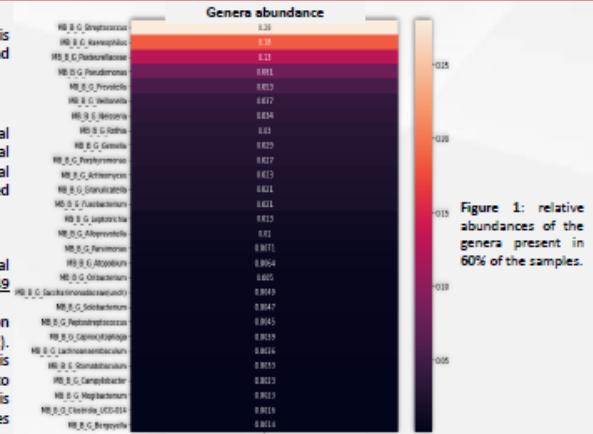
A total of 165 patients (Table 1 and 2) were included. The analysis of the basal microbiome has detected 14 phyla dominated by Firmicutes and Proteobacteria, and 149 genera, dominated by *Streptococcus*, *Haemophilus* and *Pseudomonas* (Figure 1). Diversity loss is significantly associated with BE severity ($p=0.002$), airflow obstruction ($p<0.001$), severe exacerbations ($p=0.022$), and sputum production ($p=0.0003$) (Figure 2). Regarding the presence of dominant genera, the dominance of *Haemophilus* genera is associated with an increase in inflammatory markers, which, however, is not related to variables of severity of the disease. Though, the dominance of the *Pseudomonas* genera is associated with increased levels of neutrophil elastase and greater severity of BE (Figures 3-4).

Table 1

Baseline characteristics of study population	
Demographics	
Total number of patients	165
Age, years	63 (53 - 74)
Sex female	103 (61%)
Functional status	
FEV ₁ /FVC ratio	0.7 (0.6 - 0.8)
FEV ₁ /FVC <70%	81 (49.1%)
Severity disease	
BSI score risk n (%)	
Mild	69 (38%)
Moderate	62 (37%)
Severe	40 (24%)
Exacerbations	
High frequency of exacerbations (≥3 exacerbations/year)	42 (25%)
Severe exacerbation requiring hospitalization in the previous year	21 (13%)

Table 2

Etiology	
Idiopathic	51 (31%)
Post-infective	48 (28%)
Post-Tuberculosis	17 (10.3%)
Dyskinesia	14 (8.5%)
Asthma	8 (4.9%)
CCPD	6 (3.6%)
Inflammatory Pneumonitis	6 (3.6%)
Immunodeficiency	4 (2.4%)
Connective Tissue Disease	3 (1.8%)
Inflammatory Bowel Disease	3 (1.8%)
Others	6 (3.6%)



CONCLUSIONS

The characteristics of the respiratory microbiome of patients with NCFB are significantly correlated with clinical markers of disease severity and with bronchial and systemic inflammation.

10.9. ANEXO IX. Otras publicaciones relevantes

10.9.1. Publicación 1.

Qin L, Gonçalves-Carvalho F, Xia Y, Zha J, Admetlló M, Maiques JM, Esteban-Cucó S, Duran X, Marín A, Barreiro E. Profile of Clinical and Analytical Parameters in Bronchiectasis Patients during the COVID-19 Pandemic: A One-Year Follow-Up Pilot Study. J Clin Med. 2022 Mar 21;11(6):1727.

doi: 10.3390/jcm11061727.

PMID: 35330051; PMCID: PMC8954272.

Article

Profile of Clinical and Analytical Parameters in Bronchiectasis Patients during the COVID-19 Pandemic: A One-Year Follow-Up Pilot Study

Liyun Qin ^{1,2}, Filipe Gonçalves-Carvalho ^{3,4}, Yingchen Xia ^{1,5}, Jianhua Zha ^{1,5}, Mireia Admetlló ^{1,4} , José María Maiques ⁶, Sandra Esteban-Cucó ⁷, Xavier Duran ⁸, Alicia Marín ^{3,4} , and Esther Barreiro ^{1,4,9,*}

- ¹ Muscle Wasting and Cachexia in Chronic Respiratory Diseases and Lung Cancer Research Group, Pulmonology Department, IMIM-Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB), 08003 Barcelona, Spain; liyun.qin@e-campus.uab.cat (L.Q.); 361439919013@email.ncu.edu.cn (Y.X.); 361439918044@email.ncu.edu.cn (J.Z.); madmetllo@parcdesalutmar.cat (M.A.)
- ² Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, 08035 Barcelona, Spain
- ³ Pulmonology Department, Hospital Germans Trias i Pujol, 08916 Badalona, Spain; filipegscarvalho90@gmail.com (F.G.-C.); amarin.germanstrias@gencat.cat (A.M.)
- ⁴ Centro de Investigación en Red de Enfermedades Respiratoria (CIBERES), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), 08003 Barcelona, Spain
- ⁵ Department of Thoracic Surgery, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330209, China
- ⁶ Radiology Department, Imatge Mèdica Intercentres-Parc de Salut Mar, Hospital del Mar, 08003 Barcelona, Spain; jmaiques@psmar.cat
- ⁷ Laboratori de Referència de Catalunya, Clinical Microbiology and Parasitology Department, 08820 Barcelona, Spain; sestebanc@lrc.cat
- ⁸ Scientific and Technical Department, Hospital del Mar-IMIM, 08003 Barcelona, Spain; xduran@imim.es
- ⁹ Department of Medicine and Life Sciences (MELIS), Universitat Pompeu Fabra (UPF), 08002 Barcelona, Spain
- * Correspondence: ebarreiro@imim.es; Tel.: +34-93-316-0385; Fax: +34-93-316-0410



Citation: Qin, L.;

Gonçalves-Carvalho, F.; Xia, Y.; Zha, J.; Admetlló, M.; Maiques, J.M.; Esteban-Cucó, S.; Duran, X.; Marín, A.; Barreiro, E. Profile of Clinical and Analytical Parameters in

Bronchiectasis Patients during the COVID-19 Pandemic: A One-Year Follow-Up Pilot Study. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 1727. <https://doi.org/10.3390/jcm11061727>

Academic Editors: Sukhwinder Singh Sohal, Paul King and Lucy Morgan

Received: 17 January 2022

Accepted: 16 March 2022

Published: 21 March 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Whether the COVID-19 pandemic may have modified the clinical planning and course in bronchiectasis patients remains to be fully elucidated. We hypothesized that the COVID-19 pandemic may have influenced the management and clinical outcomes of bronchiectasis patients who were followed up for 12 months. In bronchiectasis patients (n = 30, 23 females, 66 years), lung function testing, disease severity [FEV₁, age, colonization, radiological extension, dyspnea (FACED), exacerbation (EFACED)] and dyspnea scores, exacerbation numbers and hospitalizations, body composition, sputum microbiology, and blood analytical biomarkers were determined at baseline and after a one-year follow-up. Compared to baseline (n = 27, three patients dropped out), in bronchiectasis patients, a significant increase in FACED and EFACED scores, number of exacerbations, and erythrocyte sedimentation rate (ESR) was observed, while FEV₁, ceruloplasmin, IgE, IgG, IgG aspergillus, IgM, and IgA significantly decreased. Patients presenting colonization by *Pseudomonas aeruginosa* (PA) remained unchanged (27%) during follow-up. In bronchiectasis patients, FEV₁ declined only after a one-year follow-up along with increased exacerbation numbers and disease severity scores, but not hospitalizations. However, a significant decrease in acute phase-reactants and immunoglobulins was observed at the one-year follow-up compared to baseline. Despite the relatively small cohort, the reported findings suggest that lung function impairment may not rely entirely on the patients' inflammatory status.

Keywords: non-cystic fibrosis bronchiectasis; systemic inflammation and immunoglobulins; nutritional status; lung function; severity scores; immunoglobulins; one-year follow-up

1. Introduction

Bronchiectasis is a chronic respiratory condition characterized by abnormalities in the airways of the patients that lead to increased sputum production, cough, chest pain, and eventually dyspnea. The etiology varies widely from previous lung infections to genetic diseases that are diagnosed early in childhood [1–3]. Moreover, other chronic respiratory diseases, namely chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma, may be associated with bronchiectasis [1,4–7]. The prevalence of bronchiectasis is progressively increasing as the diagnostic tools become more widely available in different clinical settings [1,8–10]. Patients with bronchiectasis are prone to suffer acute exacerbations, which in many cases may require hospitalizations [11–13].

In patients with chronic airway diseases, follow-up studies are of interest to monitor the potential loss of respiratory function and control of symptoms. An eight-year follow-up investigation [14] concluded that female patients were predominant, had persistent symptoms, and a severe loss of lung function was detected. The same investigators also demonstrated [15] that patients with bronchiectasis were colonized by the same bacterium over a five-year follow-up period, and that phenotypic features were associated with different pathogens. A more recent investigation [16] demonstrated that multimorbidity was common in patients with bronchiectasis and negatively influenced survival. Furthermore, the line was also put forward that specific disease scores helped predict mortality and outcomes during the five-year follow-up period in the same study [16]. Whether similar findings can be observed in follow-up studies of shorter duration remains to be studied.

The new human pathogen known as the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) was identified for the first time in the province of Wuhan (China) in December 2019 [17,18]. SARS-CoV-2 alters several organs, among which the lungs are the most commonly and severely affected. The coronavirus disease (COVID)-19 has caused an unprecedented pandemic worldwide that started in 2020 [19]. Lifestyle and personal habits have been modified as a result of the widespread pandemic, with strong implications in the management of patients, particularly of those with chronic respiratory diseases. Whether the COVID-19 pandemic has affected the habitual management planning and monitoring of the outpatient clinics in bronchiectasis deserves to be investigated.

On the basis of this, we hypothesized that the COVID-19 pandemic may have influenced the management planning and clinical outcomes of patients with bronchiectasis who were followed up for at least 12 consecutive months in a specialized outpatient clinic. Thus, our objectives were to assess during the COVID-19 pandemic (the year 2020) in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis that were consecutively recruited and followed up for at least 12 months the following clinical outcomes: (1) airway obstruction, disease severity scores, the number of acute exacerbations, and COVID-19 episodes, if any (2) nutritional and inflammatory parameters, and (3) systemic immunoglobulins. All the measurements were conducted at baseline and at the end of the study period in the year 2021.

2. Methods

This was a prospective, follow-up investigation in which 30 patients (7 males) were recruited consecutively from the Multidisciplinary Bronchiectasis Unit of the Respiratory Department at Hospital del Mar (Barcelona, Spain) from 9 July 2019 to 10 March 2020. Twenty-five patients were recruited in the months of July, September, October, November, and December 2019, while five patients were recruited in March 2020. The 25 patients recruited in 2019 were followed up in 2020 up until April 2021 with several month-delays due to the pandemic period. In the first half of 2020, outpatient consultations were cancelled in order to assist all the hospitalized COVID-19 patients, especially those requiring ventilatory support (either non-invasive or invasive). Patients recruited in March 2020 were followed up until May 2021. Thus, all the participants were followed-up during the year 2020 (a period at which the pandemic was more pervasive in our societies). Two patients had concomitant COVID-19 during the follow-up period: in December of the year 2020 and in January of 2021. However, they did not experience any acute bronchiectasis exacerbation as a result of COVID-19.

All the patients participated in three consultations: baseline, 6-month interim, and 12-month visit. Twenty-seven patients (3 patients dropped out, two from 2019 and one from 2020 recruitment periods) were followed up for one year (range from 12 to 18 months) last follow-up visit completed on 4 May 2021). Inclusion criteria were as follows: adults (18 years and over), diagnosis of non-cystic fibrosis (CF) bronchiectasis by high-resolution computerized tomography (HRCT) [1,20], and no previous exacerbations of the disease at least 4 weeks prior to study entry. Exclusion criteria for all the patients included other chronic cardiovascular or respiratory disorders, acute and chronic respiratory failure, chronic metabolic diseases, signs of severe bronchial inflammation and/or infection, current or recent invasive mechanical ventilation, long-term oxygen therapy, and poor collaboration. The majority of the patients recruited for the purpose of the investigation had a mild-to-moderate disease severity according to lung function impairment [21], disease severity scores, and radiological extension [1,22–25]. All the patients were stable: no acute exacerbations in the last four weeks prior to study entry. Approval was obtained from the institutional Ethics Committee on Human Investigation (Hospital del Mar-IMIM, Barcelona, Spain, protocol # 2019/8482/1, 14 March 2019) following the World Medical Association guidelines (Declaration of Helsinki, Fortaleza, Brazil, October 2013) for research on human beings. Informed written consent was obtained from all participants.

2.1. Clinical Assessment at Baseline and at One-Year Follow-Up Time-Points

Body weight and height were measured after a fasting period of at least four hours in all the patients. Moreover, blood samples were also obtained from the arm vein after an overnight fasting period.

The following clinical variables were obtained at baseline and at one-year follow-up time-points: body mass index (BMI), lung function parameters, exercise capacity, dyspnea, number of acute exacerbations/patient/year, hospitalizations for acute exacerbations/patient/year, nutritional status, therapeutic strategies, and systemic inflammatory parameters. Lung function parameters were determined in all study subjects following standard procedures and reference values commonly used in our laboratory [26–30]. Exercise capacity was assessed through the six-minute walking distance following previous methodologies [31]. In order to prevent unnecessary irradiation of the patients, HRCT was only carried out at baseline.

2.2. Bronchiectasis Disease Severity Scores

The FACED score [24] was used for clinical estimation of the patients' status by incorporating variables: forced expiratory volume in one second (FEV₁) [F; cutoff, 50%; 0 or 2 points], age [A; cutoff, 70 years; 0 or 2 points], chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa* [C; yes, 0 or 1 point], radiological extension [E; number of lobes affected; cutoff, two lobes; 0 or 1 point], and dyspnea [D; cutoff, grade 2 on the modified Medical Research Council (mMRC) dyspnea scale; 0 or 1 point]). Severity classification according to FACED scores was as follows: (1) 0–2, mild disease, (2) 3–4, moderate disease, and (3) 5–7, severe disease.

The EFACED score represents [25] (E: exacerbations with hospitalization in the previous year; F: FEV₁; A: age; C: chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa*; E: radiological extension [number of pulmonary lobes affected]; and D: dyspnea). Severity classification according to EFACED scores was as follows: (1) 0–3, mild disease, (2) 4–6, moderate disease, and (3) 7–9, severe disease.

The bronchiectasis severity index (BSI) score [22] (age [maximum value: 6 points], BMI [maximum value: 2 points], FEV₁ [maximum value: 3 points], hospital admission prior to study [maximum value: 5 points], exacerbations prior to the study [maximum value: 2 points], Medical Research Council (MRC) dyspnea scale [maximum value: 3 points], chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa* (PA) [maximum value: 3 points], chronic colonization by other microorganisms [maximum value: 1 points], radiological extension [maximum value: 1 points]). Severity classification according to BSI scores was as follows: (1) 0–4, mild disease, (2) 5–8, moderate disease, and (3) ≥9, severe disease.

2.3. Radiological Features and Extension

High-resolution computer tomography (HRCT)-scans were used to evaluate the radiological extension of the bronchiectasis in all the study patients only at baseline. Scores for each patient were calculated by two independent observers following previously established criteria [32,33]. The extent of bronchiectasis (ES) was scored for each lobe as follows: grade 0 = no disease; grade 1 = one or partial bronchopulmonary segment involved; grade 2 = two or more bronchopulmonary segments involved. The lingula was considered a separate lobe in this analysis. The bronchial dilatation (DS) was quantified relative to the adjacent pulmonary arteries as follows: grade 0 = no bronchiectasis; grade 1 = less than twice (200%) diameter of adjacent pulmonary artery (APA); grade 2 = 200–300% diameter of APA; grade 3 = >300% diameter of APA. Bronchial wall thickness (TS) was scored as follows: grade 0 = none; grade 1 = 50% of APA, grade 2 = 50–100% of APA; grade 3 = >100% of APA.

Global scores of both lungs were taken for extension, bronchial dilatation and bronchial wall thickness. The total extent of bronchiectasis (TES) was taken as the sum of the ES for each of the six lobes. The global severity of bronchial dilatation (GDS) was as the “sum of the extent score multiplied by the dilatation score for each lobe”, divided by the “total extent score” ($GDS = \sum(ES \times DS)_{1-6} / TES$). Similarly, the global severity of bronchial wall thickness (GWTS) was estimated as the “sum of the extent score multiplied by the thickness score for each lobe” divided by the “total extent score” ($GTS = \sum(ES \times TS)_{1-6} / TES$).

2.4. Microbiological Diagnosis

Spontaneous or induced sputum samples were obtained from all the patients. Sputum samples were analyzed in the microbiology laboratory. Conventional semi-qualitative bacterial and fungal cultures were performed. An initial Gram staining was performed in all the samples prior to culturing the sputum according to the Murray and Washington criteria [34] (Table 1).

Table 1. Criteria for evaluation of the quality of sputum specimens.

Score	Epithelial Cells	Leukocytes	Quality	Culture
1	>25	<10	Very poor	No
2	>25	18–25	Poor	No
3	>25	>25	Dubious	Yes
4	18–25	>25	Sufficient	Yes
5	<10	>25	Good	Yes
6	<25	<25	Uncertain	Yes

Adapted from Murray P.R. et al. See reference [34].

Sputum samples were cultured in Agar Chocolate, Agar Columbia Nalidixic Acid (CNA), Agar MacConkey, and Agar Sabouraud. Bacterial cultures were read at 24 h and 48 h time-points, while those of fungal cultures were read every 24 h for five consecutive days. Antibiotic sensitivity was tested using the microdilution method or disc diffusion following the regulations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [35]. The strains were frozen in two separate freezing tubes at -80°C .

When available, mycobacteria cultures were also performed in the patients. Upon sample decontamination using the sodium hydroxide (NaOH) method, samples were cultured in a solid medium culture of Lowenstein-Jensen Media (BD BLL™) and a liquid medium BACT/ALERT® (BioMerieux, SA F-69280 Marcy l'Etoile, Lyon, France) or BACTEC™ MGIT™ 960 (BD) for 40 consecutive days.

2.5. Statistical Analysis

The normality of the study variables was tested using the Shapiro–Wilk test. Data are expressed as mean and standard deviation (SD) in tables and figures. A post-hoc power was calculated on the basis of the parameters IgE and IgG for the Paired Sample *t*-Test

applied to check differences from baseline to follow-up measurements. The post-hoc power calculation was 82.94% for the sample size estimated in the study. At baseline, patients were also analyzed separately according to the presence or absence of colonization by PA. Potential differences of quantitative variables between these two groups were assessed using the Student's *t*-test or Mann-Whitney U test for parametric and non-parametric distributions, respectively. A Chi-square test was used to assess potential differences in categorical variables between the PA colonization group and the non-PA colonization group. Potential differences of quantitative variables between the baseline and one-year follow-up time-points were explored using the Paired Samples *t*-Test or Two-Related Samples Tests for parametric and non-parametric distributions. All statistical analyses were performed using the software SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Statistical significance was established at $p \leq 0.05$.

3. Results

3.1. General Characteristics at Baseline

Table 2 illustrates the baseline clinical characteristics of all the patients. Bronchiectasis severity was classified as mild-to-moderate according to FACED, EFACED, and BSI scores (Table 2). Patients predominantly showed a mild-to-moderate airway obstruction (Table 2). Specifically, 15 patients had an FEV₁ predicted greater than 80% (81–124% range), 11 patients had an FEV₁ predicted comprised between 50% and 80% (50–73% range), and four patients had an FEV₁ predicted lower than 50% (37–48% range).

Table 2. Baseline general characteristics of all bronchiectasis patients, and of the two groups of patients.

Anthropometry $\bar{x}$ (SD)	All Patients N = 30	Non- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> N = 21	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> N = 9
Age, years	66 (12)	69 (11)	61 (12) *
Female, N/male, N	23/7	18/3	5/4
Body weight, kg	64 (16)	63 (18)	66 (11)
Height, cm	158 (10)	157 (11)	162 (8)
BMI (kg/m ²)	25 (4)	25.5 (4.9)	24.9 (2.8)
Etiology			
Post-infectious, N (%)	22 (73)	14 (67)	8 (89)
COPD, N (%)	1 (3)	1 (4)	0 (0)
Unknown etiology, N (%)	7 (24)	6 (29)	1 (11)
Lung function and exercise capacity, $\bar{x}$ (SD)			
FEV ₁ , L	1.78 (0.71)	1.76 (0.71)	1.84 (0.75)
FEV ₁ , % predicted	76 (25)	80 (25)	65 (21)
FVC, L	2.68 (0.92)	2.52 (0.78)	3.05 (1.15)
FVC, % predicted	85 (18)	87.9 (18.5)	78.9 (16.5)
FEV ₁ /FVC	68 (11)	68.6 (11.2)	65.6 (12.3)
6-min walking distance, meters	473 (96)	450 (95)	534 (71) *
Distance, % predicted	98 (17)	96 (16)	105 (19)
Smoking history			
Ex-smokers, N (%)	9 (30)	6 (29)	3 (33)
Never smokers, N (%)	21 (70)	15 (71)	6 (67)
Packs-year,	22 (15)	23 (18)	12 (3)
Disease severity			
FACED score,	1.9 (1.3)	1.95 (1.43)	1.89 (1.05)

Table 2. Cont.

Anthropometry $\bar{x}$ (SD)	All Patients N = 30	Non- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> N = 21	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> N = 9
Mild, N	20	13	7
Moderate, N	8	6	2
Severe, N	2	2	0
EFACED score,	2.1 (1.5)	2.05 (1.50)	2.33 (1.73)
Mild, N	25	18	7
Moderate, N	5	3	2
Severe, N	0	0	0
BSI score, $\bar{x}$ (SD)	5.5 (3.2)	5.19 (2.62)	6.33 (4.36)
Mild, N	14	10	4
Moderate, N	11	8	3
Severe, N	5	3	2
mMRC score, $\bar{x}$ (SD)	0.63 (0.67)	0.71 (0.46)	0.22 (0.44) *
# exacerbations/patient/year,	0.87 (1.00)	0.86 (0.66)	0.89 (1.62)
# hospitalizations/patient for exacerbations in the previous year,	0.10 (0.31)	0.05 (0.22)	0.22 (0.44)
Nutritional assessment, $\bar{x}$ (SD)			
Hemoglobin, g/dL	13.9 (11.1)	13.7 (1.1)	14.3 (1.2)
Hematocrit, %	42.0 (3.7)	41.4 (3.6)	43.4 (3.8)
Glucose, mg/dL	94.4 (25.5)	98.8 (29.1)	84.1 (8.8)
Creatinine, mg/dL	0.7 (0.3)	0.71 (0.17)	0.79 (0.18)
Albumin, g/dL	4.4 (0.3)	4.4 (0.3)	4.3 (0.3)
Total proteins, g/dL	7.3 (0.4)	7.2 (0.3)	7.5 (0.5)
Prealbumin, g/dL	22.1 (5.0)	22.4 (4.6)	21.4 (6.1)
Radiological extension, $\bar{x}$ (SD)			
Total extension score	8.1 (3.3)	7.1 (3.0)	10.2 (3.0) *
Bronchial dilatation score	1.2 (0.2)	1.2 (0.2)	1.2 (0.2)
Bronchial wall thickness score	1.3 (0.3)	1.3 (0.4)	1.3 (0.3)
Global score	10.6 (3.4)	9.6 (3.2)	12.8 (2.9) *
Treatments			
Bronchodilators, N	23 (77%)	16 (76%)	7 (78%)
Inhaled corticoids, N	10 (33%)	6 (29%)	4 (44%)
Mucolytics, N	2 (7%)	2 (10%)	0
Eradication protocol for PA	9 (30%)	NA	9 (100%)
Respiratory physiotherapy, N	14 (47%)	12 (57%)	2 (22%)

Values are presented as mean (standard deviation). Abbreviations: N, number; BMI, body mass index; kg, kilograms; cm, centimeters; BMI, body mass index; m, meters; COPD, Chronic Obstructive Pulmonary Disease; FEV1, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; L, liter; FACED: F, FEV1, forced expiratory volume in the first second; A, Age; C, chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa*; E, radiological extension; D, dyspnea; EFACED: E, exacerbations with hospitalization in previous year; F, FEV1, forced expiratory volume in the first second; A, Age; C, Chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa*; E, radiological extension; D, dyspnea; BSI, Bronchiectasis Severity Index; mMRC, modified medical research council; #, number; g, grams; dL, deciliter; mg, milligrams, PA, *Pseudomonas aeruginosa*, NA, not available. Statistical analyses and significance: *, $p \leq 0.05$ between *Pseudomonas aeruginosa* colonization patients and non-*Pseudomonas aeruginosa* colonization patients.

Most patients were females, and post-infectious sequelae were the most frequent etiological factor in this series (Table 2). At baseline, patients colonized by PA were significantly younger, the walking distance was greater, while the mMRC score was significantly lower than in non-PA patients (Table 2). At baseline, no significant differences were observed in the study nutritional parameters between PA- and non-PA groups of patients (Table 2). PA-colonized patients exhibited a significantly greater extension of their bronchiectasis, as indicated by the total extension and global scores (Table 2). No significant differences in the number of acute exacerbations/patient/year or hospitalizations/patient/year due to exacerbations were seen between PA and non-PA groups of patients in this cohort (Table 2).

Therapy details are also described in Table 2 below. During follow-up, patients with PA followed an eradication protocol based on the use of full doses of quinolones or co-trimoxazole (*Stenotrophomonas maltophilia*) for at least three consecutive weeks as established in the Spanish guidelines for non-severe bronchiectasis [36].

3.2. Systemic Inflammatory Parameters and Immunoglobulins (Ig) at Baseline

Levels of the systemic inflammatory parameters at baseline for all the patients are shown in Table 3. At baseline, patients with PA colonization showed greater levels of IgG, IgM, and IgA than patients with non-PA colonization (Table 3).

Table 3. Baseline systemic inflammatory parameters of all bronchiectasis patients, and of the two groups of patients.

Systemic Inflammatory Parameters, $\bar{x}$ (SD)	All Patients N = 30	Non- <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> N = 21	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> N = 9
Total leukocytes, $\times 10^3/\mu\text{L}$	6.4 (1.6)	6.4 (1.5)	6.3 (1.9)
Total neutrophils, $\times 10^3/\mu\text{L}$	4.1 (1.4)	4.1 (1.3)	4.0 (1.5)
Neutrophils, %	63.2 (7.8)	63.7 (7.7)	62.0 (8.2)
Total lymphocytes, $\times 10^3/\mu\text{L}$	1.5 (0.4)	1.5 (0.4)	1.5 (0.4)
Lymphocytes, %	24.5 (6.2)	24.6 (7.0)	24.2 (3.8)
Total eosinophils, $\times 10^3/\mu\text{L}$	0.16 (0.09)	0.15 (0.07)	0.20 (0.14)
Eosinophils, %	2.5 (1.4)	2.4 (1.1)	2.9 (2.0)
Platelets, $\times 10^3/\mu\text{L}$	257 (69)	254 (63)	265 (86)
CRP, mg/dL	0.70 (0.9)	0.76 (1.07)	0.60 (0.37)
ESR, mm/h	15 (12)	16 (14)	13 (10)
Fibrinogen, mg/dL	370 (84)	370 (89)	369 (75)
Alpha-1 antitrypsin, mg/dL	132.5 (25.4)	132.8 (26.7)	131.7 (23.7)
Ceruloplasmin, mg/dL	27.0 (5.4)	27.2 (6.3)	26.7 (2.9)
IgE, IU/mL	66 (81)	57 (75)	85 (95)
IgG, mg/dL	1273 (384)	1161 (259)	1535 (506) *
IgG aspergillus, mg/L	37 (35)	37 (37)	36 (30)
IgM, mg/dL	112 (85)	83 (42)	150 (94) *
IgA, mg/dL	330 (134)	295 (120)	390 (152) *

Values are presented as mean (standard deviation). Abbreviations: N, number; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; IgE, immunoglobulin E; IgG, immunoglobulin G; IgG aspergillus, immunoglobulin G aspergillus; IgM, immunoglobulin M; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G; μL , microliter; mg, milligrams; mm, millimeters; h, hour; dL, deciliter; mL, milliliter. Statistical analyses and significance: *, $p \leq 0.05$ between *Pseudomonas aeruginosa* colonization patients and non-*Pseudomonas aeruginosa* colonization patients.

3.3. General Clinical Characteristics at One-Year Follow-Up

Three patients dropped out (two patients recruited in 2019 and one recruited in 2020) from the one-year follow-up part of the study for personal reasons; thus, 27 patients were followed up for 12 months. Compared to baseline, at one-year follow-up, a significant reduction in FEV₁ (70 mL) was observed in the study patients, while the number of exacerbations significantly increased (88%, Figure 1). Indeed, 20 out of 30 patients had at least one exacerbation during the 12-month follow-up period, and 15 patients showed an increased number of exacerbations compared to baseline (Table 4). No significant differences were seen in the rate of FEV₁ decline (either absolute and % predicted values)

at the end of the study period between patients with an increased number of exacerbations during follow-up and those without, $n = 20$ and $n = 7$, $p = 0.893$ and $p = 0.912$, respectively). Furthermore, the rate of FEV₁ decline (either absolute and % predicted values) at 12-month time-point did not significantly differ between patients with a former history of frequent exacerbations (two or more in the year prior to study entry) and those without ($n = 5$ and $n = 25$, $p = 0.835$, respectively).

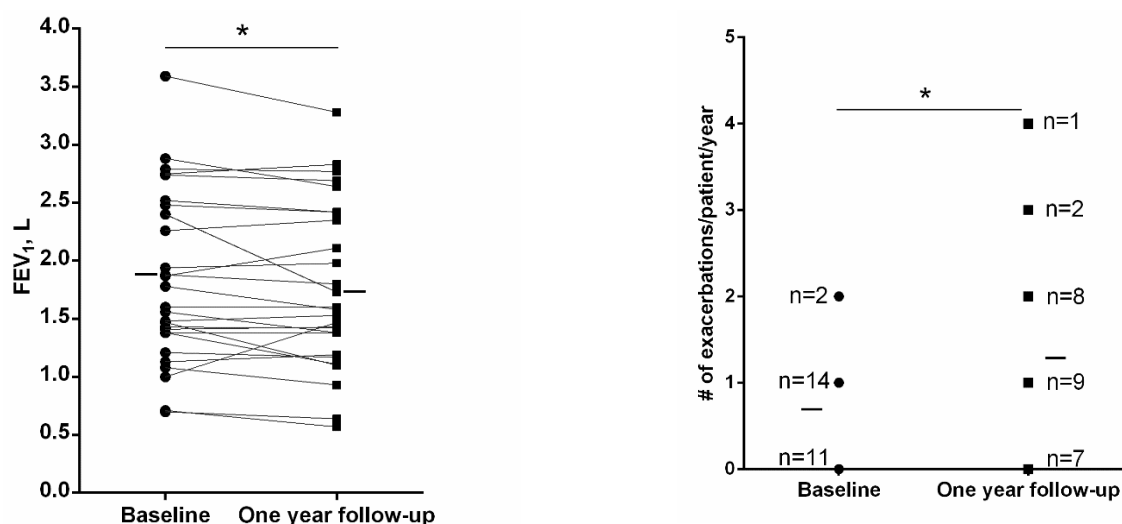


Figure 1. Individual and mean values of FEV₁ lung function parameter and the number of exacerbations/patient/year during the 12-month follow-up period at baseline and at one-year follow-up in bronchiectasis patients. Twenty patients had at least one exacerbation during follow-up. Abbreviations: n, number. Statistical significance is as follows: * $p \leq 0.05$ comparisons between baseline and one-year follow-up time-points.

Table 4. Number of exacerbations and hospitalizations for exacerbations in each patient in the previous year.

Patients	# Exacerbations/Patient/Year		# Hospitalizations/Patient for Exacerbations in the Previous Year	
	Baseline	One-Year Follow-Up	Baseline	One-Year Follow-Up
Patient # 1	1	1	0	0
Patient # 2	1	2	0	0
Patient # 3	0	2	0	0
Patient # 4	1	0	1	0
Patient # 5	1	0	0	0
Patient # 6	1	2	0	0
Patient # 7	0	1	0	0
Patient # 8	0	1	0	0
Patient # 9	0	4	0	0
Patient # 10	2	NA	0	NA
Patient # 11	1	2	0	0
Patient # 12	1	2	0	0
Patient # 13	0	0	0	0
Patient # 14	0	3	0	0
Patient # 15	0	0	0	0

Table 4. Cont.

Patients	# Exacerbations/Patient/Year		# Hospitalizations/Patient for Exacerbations in the Previous Year	
	Baseline	One-Year Follow-Up	Baseline	One-Year Follow-Up
Patient # 16	1	1	0	0
Patient # 17	0	2	0	0
Patient # 18	1	0	0	0
Patient # 19	1	1	1	1
Patient # 20	0	1	0	0
Patient # 21	1	1	0	0
Patient # 22	2	0	0	0
Patient # 23	2	3	0	0
Patient # 24	2	NA	0	NA
Patient # 25	1	2	0	1
Patient # 26	1	2	0	0
Patient # 27	3	NA	1	NA
Patient # 28	0	0	0	0
Patient # 29	0	1	0	0
Patient # 30	1	1	0	0

Abbreviations: #, number; NA, not available.

No significant differences were observed between one-year follow-up and baseline time-points in other lung function parameters or exercise capacity (Table 5). No significant differences were observed between the one-year follow-up and baseline time-points of the study nutritional parameters except for hemoglobin, which significantly declined (Table 5). The disease severity scores FACED and EFACED, but not BSI, significantly increased after the one-year follow-up compared to baseline (Figure 2A,B and Table 5, respectively). The rate of FEV₁ decline (absolute and % predicted values) did not show any significant differences between patients with and without a rise in the bronchiectasis severity scores (FACED $n = 9$ and $n = 18$, EFACED $n = 10$ and $n = 17$, and BSI $n = 10$ and $n = 17$, $p = 0.899$, $p = 0.493$, and $p = 0.619$, respectively).

Table 5. General characteristics at one-year follow-up in bronchiectasis patients.

Anthropometry, $\bar{x}$ (SD)	Baseline	One-Year Follow-Up
Age, years	66 (12)	67 (12) ***
Female, N/male, N	20/7	20/7
Body weight, kg	65 (17)	65 (17)
Height, cm	159 (10)	159 (10)
BMI (kg/m ²)	25.4 (4.4)	25.3 (4.5)
Etiology		
Post-infectious, N (%)	20 (74)	20 (74)
COPD, N (%)	0 (0)	0 (0)
Unknown etiology, N (%)	7 (26)	7 (26)
Lung function and exercise capacity, $\bar{x}$ (SD)		
FEV ₁ , % predicted	76.1 (24.8)	74.4 (25.5)
FVC, L	2.69 (0.95)	2.54 (0.86)

Table 5. Cont.

Anthropometry, $\bar{x}$ (SD)	Baseline	One-Year Follow-Up
FVC, % predicted	85 (19)	85 (18)
FEV ₁ /FVC	68.3 (11.8)	67.4 (12.4)
6-min walking distance, meters	490 (89)	477 (96)
Distance, % predicted	101 (16)	97 (16)
Smoking history		
Ex-smokers, N (%)	7 (26)	7 (26)
Never smokers, N (%)	20 (74)	20 (74)
Packs-year, $\bar{x}$ (SD)	23 (16)	23 (16)
Disease severity		
BSI score, $\bar{x}$ (SD)	5.2 (2.9)	5.7 (2.1)
mMRC score, $\bar{x}$ (SD)	0.67 (0.68)	0.70 (0.78)
Hospitalizations for exacerbations in the previous year, $\bar{x}$ (SD)	0.07 (0.27)	0.07 (0.27)
Nutritional assessment, $\bar{x}$ (SD)		
Hemoglobin, g/dL	14.0 (1.2)	13.5 (1.0) *
Hematocrit, %	42.0 (3.5)	39.2 (10.4)
Glucose, mg/dL	94.3 (26.3)	97.0 (23.8)
Creatinine, mg/dL	0.74 (0.18)	0.75 (0.15)
Albumin, g/dL	4.4 (0.2)	4.4 (0.3)
Total proteins, g/dL	7.3 (0.3)	7.2 (0.4)
Prealbumin, g/dL	22.3 (4.5)	21.8 (4.6)
Radiological extension, $\bar{x}$ (SD)		
Total extension score	8.2 (3.2)	NA
Bronchial dilatation score	1.2 (0.2)	NA
Bronchial wall thickness score	1.3 (0.3)	NA
Global score	10.7 (3.3)	NA

Values are presented as mean (standard deviation). Abbreviations: N, number; BMI, body mass index; kg, kilograms; cm, centimeters; BMI, body mass index; m, meters; COPD, Chronic Obstructive Pulmonary Disease; FEV₁, forced expiratory volume in the first second; FVC, forced vital capacity; L, liter; FAGED: F, FEV₁, force expiratory volume in the first second; A, Age; C, chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa*; E, radiological extension; D, dyspnea; EFACED: E, exacerbations with hospitalization in previous year; F, FEV₁, forced expiratory volume in the first second; A, Age; C, Chronic colonization by *Pseudomonas aeruginosa*; E, radiological extension; D, dyspnea; BSI, Bronchiectasis Severity Index; mMRC, modified medical research council; g, grams; dL, deciliter; mg, milligrams; NA, not available. Statistical analyses and significance: *, $p \leq 0.05$, ***, $p \leq 0.001$ between baseline and one-year follow-up bronchiectasis patients.

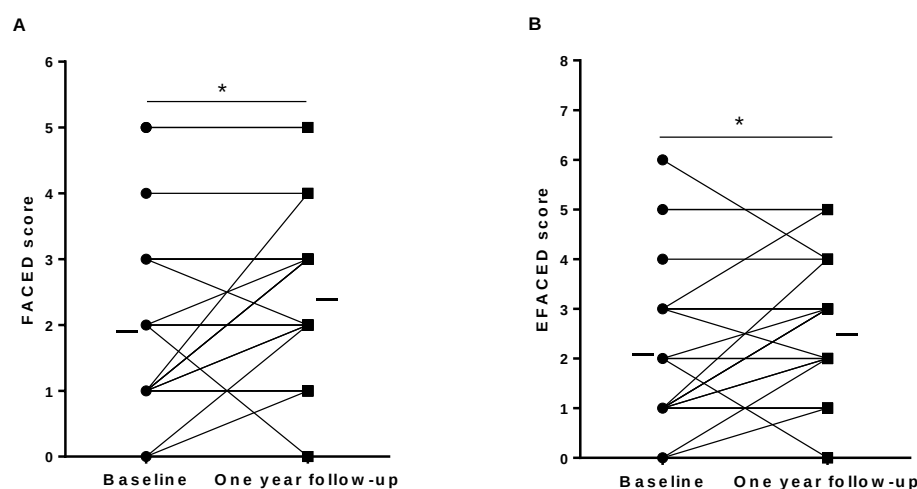


Figure 2. Individual and mean values of (A) FAGED score and (B) EFACED score at baseline and at one-year follow-up in bronchiectasis patients. Statistical significance is as follows: * $p \leq 0.05$ comparisons between baseline and one-year follow-up time-points.

3.4. Systemic Inflammatory Parameters and Immunoglobulins (Ig) at One-Year Follow-Up

A significant rise in the erythrocyte sedimentation rate (ESR) was detected in the patients at one-year follow-up compared to baseline (Figure 3), whereas no differences were observed in the number of leukocytes, neutrophils, lymphocytes, or eosinophils (Table 6). The number of platelets, however, significantly declined at one-year follow-up compared to baseline (Table 6). Blood levels of ceruloplasmin, IgE, IgG, IgG aspergillus, IgM, and IgA significantly declined at one-year follow-up compared to baseline in the bronchiectasis patients (Figures 4 and 5, respectively).

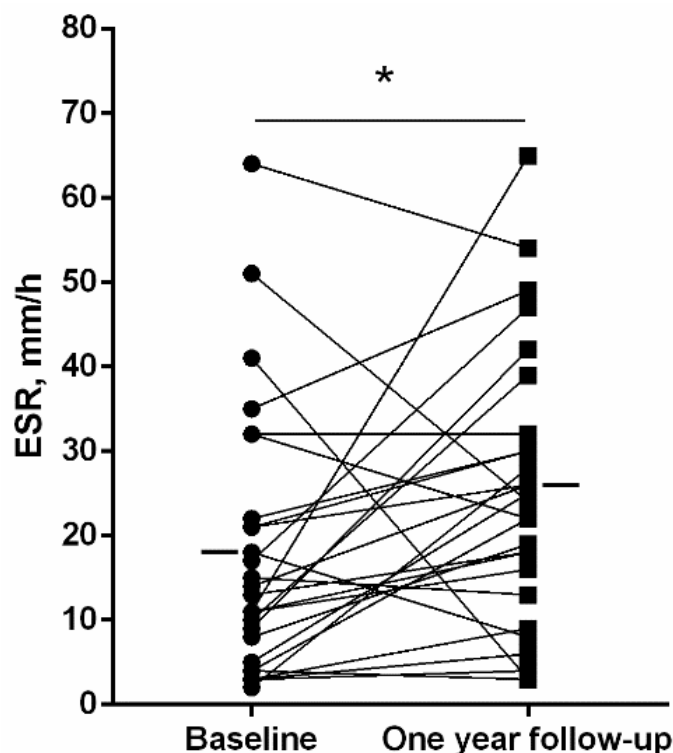


Figure 3. Individual and mean values of levels of ESR at baseline and at one-year follow-up in bronchiectasis patients. Statistical significance is as follows: * $p \leq 0.05$ comparisons between baseline and one-year follow-up time-points.

Table 6. Systemic inflammatory parameters at one-year follow-up in bronchiectasis patients.

Systemic Inflammatory Parameters, $\bar{x}$ (SD)	Baseline	One-Year Follow-Up
Total leukocytes, $\times 10^3/\mu\text{L}$	6.3 (1.6)	6.2 (1.5)
Total neutrophils, $\times 10^3/\mu\text{L}$	4.1 (1.4)	4.0 (1.2)
Neutrophils, %	63.0 (8.1)	62.5 (8.1)
Total lymphocytes, $\times 10^3/\mu\text{L}$	1.5 (0.4)	1.5 (0.5)
Lymphocytes, %	24.6 (6.5)	25.2 (8.6)
Total eosinophils, $\times 10^3/\mu\text{L}$	0.17 (0.09)	0.16 (0.08)
Eosinophils, %	2.8 (1.3)	3.0 (1.7)
Platelets, $\times 10^3/\mu\text{L}$	262 (70)	241 (56) *
CRP, mg/dL	0.59 (0.63)	0.51 (0.46)
Fibrinogen, mg/dL	379 (62)	396 (70)
Alpha-1 antitrypsin, mg/dL	130.8 (25.3)	131.3 (22.3)

Values are presented as mean (standard deviation). Abbreviations: N, number; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; IgE, immunoglobulin E; IgG aspergillus, immunoglobulin G aspergillus; IgM, immunoglobulin M; IgA, immunoglobulin A; IgG, immunoglobulin G; μL , microliter; mg, milligrams; mm, millimeters; h, hour; IU, international unit; dL, deciliter; L, liter. Statistical analyses and significance: *, $p \leq 0.05$ between baseline and one-year follow-up bronchiectasis patients.

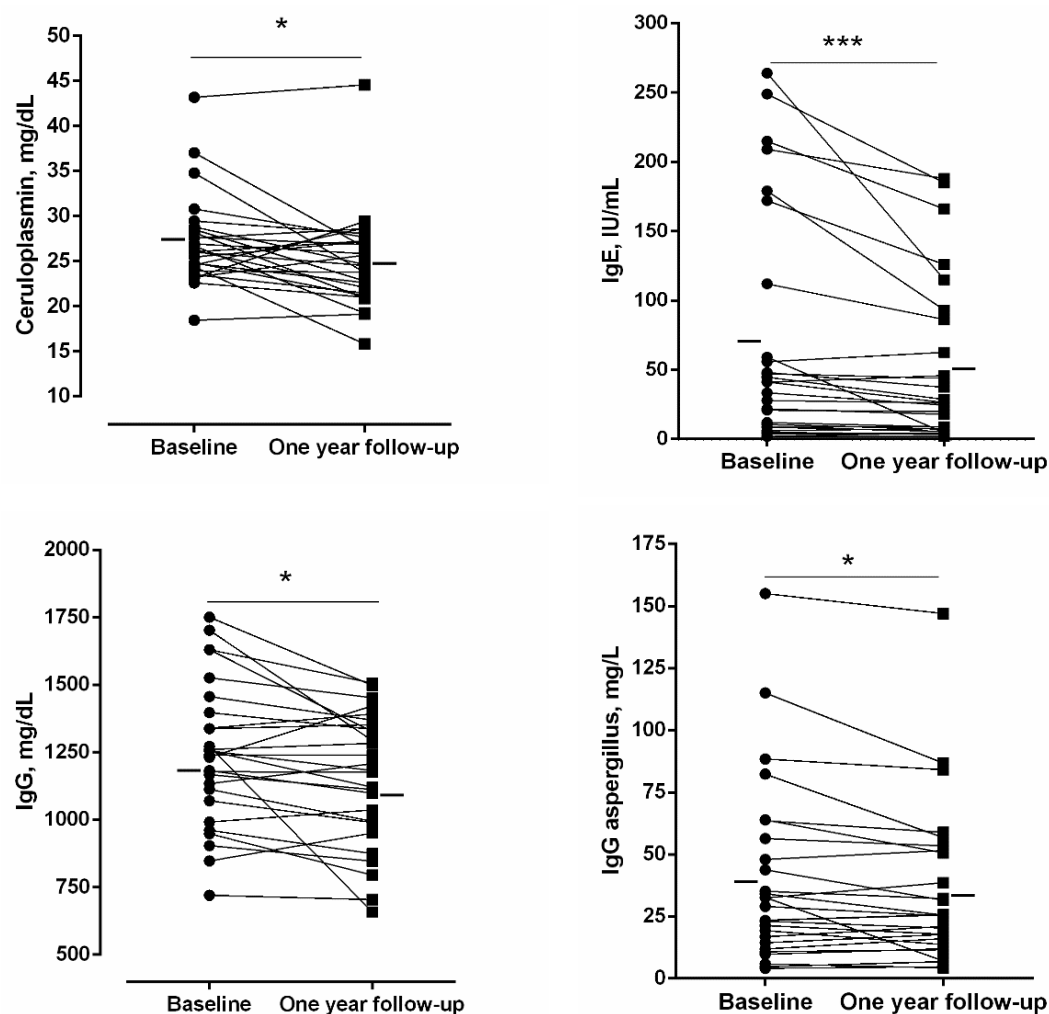


Figure 4. Individual and mean values of levels of ceruloplasmin, IgE, IgG and IgG aspergillus at baseline and at one-year follow-up in bronchiectasis patients. Statistical significance is as follows: * $p \leq 0.05$, *** $p \leq 0.001$ comparisons between baseline and one-year follow-up time-points.

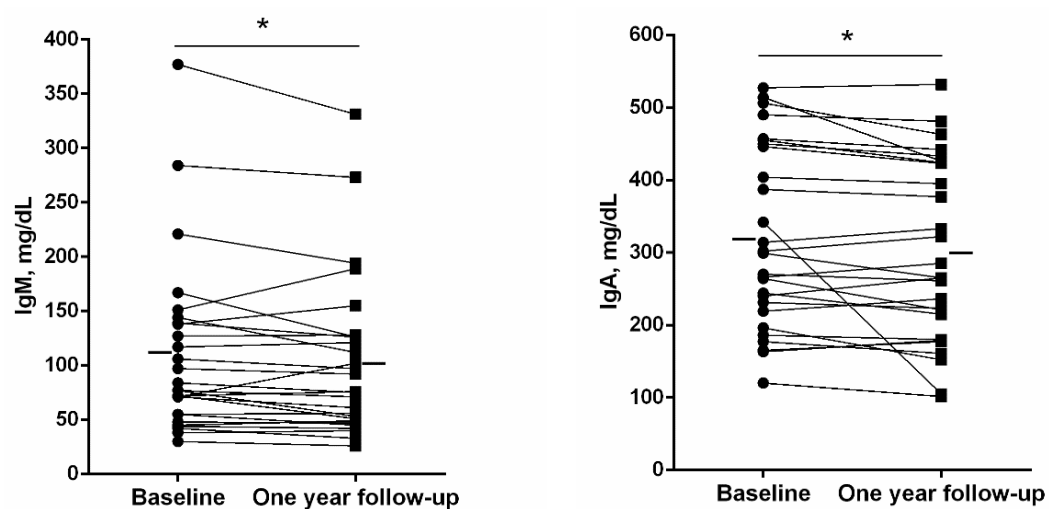


Figure 5. Individual and mean values of levels of IgM and IgA at baseline and at one-year follow-up in bronchiectasis patients. Statistical significance is as follows: * $p \leq 0.05$ comparisons between baseline and one-year follow-up time-points.

3.5. Microbiological Status of the Sputum at Baseline and One-Year Follow-Up

Table 7 illustrates the microbiological results from the sputum cultures of all the patients at baseline and at one-year follow-up. No significant differences were observed in FEV₁ decline (absolute and % predicted values), disease severity scores, or the number of exacerbations/patient/year between patients showing newly acquired colonization and those without ($p > 0.05$ all analyses).

Table 7. Sputum and microbiological status at baseline and at one-year follow-up.

Patients	Baseline		One Year Follow-Up	
	Germes	Score	Germes	Score
Patient # 1	<i>Haemophilus influenza</i> , S	5	<i>Haemophilus influenza</i> , S	5
Patient # 2	<i>Moraxella catarrhalis</i> , S	5	NC, S	1
Patient # 3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5
Patient # 4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5
Patient # 5	Commensal microbiota, S	5	<i>Moraxella catarrhalis</i> , S	4
Patient # 6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5	NC, S	2
Patient # 7	Commensal microbiota, S	6	NSA	NA
Patient # 8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	3
Patient # 9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	6
Patient # 10	Commensal microbiota, S	5	NA	NA
Patient # 11	Commensal microbiota, S	5	Commensal microbiota, S	4
Patient # 12	Commensal microbiota, S	5	NC, S	1
Patient # 13	NSA, I	NA	NSA	NA
Patient # 14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5	Commensal microbiota, S	4
Patient # 15	Commensal microbiota, S	6	NC, S	1
Patient # 16	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5	NSA	NA
Patient # 17	Commensal microbiota, S	5	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5
Patient # 18	NSA, I	NA	NSA	NA
Patient # 19	Commensal microbiota, S	5	NSA	NA
Patient # 20	Commensal microbiota, S	5	<i>Haemophilus influenza</i> , S	4
Patient # 21	Commensal microbiota, S	6	Commensal microbiota, S	3
Patient # 22	NC, S	2	NC, S	1
Patient # 23	Commensal microbiota, S	3	Commensal microbiota, S	4
Patient # 24	NSA, I	NA	NA	NA
Patient # 25	NSA, I	NA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	4
Patient # 26	Commensal microbiota, S	6	NC, S	1
Patient # 27	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	6	NA	NA
Patient # 28	Commensal microbiota, S	6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	3
Patient # 29	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , S	5
Patient # 30	Commensal microbiota, S	6	NSA	NA

Abbreviations: S, spontaneous; I: induced; NSA, no sputum available; NA, not available; NC, no culture.

4. Discussion

In the current investigation, the most relevant findings were that outpatients with bronchiectasis consecutively recruited from a specialized clinic during the COVID-19 pandemic were predominantly females, exhibited mild airway obstruction and disease

severity as indicated by specific scores, and post-infectious was the commonest etiology in this series of patients. A relatively normal follow-up period was attained despite the pandemic, in which all the participants were followed up for a minimum of 12 months, except for short delays in the consultations as a result of the heavy burden of COVID-19 patients in the first half of the year 2020 and the subsequent reorganization of the clinics that followed. The follow-up period consisted of three different appointments: baseline, six-month, and 12-month visits. Importantly, at one-year follow-up compared to baseline, the patients showed a significant reduction in FEV₁ (70 mL), along with a significant rise in the number of exacerbations per patient, disease severity scores, and in levels of ESR parameter. Nonetheless, levels of the inflammatory parameters ceruloplasmin and the study immunoglobulins were significantly reduced in all the patients at one-year follow-up compared to baseline. These are relevant results that are further discussed below.

A major relevant finding in this study was the significant decline in absolute values of FEV₁ observed among the bronchiectasis patients right after only one-year follow-up with respect to baseline measurements. The 70-mL loss of FEV₁ detected in the patients in the 12-month visit is far greater than that reported to happen under physiological conditions in normal subjects or even in smokers [37]. In this cohort, a loss of 52 mL was calculated in the year prior to study entry. Importantly, an association between the degree of radiological emphysema and small airway disease and FEV₁ decline was also demonstrated in COPD patients, particularly in those with mild-to-moderate disease [38]. In the present study, the 70-mL decline in FEV₁ values at one-year follow-up can only be attributable to the presence of bronchiectasis since none of the patients smoked. In addition, only one patient also had concomitant COPD, and this patient dropped out from the study at month seven. Thus, bronchiectasis per se elicited a significant decline in lung function as early as 12 months of the follow-up period in patients aged 60 to 70 years old. As the loss in lung function was greater under the study period (70 mL) than that observed in the year prior to study entry (52 mL), the mechanisms whereby FEV₁ decline progressively increases in bronchiectasis patients should be fully understood in future investigations.

The number of acute exacerbations, but not those of hospitalizations, increased in the patients at one-year follow-up compared to baseline. In fact, 20 patients experienced an exacerbation during the follow-up period, and 15 out of the 30 patients had an increase in the number of acute exacerbations during the 12-month follow-up period. Indeed, acute exacerbations are common in patients with bronchiectasis [11–13,39], which in certain cases may require hospitalizations. Recently, it has been reported that a history of previous hospitalizations, heart failure, and high disease severity scores were associated with a greater risk for hospitalizations in patients with acute exacerbations of bronchiectasis [13]. Furthermore, in the present investigation, FACED and EFACED scores were also significantly greater at one-year follow-up than at baseline in the bronchiectasis patients. Whether disease severity scores may help predict the risk of acute exacerbations and/or hospitalizations in patients with bronchiectasis remains to be fully elucidated. In line with this, it has been proposed that FACED and BSI may not be all that helpful to predict the risk of exacerbations in patients with bronchiectasis [40]. Nevertheless, BSI and FACED scores were very useful markers to predict the five-year mortality in bronchiectasis patients [41].

Interestingly, levels of the parameter ESR were significantly greater after the one-year follow-up than baseline levels in the study patients. ESR is a systemic inflammatory marker that can be used as a prognostic tool in clinical settings of other respiratory diseases [42]. In stable bronchiectasis patients, ESR values did not significantly correlate with disease severity in a retrospective study [43]. Whether ESR may have a prognostic value in bronchiectasis patients warrants further attention.

Ceruloplasmin is a protein synthesized in the liver that carries copper and is also involved in iron metabolism. As an acute phase-reactant, ceruloplasmin levels rise in inflammatory processes [44,45]. In the present study, a small but significant decline (from 27 to 25 mg/dL) in ceruloplasmin levels was observed in bronchiectasis patients at one-year follow-up compared to baseline. The precise biological mechanisms whereby this

inflammatory parameter may be involved in the pathophysiology of bronchiectasis need to be explored in future investigations.

Immunoglobulins, along with B and T cells, are major components of the adaptive immune response in humans. In the current investigation, baseline values of the analyzed immunoglobulins were within the normal range for all the patients. Importantly, at one-year follow-up, the serum values of IgE, IgG, IgG aspergillus, IgM, and IgA significantly declined compared to baseline levels. As indoor and outdoor pollution are potential stimuli of the production of acute phase-reactants and immunoglobulins [46], it is likely that the lockdowns and the reduced outdoor activity experienced during the COVID-19 pandemic may have substantially contributed to the decline in the levels of these markers in the study population. Whether or not the reduction in immunoglobulins and acute phase-reactant levels may influence long-term clinical outcomes and disease prognosis warrants further attention in future investigations.

Study Critique

A potential criticism is the use of a relatively small cohort that has been analyzed in the study. However, outpatients were consecutively recruited in a specialized clinic on the basis of very strict inclusion and exclusion criteria. Moreover, a power calculation was almost 83% in this specific cohort, endorsing the reliability of the study results. Moreover, all the patients were followed up during the COVID-19 pandemic in 2020, when several lockdowns and curfews were applied in society. Despite these measures, non-COVID-19 respiratory outpatients were equally attended in our specialized clinic, and the established visits were highly respected as described in Methods (every six months). All the patients maintained social distancing and were wearing masks at all times (indoors and outdoors) as these measurements were enforced by the local authorities during the pandemic. Only two patients out of 30 had mild COVID-19, without leading to acute exacerbations during follow-up. These results suggest that these preventive measurements safeguarded patients from developing COVID-19.

Patients with PA infection at baseline were significantly younger than those with no PA infection, and the mMRC score was smaller, probably due to the age factor. Moreover, at baseline, patients with PA infection exhibited greater levels of immunoglobulins and larger radiological extension in the HRCT than non-PA patients, while showing no differences in the number of acute exacerbations or hospitalizations in the previous year. Despite the relevance and interest of these findings, caution should be taken as the number of patients in the PA-infected group was relatively small.

Another potential limitation might be the drop-out of three patients during the follow-up period of the study. Nonetheless, the statistical power (83%) was sufficiently high to ensure the validity of the results on the basis of the 27 patients who participated both at baseline and during follow-up. It should also be mentioned that only two patients out of 27 had mild COVID-19 in late 2020 and early 2021, respectively. None of the patients had been vaccinated over the study period, as vaccines against SARS-CoV-2 were not vastly available at that time.

5. Conclusions

In patients with bronchiectasis, a significant decline in FEV₁ was observed only after the one-year follow-up period, along with a rise in the number of acute exacerbations and disease severity scores, but not of hospitalizations. However, a significant decrease in acute phase-reactants and immunoglobulins was observed at one-year follow-up compared to baseline. These findings suggest that the lung function impairment seen in these patients, particularly of the airways, may not rely entirely on their systemic inflammatory status. Identification of the pathophysiological mechanisms leading to substantial lung function impairment in bronchiectasis patients warrants further attention in future research. Despite the relatively small cohort analyzed in this study, the reported findings have clear clinical implications in the management of patients with bronchiectasis.

Author Contributions: Study conception and design: E.B., A.M., F.G.-C. and L.Q.; patient assessment and recruitment: L.Q., E.B. and M.A.; sputum analysis: S.E.-C.; radiological assessment: Y.X., J.Z. and J.M.M.; Statistical analyses and data interpretation: X.D., L.Q. and E.B.; manuscript drafting and intellectual input: E.B., L.Q. and X.D.; manuscript writing final version: E.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study has been supported by FIS 21/00215 and INT19/00002 (FEDER, ISC-III) & CIBERES (ISC-III), SEPAR (698-2018), SEPAR (959-2020) and Menarini S.A. 2020.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Review Board of Hospital of Mar-IMIM (protocol # 2019/8482/1, 14 March 2019).

Informed Consent Statement: All patients signed the informed written consent to participate in the registry. The information remained confidential at all times and no personal information related to any of the participants was introduced in the registry.

Data Availability Statement: The datasets generated and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Conflicts of Interest: The authors have none to disclose regarding this study.

References

1. Martínez-García, M.Á.; Máiz, L.; Oliveira, C.; Girón, R.M.; de la Rosa, D.; Blanco, M.; Cantón, R.; Vendrell, M.; Polverino, E.; de Gracia, J.; et al. Spanish Guidelines on the Evaluation and Diagnosis of Bronchiectasis in Adults. *Arch. Bronconeumol.* **2018**, *54*, 79–87. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Martínez-García, M.A.; Villa, C.; Dobarganes, Y.; Girón, R.; Maíz, L.; García-Clemente, M.; Sibila, O.; Golpe, R.; Rodríguez, J.; Barreiro, E.; et al. RIBRON: El Registro Español Informatizado De Bronquiectasias. Caracterización De Los Primeros 1.912 Pacientes. *Arch. Bronconeumol.* **2021**, *57*, 28–35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Suarez-Cuartin, G.; Chalmers, J.D.; Sibila, O. Diagnostic Challenges of Bronchiectasis. *Respir. Med.* **2016**, *116*, 70–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Crimi, C.; Ferri, S.; Campisi, R.; Crimi, N. The Link between Asthma and Bronchiectasis: State of the Art. *Respiration* **2020**, *99*, 463–476. [[CrossRef](#)]
5. Jin, J.; Yu, W.; Li, S.; Lu, L.; Liu, X.; Sun, Y. Factors Associated with Bronchiectasis in Patients with Moderate-Severe Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Medicine* **2016**, *95*, e4219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Martínez-García, M.Á.; Soler-Cataluña, J.J.; Donat Sanz, Y.; Catalán Serra, P.; Agramunt Lerma, M.; Ballestín Vicente, J.; Perpiñá-Tordera, M. Factors Associated with Bronchiectasis in Patients with COPD. *Chest* **2011**, *140*, 1130–1137. [[CrossRef](#)]
7. Polverino, E.; Dimakou, K.; Hurst, J.; Martínez-García, M.-A.; Miravittles, M.; Paggiaro, P.; Shteinberg, M.; Aliberti, S.; Chalmers, J.D. The Overlap between Bronchiectasis and Chronic Airway Diseases: State of the Art and Future Directions. *Eur. Respir. J.* **2018**, *52*, 1800328. [[CrossRef](#)]
8. Maselli, D.J.; Amalakuhan, B.; Keyt, H.; Diaz, A.A. Suspecting Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis: What the Busy Primary Care Clinician Needs to Know. *Int. J. Clin. Pract.* **2017**, *71*, e12924. [[CrossRef](#)]
9. Monteagudo, M.; Rodríguez-Blanco, T.; Barrecheguren, M.; Simonet, P.; Miravittles, M. Prevalence and Incidence of Bronchiectasis in Catalonia, Spain: A Population-Based Study. *Respir. Med.* **2016**, *121*, 26–31. [[CrossRef](#)]
10. Weycker, D.; Hansen, G.L.; Seifer, F.D. Prevalence and Incidence of Noncystic Fibrosis Bronchiectasis among US Adults in 2013. *Chron. Respir. Dis.* **2017**, *14*, 377–384. [[CrossRef](#)]
11. Ringshausen, F.C.; de Roux, A.; Pletz, M.W.; Hämäläinen, N.; Welte, T.; Rademacher, J. Bronchiectasis-Associated Hospitalizations in Germany, 2005–2011: A Population-Based Study of Disease Burden and Trends. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e71109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Sánchez-Muñoz, G.; López de Andrés, A.; Jiménez-García, R.; Carrasco-Garrido, P.; Hernández-Barrera, V.; Pedraza-Serrano, F.; Puente-Maestu, L.; de Miguel-Díez, J. Time Trends in Hospital Admissions for Bronchiectasis: Analysis of the Spanish National Hospital Discharge Data (2004 to 2013). *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0162282. [[CrossRef](#)]
13. Menéndez, R.; Méndez, R.; Polverino, E.; Rosales-Mayor, E.; Amara-Elori, I.; Reyes, S.; Posadas, T.; Fernández-Barat, L.; Torres, A. Factors Associated with Hospitalization in Bronchiectasis Exacerbations: A One-Year Follow-Up Study. *Respir. Res.* **2017**, *18*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. King, P.T.; Holdsworth, S.R.; Freezer, N.J.; Villanueva, E.; Gallagher, M.; Holmes, P.W. Outcome in Adult Bronchiectasis. *COPD* **2005**, *2*, 27–34. [[CrossRef](#)]
15. King, P.T.; Holdsworth, S.R.; Freezer, N.J.; Villanueva, E.; Holmes, P.W. Microbiologic Follow-Up Study in Adult Bronchiectasis. *Respir. Med.* **2007**, *101*, 1633–1638. [[CrossRef](#)]

16. McDonnell, M.J.; Aliberti, S.; Goeminne, P.C.; Restrepo, M.I.; Finch, S.; Pesci, A.; Dupont, L.J.; Fardon, T.C.; Wilson, R.; Loebinger, M.R.; et al. Comorbidities and the Risk of Mortality in Patients with Bronchiectasis: An International Multicentre Cohort Study. *Lancet. Respir. Med.* **2016**, *4*, 969–979. [\[CrossRef\]](#)
17. Gorbalenya, A.E.; Baker, S.C.; Baric, R.S.; de Groot, R.J.; Drosten, C.; Gulyaeva, A.A.; Haagmans, B.L.; Lauber, C.; Leontovich, A.M.; Neuman, B.W.; et al. Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus: The Species and Its Viruses—A Statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv* **2020**, 1–15. [\[CrossRef\]](#)
18. Kumar, A.; Singh, R.; Kaur, J.; Pandey, S.; Sharma, V.; Thakur, L.; Sati, S.; Mani, S.; Asthana, S.; Sharma, T.K.; et al. Wuhan to World: The COVID-19 Pandemic. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2021**, *11*, 242. [\[CrossRef\]](#)
19. Huang, C.; Wang, Y.; Li, X.; Ren, L.; Zhao, J.; Hu, Y.; Zhang, L.; Fan, G.; Xu, J.; Gu, X.; et al. Clinical Features of Patients Infected with 2019 Novel Coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **2020**, *395*, 497–506. [\[CrossRef\]](#)
20. Chalmers, J.D.; Chang, A.B.; Chotirmall, S.H.; Dhar, R.; McShane, P.J. Bronchiectasis. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2018**, *4*, 45. [\[CrossRef\]](#)
21. Celli, B.R.; MacNee, W.; Agusti, A.; Anzueto, A.; Berg, B.; Buist, A.S.; Calverley, P.M.A.; Chavannes, N.; Dillard, T.; Fahy, B.; et al. Standards for the Diagnosis and Treatment of Patients with COPD: A Summary of the ATS/ERS Position Paper. *Eur. Respir. J.* **2004**, *23*, 932–946. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Chalmers, J.D.; Goeminne, P.; Aliberti, S.; McDonnell, M.J.; Lonni, S.; Davidson, J.; Poppelwell, L.; Salih, W.; Pesci, A.; Dupont, L.J.; et al. The Bronchiectasis Severity Index. An International Derivation and Validation Study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2014**, *189*, 576–585. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Aliboni, L.; Pennati, F.; Gelmini, A.; Colombo, A.; Ciuni, A.; Milanese, G.; Sverzellati, N.; Magnani, S.; Vespro, V.; Blasi, F.; et al. Detection and Classification of Bronchiectasis through Convolutional Neural Networks. *J. Thorac. Imaging* **2022**, *37*, 100–108. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Martínez-García, M.A.; De Gracia, J.; Relat, M.V.; Girón, R.M.; Carro, L.M.; De La Rosa Carrillo, D.; Oliveira, C.; Martinez-Garcia, M.A.; De Gracia, J.; Vendrell Relat, M.; et al. Multidimensional Approach to Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis: The FACED Score. *Eur. Respir. J.* **2014**, *43*, 1357–1367. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Martinez-Garcia, M.A.; Athanazio, R.A.; Girón, R.; Máiz-Carro, L.; de la Rosa, D.; Oliveira, C.; de Gracia, J.; Vendrell, M.; Prados-Sánchez, C.; Gramblicka, G.; et al. Predicting High Risk of Exacerbations in Bronchiectasis: The E-FACED Score. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* **2017**, *12*, 275–284. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Sancho-Muñoz, A.; Guitart, M.; Rodríguez, D.A.; Gea, J.; Martínez-Llorens, J.; Barreiro, E. Deficient Muscle Regeneration Potential in Sarcopenic COPD Patients: Role of Satellite Cells. *J. Cell. Physiol.* **2021**, *236*, 3083–3098. [\[CrossRef\]](#)
27. Puig-Vilanova, E.; Martínez-Llorens, J.; Ausin, P.; Roca, J.; Gea, J.; Barreiro, E. Quadriceps Muscle Weakness and Atrophy Are Associated with a Differential Epigenetic Profile in Advanced COPD. *Clin. Sci.* **2015**, *128*, 905–921. [\[CrossRef\]](#)
28. Puig-Vilanova, E.; Rodríguez, D.A.; Lloreta, J.; Ausin, P.; Pascual-Guardia, S.; Broquetas, J.; Roca, J.; Gea, J.; Barreiro, E. Oxidative Stress, Redox Signaling Pathways, and Autophagy in Cachectic Muscles of Male Patients with Advanced COPD and Lung Cancer. *Free Radic. Biol. Med.* **2015**, *79*, 91–108. [\[CrossRef\]](#)
29. Puig-Vilanova, E.; Ausin, P.; Martínez-Llorens, J.; Gea, J.; Barreiro, E. Do Epigenetic Events Take Place in the Vastus Lateralis of Patients with Mild Chronic Obstructive Pulmonary Disease? *PLoS ONE* **2014**, *9*, e102296. [\[CrossRef\]](#)
30. Barreiro, E.; Salazar-Degracia, A.; Sancho-Muñoz, A.; Gea, J. Endoplasmic Reticulum Stress and Unfolded Protein Response Profile in Quadriceps of Sarcopenic Patients with Respiratory Diseases. *J. Cell. Physiol.* **2019**, *234*, 11315–11329. [\[CrossRef\]](#)
31. Rodríguez, D.A.; Kalko, S.; Puig-Vilanova, E.; Perez-Olabarria, M.; Falciani, F.; Gea, J.; Cascante, M.; Barreiro, E.; Roca, J. Muscle and Blood Redox Status after Exercise Training in Severe COPD Patients. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *52*, 88–94. [\[CrossRef\]](#)
32. Bhalla, M.; Turcios, N.; Aponte, V.; Jenkins, M.; Leitman, B.S.; McCauley, D.L.; Naidich, D.P. Cystic Fibrosis: Scoring System with Thin-Section CT. *Radiology* **1991**, *179*, 783–788. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Roberts, H.R. Airflow Obstruction in Bronchiectasis: Correlation between Computed Tomography Features and Pulmonary Function Tests. *Thorax* **2000**, *55*, 198–204. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Murray, P.R.; Washington, J.A. Microscopic and Bacteriologic Analysis of Expecterated Sputum. *Mayo Clin. Proc.* **1975**, *50*, 339–344. [\[PubMed\]](#)
35. EUCAST: AST of Bacteria. Available online: https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/ (accessed on 31 May 2021).
36. Martínez-García, M.Á.; Máiz, L.; Oliveira, C.; Girón, R.M.; de la Rosa, D.; Blanco, M.; Cantón, R.; Vendrell, M.; Polverino, E.; de Gracia, J.; et al. Spanish Guidelines on Treatment of Bronchiectasis in Adults. *Arch. Bronconeumol. (Engl. Ed.)* **2018**, *54*, 88–98. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Kerstjens, H.A.M.; Rijcken, B.; Schouten, J.P.; Postma, D.S. Decline of FEV1 by Age and Smoking Status: Facts, Figures, and Fallacies. *Thorax* **1997**, *52*, 820–827. [\[CrossRef\]](#)
38. Bhatt, S.P.; Soler, X.; Wang, X.; Murray, S.; Anzueto, A.R.; Beaty, T.H.; Boriak, A.M.; Casaburi, R.; Criner, G.J.; Diaz, A.A.; et al. Association between Functional Small Airway Disease and FEV1 Decline in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2016**, *194*, 178–184. [\[CrossRef\]](#)
39. Amati, F.; Simonetta, E.; Gramegna, A.; Tarsia, P.; Contarini, M.; Blasi, F.; Aliberti, S. The Biology of Pulmonary Exacerbations in Bronchiectasis. *Eur. Respir. Rev.* **2019**, *28*, 190055. [\[CrossRef\]](#)
40. Rosales-Mayor, E.; Polverino, E.; Ragner, L.; Alcaraz, V.; Gabarrus, A.; Ranzani, O.; Menendez, R.; Torres, A. Comparison of Two Prognostic Scores (BSI And FACED) in a Spanish Cohort of Adult Patients with Bronchiectasis and Improvement of the FACED Predictive Capacity for Exacerbations. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0175171. [\[CrossRef\]](#)

41. Ellis, H.C.; Cowman, S.; Fernandes, M.; Wilson, R.; Loebinger, M.R. Predicting Mortality in Bronchiectasis Using Bronchiectasis Severity Index and FACED Scores: A 19-Year Cohort Study. *Eur. Respir. J.* **2016**, *47*, 482–489. [[CrossRef](#)]
42. Go, D.J.; Lee, E.Y.; Lee, E.B.; Song, Y.W.; Konig, M.F.; Park, J.K. Elevated Erythrocyte Sedimentation Rate Is Predictive of Interstitial Lung Disease and Mortality in Dermatomyositis: A Korean Retrospective Cohort Study. *J. Korean Med. Sci.* **2016**, *31*, 389–396. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Jarrar, A.; Zaïbi, H.; Guediri, N.; Fessi, R.; Ferchichi, M.; Dhahri, B.; Ben Amar, J.; Aouina, H. The association between bronchiectasis and systemic inflammation. *Eur. Respir. J.* **2019**, *54*, PA2681.
44. Gitlin, J.D. Transcriptional Regulation of Ceruloplasmin Gene Expression during Inflammation. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 6281–6287. [[CrossRef](#)]
45. Mohiuddin, S.S. Role of Ceruloplasmin as a Low Grade Chronic Inflammatory Marker and Activated Innate Immune System in Pathogenesis of Diabetes Mellitus. *J. Diabetes Metab. Disord. Control* **2018**, *5*, 148–153. [[CrossRef](#)]
46. Stiller-Winkler, R.; Idel, H.; Leng, G.; Spix, C.; Dolgner, R. Influence of Air Pollution on Humoral Immune Response. *J. Clin. Epidemiol.* **1996**, *49*, 527–534. [[CrossRef](#)]

10.9.2. Publicación 2.

Stojanovic Z, Gonçalves-Carvalho F, Marín A, Abad Capa J, Domínguez J, Latorre I, Lacoma A, Prat-Aymerich C. Advances in diagnostic tools for respiratory tract infections: ¿from tuberculosis to COVID-19 - changing paradigms? ERJ Open Res. 2022 Sep 12;8(3):00113-2022.

doi: 10.1183/23120541.00113-2022.

PMID: 36101788; PMCID: PMC9235056.



Advances in diagnostic tools for respiratory tract infections: from tuberculosis to COVID-19 – changing paradigms?

Zoran Stojanovic^{1,2,5}, Filipe Gonçalves-Carvalho ^{1,2,5}, Alicia Marín ^{1,2}, Jorge Abad Capa^{1,2}, Jose Domínguez^{2,3}, Irene Latorre^{2,3}, Alicia Lacoma ^{2,3,6} and Cristina Prat-Aymerich ^{2,3,4,6}

¹Pneumology Dept, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain. ²Ciber Enfermedades Respiratorias, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. ³Microbiology Department, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain. ⁴Julius Center for Health Sciences and Primary Care, University Medical Center Utrecht, Utrecht University, Utrecht, the Netherlands. ⁵Co-first authors. ⁶Co-senior authors.

Corresponding author: Cristina Prat-Aymerich (c.prataymerich-2@umcutrecht.nl)



Shareable abstract (@ERSpublications)

Unprecedented advances have been achieved by improving and applying the latest technologies to key aspects such as epidemiology, contact tracing and diagnostics of respiratory tract infections that need to be properly addressed for global improvements <https://bit.ly/3xnnqyb>

Cite this article as: Stojanovic Z, Gonçalves-Carvalho F, Marín A, *et al.* Advances in diagnostic tools for respiratory tract infections: from tuberculosis to COVID-19 – changing paradigms? *ERJ Open Res* 2022; 8: 00113-2022 [DOI: 10.1183/23120541.00113-2022].

Copyright ©The authors 2022

This version is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial Licence 4.0. For commercial reproduction rights and permissions contact permissions@ersnet.org

Received: 28 Feb 2022
Accepted: 31 May 2022

Abstract

Respiratory tract infections (RTIs) are one of the most common reasons for seeking healthcare, but are amongst the most challenging diseases in terms of clinical decision-making. Proper and timely diagnosis is critical in order to optimise management and prevent further emergence of antimicrobial resistance by misuse or overuse of antibiotics. Diagnostic tools for RTIs include those involving syndromic and aetiological diagnosis: from clinical and radiological features to laboratory methods targeting both pathogen detection and host biomarkers, as well as their combinations in terms of clinical algorithms. They also include tools for predicting severity and monitoring treatment response. Unprecedented milestones have been achieved in the context of the COVID-19 pandemic, involving the most recent applications of diagnostic technologies both at genotypic and phenotypic level, which have changed paradigms in infectious respiratory diseases in terms of why, how and where diagnostics are performed. The aim of this review is to discuss advances in diagnostic tools that impact clinical decision-making, surveillance and follow-up of RTIs and tuberculosis. If properly harnessed, recent advances in diagnostic technologies, including omics and digital transformation, emerge as an unprecedented opportunity to tackle ongoing and future epidemics while handling antimicrobial resistance from a One Health perspective.

General introduction

Respiratory tract infections (RTI) are amongst the most common reasons for seeking healthcare. Despite important advances in the last two decades, clinical management is challenging at several levels. Many RTI are caused by viruses for which antibiotics are not effective and in many cases are self-limiting. Misuse and mismanagement of antibiotics is particularly relevant in RTIs and contribute to the emergence of antimicrobial resistance (AMR) while hindering treatment. The aim of the current review is to discuss advances in diagnostic tools that have an impact on clinical decision-making and follow-up.

Pneumonia is the leading cause of death among children under 5 years old and the fifth cause of death among adults over 69 [1]. By contrast, for decades, the leading cause of death from a single infectious pathogen was tuberculosis (TB) [2]. In 2020, COVID-19 overtook TB as the infectious disease causing the highest mortality; and although global TB control efforts were not on track, even before the advent of the pandemic, TB control strategies have been further impacted by it [3]. According to the World Health Organization (WHO) report in 2021 [4], reduced access to TB diagnosis and treatment in 2020 resulted in the first year-on-year increase (of 5.6%) since 2005: estimated numbers account 1.3 million TB deaths



among HIV-negative people and an additional 214 000 among HIV-positive people, with the combined total back to the level of 2017.

Existing surveillance programmes regularly monitor respiratory syndromes with focus on influenza viruses [5] and very efficient initiatives provide a coordinated and agile research response to infectious disease outbreaks [6]. The usefulness of monitoring became evident with the reported clusters of patients with pneumonia of unknown cause in late December 2019 that led to the description of the novel human pathogen SARS-CoV-2 [7]. The initial predictions were that 60% of the global population could be infected [8]. During 2020 and 2021, we witnessed a pandemic with devastating effects on health and economies but simultaneously a historical game-changer. The SARS-CoV-2 is unquestionably a One Health disease and has highlighted the concept of syndemics: a synergistic effect of the pandemic overlapping with endemic diseases and contextual determinants of health such as cultural, socio-economic factors, climate and environment [9]. The influence of noncommunicable diseases is well known and the impact of smoking and air pollution is finally being highlighted [10]. New vulnerable populations are resulting from population ageing [11] and the increased use of immunosuppressive therapies for a wide range of medical conditions [12].

Why do we need diagnostics? The concept of diagnostic tools

The concept of diagnostics refers to: 1) interpreting the clinical profile to predict the presence of the illness (syndromic diagnosis), 2) finding an explanation for the illness (aetiology) and 3) predicting the course of disease and need for follow-up (prognosis) (figure 1). These three above-mentioned aspects have been reflected in this review.

Diagnostic tools must be accurate and need to be properly assessed and monitored, as emphasised by the introduction of the In Vitro Diagnostic Medical Devices Regulation (EU) 2017/746 (IVDR) [13]. Risks

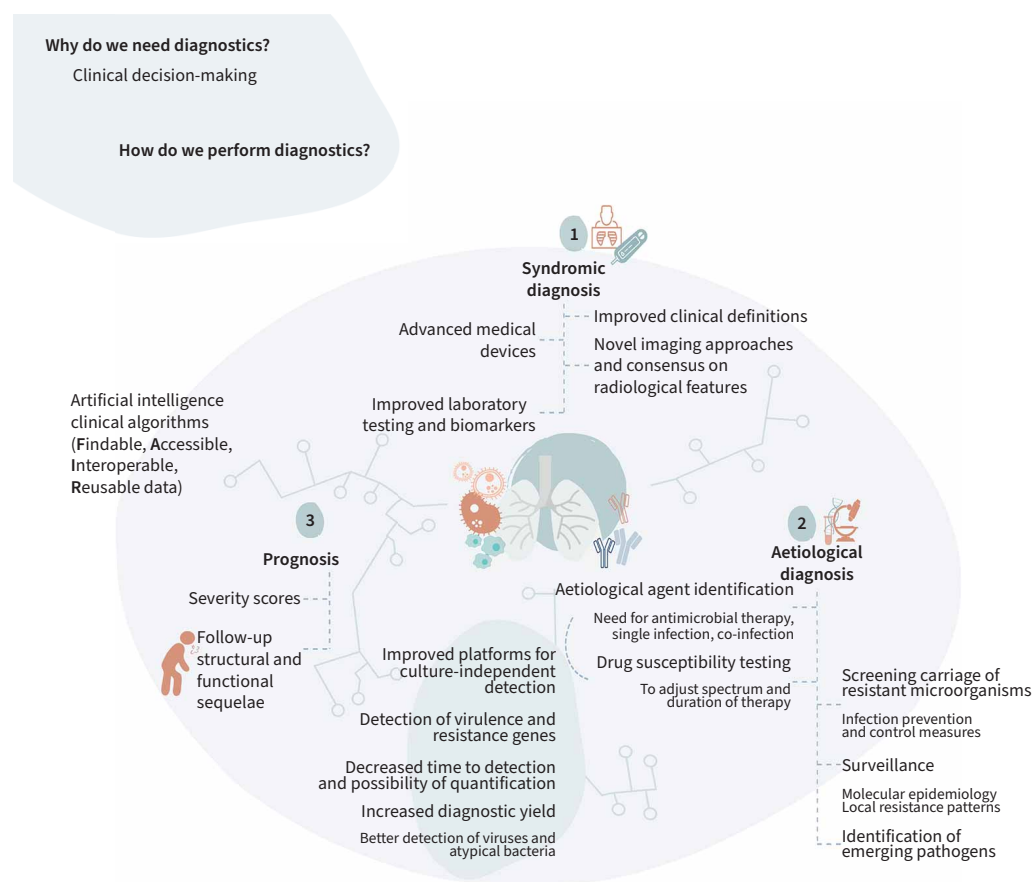


FIGURE 1 Three pillars in clinical decision-making: syndromic diagnosis, aetiological diagnosis and prognosis assessment. The most relevant advances regarding methodologies available are presented.

and benefits need to be quantified, based on scientific evidence and fit for use in the population for which they are intended (age, comorbidities, immune status). Finally, they need to be used at the right time and interpreted appropriately to affect care optimally.

Never before have we witnessed such social awareness of infectious disease; the importance of nonpharmacological measures, of a test result and of understanding the immunity behind it. COVID-19 provided an unprecedented response from industry during the massive testing and vaccination campaigns that ensued, with more than 1000 new tests, new diagnostic approaches and modification of existing techniques or the development of new ones [14]. While we must continue to monitor the virus closely, it is time to change the dynamics regarding the value of diagnostics of RTI globally. If this is properly addressed, an unprecedented opportunity emerges to face current and future epidemics.

Advances in syndromic diagnosis

One of the first challenges in RTIs is correcting frequently inconsistent case definitions. Clinical signs and symptoms are similar for many lower respiratory tract infections (LRTIs) and several other diseases (*e.g.* pulmonary embolism, acute heart failure, asthma). Global burden estimations require valid, reliable and timely data [1], so appropriate definitions are essential and important progress has recently been made [15]. Those aspects that have shown advances are highlighted below.

Pneumonia

Pneumonia is defined as an acute illness affecting the lungs, usually presenting with cough, sputum production, and rapid and difficult breathing with a new or worsening pulmonary infiltrate on a chest radiograph. The diagnostic processes range from simple to relatively complex procedures combining clinical, radiological and laboratory features. Specific investigations should be considered in some endemic settings (*e.g.* TB, mycoses) [16] and also in cases of pneumonia associated with air pollution [17]. Depending on the clinical setting and accessibility, the plain chest radiograph is not always required for diagnosis, nevertheless it still remains a relevant tool. Lung ultrasound has shown better accuracy than chest X-ray for bacterial pneumonia in emergency departments [18] and an advance during the pandemic has been its increased use for both diagnosis and follow-up [19]. The additional value of computed tomography has been widely recognised for COVID-19 pneumonia [20].

Tuberculosis

One of the main advances in definitions is the change from addressing two disease states (latent TB infection or active TB disease) to evaluating a continuous spectrum of metabolic bacterial activity and antagonistic immunological responses by adding two additional clinical states: incipient (asymptomatic phase of early disease, between latent infection and subclinical TB) and subclinical TB (described as having viable and detectable bacteria, but without TB-related symptoms) [21, 22]. Recent WHO guidelines endorse automated nucleic acid amplification tests for detection of TB and resistance to rifampicin and isoniazid, providing more options for early diagnosis of TB [23].

Bronchiolitis

Bronchiolitis is a disorder commonly caused by viral infections in infants, typically beginning with rhinitis and cough, which may progress to tachypnoea, wheezing, rales, use of accessory muscles and/or nasal flaring [24]. Many respiratory viruses cause a similar constellation of signs and symptoms. The most common aetiology is respiratory syncytial virus (RSV), which infects 90% of children in the first 2 years of life, with up to 40% experiencing LRTIs during the initial infection [25]. Recent advances include the definition of different endotypes and the identification of relevant risk factors for recurrent wheezing and asthma development [26].

Bronchiectasis

Bronchiectasis is characterised by a permanent and progressive dilation of the airways because of a vicious cycle of inflammation, infection and repair of the bronchial mucosa, which leads to malfunctioning of the mucociliary system and destruction of the bronchial wall [27]. Awareness of bronchiectasis has increased considerably in recent years [28, 29] and advances include a clearer definition of the disease [30] as well as its exacerbation. Now acute deterioration in three or more of the following symptoms for at least 48 h: cough, sputum volume and/or consistency, sputum purulence, dyspnoea and/or exercise tolerance, fatigue and/or malaise, or haemoptysis, lead clinicians to make changes in bronchiectasis treatment [31].

COPD exacerbation

The definition of COPD exacerbation has also improved by highlighting a spectrum of different exacerbation types that can require different interventions. Identifying exacerbation triggers is of the utmost

importance for proper treatment. Best known are viral and bacterial RTIs with a significant proportion of co-infections. However, in one-third of cases, they remain unidentified [32].

Treatable traits

Recently, a novel treatment approach based on “treatable traits” recognises that airway infection is only one of many treatable traits in a given patient that benefit from specific management, such as airway clearance techniques, prompt treatment of exacerbations or oral or inhaled antibiotics. This approach makes it possible to differentiate those individuals in whom symptoms or exacerbations are driven by a different treatable trait that will not benefit from antibiotic treatment [33–35].

Chronic bronchial infection

When potentially pathogenic microorganisms are present over time, a chronic bronchial infection occurs. Chronic bacterial infection can be clinically defined as evidence of positive respiratory tract cultures of the same microorganism by standard microbiology, on two or more occasions, at least 3 months apart over 1 year, while in a stable state [30]. Several novel techniques, such as automated molecular diagnostic systems, might be incorporated into the diagnostic scheme for exacerbations following careful interpretation. Both acute and chronic respiratory infection cause a progression of the disease and a worsening quality of life [29]. This is a very common situation in diseases such as COPD and bronchiectasis, and less frequently it also occurs in asthma. Chronic airway infection has been associated with altered pulmonary immune response and worse clinical outcomes [36, 37].

Spectrum of disease

A major challenge in each of these clinical conditions is correlating syndromic and aetiological diagnosis leading to the concept of spectrum of disease. Diagnosis is straightforward if a primary pathogen such as *Mycobacterium tuberculosis*, *Legionella pneumophila* or *Pneumocystis jirovecii* is identified. In other situations, more careful interpretation is needed such as when identifying viruses (infection or asymptomatic shedding), environmental fungus or environmental mycobacteria (infection, colonisation or contamination). The most frequently isolated bacteria such as *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* or *Moraxella catarrhalis* are potentially commensal. This is also the case for *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermenting bacilli (e.g. *Achromobacter xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia*) when underlying disease is present. Nonprimary pathogens might gain access and trigger symptoms or disease (e.g. by activating virulence factors) or remain quiescent (biofilm, intracellular survival), so better understanding of host–pathogen interaction is crucial [38]. Improving microbiological methods and the increased number of vulnerable patients has added *Nocardia* spp., fungi and environmental mycobacteria to the spectrum of potential pathogens. Recent advances include guidelines to assess definitions of disease stages for environmental mycobacteria [39–41] and also for pulmonary aspergillosis, depending on the interaction between *Aspergillus* and the host [27].

Advances in diagnostic tools identifying the aetiological agent

Microbiological diagnostics are critical at three levels: 1) identifying the aetiological agent and guiding appropriate therapy, so adjusting spectrum and duration and decreasing misuse and overuse of antibiotics to prevent the emergence of AMR; 2) surveillance of local resistance patterns and screening to identify patients colonised with resistant pathogens and adoption of infection prevention and control measures to prevent spread; and 3) detecting emerging pathogens. An important concept is that detection might refer to screening (e.g. detecting carriers of the resistant pathogen) or to aetiological diagnosis. Independent of the sophistication of the methods, it is crucial to generate timely, understandable results that can inform clinical decisions.

A diagnostic test can be used to demonstrate the presence or absence of infection or to detect evidence of a previous one. Generally speaking, it can be categorised into direct diagnosis, including microscopic examination, culture, antigen detection and molecular detection; and indirect diagnosis, covering immunological tests. The pandemic has brought advances in every single technique [42].

Appropriate samples and methodology

Accurate microbiological diagnosis of RTIs requires good-quality specimens. Samples must be collected taking medical conditions into account, either from the upper (nasal/throat specimens) or lower respiratory tract (bronchoalveolar lavage fluid, tracheal aspirate). Additionally, improved detection methods are making the use of new types of specimens possible and even saliva and oral mucosa may have a role to play in some situations [43–46]. But this is not true for all microorganisms; it depends on the pathogenesis and whether they are primary pathogens or potentially commensal. Particularly for COVID-19 diagnosis, pre-analytical factors have been particularly relevant, such as the swabbing methods and the use of

different matrices and viral transport media [47, 48]. Lastly, reliable transportation in optimal conditions (temperature, time) to the laboratory are key to ensuring valid results.

Pathogen identification

For culture-based methods, the arrival of matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry in clinical labs has been a major development in rapid identification, with the additional potential for detection of AMR and even typing, among other possible/putative/future uses. In culture-independent detection, recently antigen detection has increased its identifiable targets. Additionally, and of particular note, molecular methods have increased the diagnostic yield for virus and atypical bacteria, showing unprecedented development during the COVID-19 pandemic. Molecular techniques are also becoming available at point-of-care (POC) or near-POC as different portable molecular diagnostic instruments are being developed [49]. These syndromic multiplex panels can be used to detect the pathogen DNA or RNA most commonly associated with RTIs, including viruses and bacterial atypical pathogens [50–54]. Advantages include decreased time to detection, the possibility of quantification and detection of resistance and virulence genes. Serological diagnosis of atypical pneumonia has been replaced by molecular tests and is now only used in cases such as Q fever. Antibody detection has seen a comeback, mostly for immunoprevalence and vaccine response studies of COVID-19 (enzyme-linked immunosorbent/chemiluminescence/fluorescence microparticle and lateral flow immunoassays). The pandemic has also enabled the development of advanced sensing technologies based on microfluidics, nanotechnology and material science [55] as well as on targeting structures such as serum extracellular vesicles [56]. The main benefits of these assays are that they are portable, miniaturised, low cost and highly integrated POC devices [57]. In the move to a new paradigm of personalised medicine, POC diagnostic testing has been proposed to improve the quality of antibiotic prescription [58] but accuracy is variable and settings need careful adjustment [18].

Susceptibility testing

Advances involving the use of selective chromogenic media shorten the detection time for resistant bacteria. The gold standard is phenotypic testing because it shows the overall phenotype, although multiple resistance mechanisms can lead to difficult phenotype interpretations. The long time to result has been improved by selective culture media and analytical methods starting from a bacterial pellet, which is particularly useful in systemic infections [59] and also applicable to mass spectrometry or nanosensors [60]. Genotypic tests detect resistant genes in a fast and sensitive way, but genes may be present but not expressed, and the tests only detect known resistance genes. As a pragmatic summary, phenotypic testing can tell what antibiotics to prescribe, while genotypic testing can tell what not to prescribe.

Molecular epidemiology

Available typing methods for respiratory pathogens are laborious and time-consuming, but in recent years whole genome sequencing (WGS) has emerged as the gold standard method for detecting outbreaks and preventing clonal dissemination in medical settings. However, this is not so easily implemented in real-time practice. In this sense, the current COVID-19 pandemic has seen unprecedented generation and global sharing of large numbers of SARS-CoV-2 sequences in a record time, with global sharing of variants of concern in common databases, powering influenza surveillance programmes into COVID-19 efforts [61]. The next step involves real-time molecular epidemiology [62]. Genomics have expanded rapidly, bringing the opportunity to move these approaches from academic to public health decisions and surveillance, as well as strengthening global cooperation with other disease control programmes [63]. Phenotypical typing methods are also improving, such as Fourier transform infrared spectroscopy [64].

Extended culture techniques, automated molecular diagnostic systems and DNA sequencing technologies have revealed unknown airway microbiota, including an abundance of species that are refractory to common diagnostic tools. The interactions that occur between these microbial species can profoundly affect the expression of pathogenicity and virulence [27]. Large numbers of microorganisms, including bacteria, fungi and viruses, collectively known as the microbiome, coexist in the lungs of healthy subjects and patients with respiratory diseases [65].

The microbiome

The microbiome is defined as the set of the genes and gene products (RNA, proteins, metabolites) produced by resident microbial communities. Research into the chronic lung disease microbiome began in the early 2000s, when ecological techniques of microbial DNA analysis were applied to sputum samples [66, 67]. Since then, the number of studies of the respiratory microbiome has grown exponentially. Whilst traditionally bacterial infection in the airways has been characterised using culture-based methods, 16S

ribosomal RNA and other metagenomic approaches provide a powerful method of determining microbial identities and relative abundances [68].

The impact of omics technologies on precision approaches

General concepts of omics

There is growing clinical interest in understanding biological mechanisms beyond the molecular level to include biological functionality. In this sense, systems biology aims to explore how the interactions between biological components (genes, proteins, metabolites, etc.) contained in a biological tissue, cell, fluid or a whole organism affect its functionality (biological processes) as a whole, thus making it possible to characterise a biological system in a complete and integrated way [69]. Omics cover the set of high-throughput technologies that provide a global vision of a dynamic biological process through the analysis of genes (genomic), ribonucleic acid (RNA) (transcriptomic), proteins (proteomic) or metabolites (metabolomic).

Metagenomics

The first sequencing technique used in respiratory microbiome research was 16S rRNA gene sequencing. It is based on PCR amplification using primers that target the 16S ribosomal gene in variable regions of bacterial genomes, which can be used for taxonomic classification [70]. It is fast, reasonably low cost, and by converging on a specific region of the bacterial genome requires only a limited sequencing depth and allows the study of microbial communities [71]. However, it targets relatively short gene sequences, which are often shared by different closely related species, making distinguishing them a challenge [72]. Another shortcoming is that 16S sequencing analyses are restricted to the detection of bacteria and *Archaea* because viruses or fungi do not carry 16S rRNA genes. In this sense, shotgun metagenomic sequencing is an approach that allows microbiome characterisation with a much greater resolution than 16S sequencing. The term “shotgun” refers to the untargeted sequencing of all DNA present, in contrast to the targeted amplicon-based approaches. By not limiting sequencing to a single region of DNA, metagenomic sequencing can also provide information on the functional characteristics of the taxa present, including their metabolic traits, and their carriage of antibiotic resistance and pathogenicity features [73]. Furthermore, the inclusive nature of metagenomic sequencing provides information not only on the bacteria present, but also the fungi and DNA viruses, achieving identification to a subspecies or strain level. The principal limitation of shotgun metagenomic approaches is related to costs, but also to host DNA contamination. Finally, current methods cannot differentiate between live and dead microbes, which may be relevant for several reasons, such as assessing the impact of antibiotic therapy in clinical samples [74]. Novel methodologies to integrate bacterial, viral and fungal communities to allow assessment of the “interactome” have been recently developed. Rather than focusing on individual taxa, this approach proposes a role for microbial networks in altering clinical outcomes or treatment responses [75].

Transcriptomics

Transcriptomics involves the analysis of RNA produced by a given genome at a given time and condition, and thus during LRTIs it can provide information regarding pathogen and host dynamics. It can refer to the exploratory analysis of an entire transcriptome, primarily using RNA sequencing, or to a targeted analysis of known RNAs using techniques such as gene expression panels.

Metabolomics

Metabolomics is one of the most powerful bioanalytical strategies to obtain a picture of the metabolites in the course of a biological process and is a phenotyping tool [76]. Metabolomics allows the comparison of a chemical fingerprint present in a cellular system or a biofluid under normal conditions with that of altered states produced by disease, pharmacological treatment, dietary intervention or environmental modulation [77].

Clinical impact of omics

There is enormous interest in the potential of the microbiome to improve the understanding and stratification of respiratory diseases and to serve as a biomarker for clinical management. Host–microbiome interactions probably contribute substantially to differences in clinical phenotypes and disease outcomes [68, 78, 79]. Recent studies conclude that the microbiome could identify subgroups of patients at higher risk of poor outcome, who could benefit from precision treatment strategies [79]. Important questions still need to be examined, including the role of fungi, viruses and mycobacteria, the interactions with the host, and the usefulness of microbiome profiles for selecting antibiotics and to evaluate therapeutic responses [80]. The gut–lung axis affects disease and treatment. The intestinal microbiome influences the pulmonary microbiome and also lung immune responses by directly seeding the airways with bacteria and distributing bacterial metabolites that act as immune modulators [81].

Regarding tuberculosis, advances in systems biology and omics strategies have identified sets of biomarkers with the potential to optimise TB prevention, diagnosis and treatment. Only a few have been evaluated in clinical trials, so applicability in TB management is still limited [82, 83]. Metabolomics has provided insight into the pathogenesis of TB related to detection of infection and disease progression [76, 84–87]. Urinary metabolomic response has also been characterised during community-acquired pneumonia, and different profiles have been identified according to the causative microorganism: atypical bacteria *versus* pneumococcal or viral [88]; ARDS *versus* influenza; pneumococcal *versus* other aetiologies [89]; and pneumococcal *versus* staphylococcal [90].

Advances in diagnostic tools characterising the host response

The identification of novel biomarkers based on host–pathogen interactions related to the shift from carriage to infection may improve RTI management. There is a need to understand how the pathogens interact with their host to achieve a successful invasion (figure 2). Inflammatory biomarkers and severity scores can contribute to some levels of stratification [38, 66].

Systemic biomarkers, such as the C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT), have been widely analysed in patients with LRTIs, although other biomarkers are also being investigated [91, 92]. They are also being implemented at POC. The capacity of biomarkers to distinguish acute bacterial from viral RTIs has enabled their use as tools for guiding antimicrobial therapy [93], but in the outpatient setting they might have a limited capacity [94]. Regardless of whether they are used for diagnostic or monitoring purposes, biomarker analysis should be included as an additional criterion to be integrated into decision-making algorithms.

During the COVID-19 pandemic, besides the identification of the causative agent, the detection and monitoring of the host response has provided insights into the pathogenesis of the disease [95, 96]. In fact, immune tools measuring T-cell responses and detecting IFN- γ *in vitro* (IGRAs) have been used for some years to diagnose TB and nowadays they are under investigation for SARS-CoV-2. Furthermore, second-generation IGRAs that detect other cytokines, such as IP-10, have proved comparable to IFN- γ . Furthermore, IP-10 cytokine has been shown to be very stable when dried on filter paper, which facilitates sample shipment to reference laboratories [97–100].

Because disease outcome depends on dynamic host–pathogen interactions, specific host genetic signatures, together with pathogen genomics, can be combined in order to identify those individuals with a higher risk of severe disease [101, 102]. Specific host transcriptomic signatures have also been identified for this purpose [103–106]. An interesting additional area of host genomics research is its use during pre-symptomatic stages,

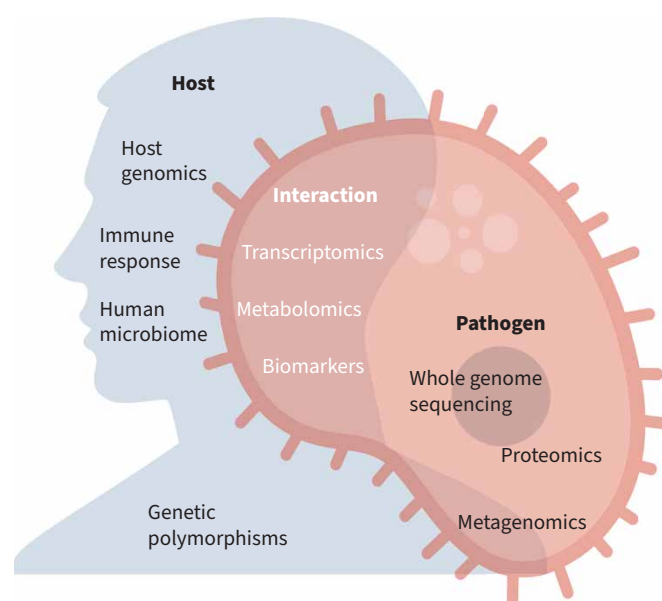


FIGURE 2 Omics for a better characterisation of host, pathogen and host–pathogen interaction factors during RTIs.

which can be important in influenza [107, 108] or TB [109] for predicting disease progression or detecting early forms of the illness. Host determinants for outcome are also related to acquired risk factors. Biological therapies targeting cytokines and/or cell subsets have become essential for the treatment of several immune-mediated diseases and have an impact on RTIs, as reviewed elsewhere [12].

Advances in understanding host immunity have been unprecedented during the pandemic, providing better knowledge of the immune response for other endemic respiratory viruses. Multiple mechanisms might lead to humoral and cellular responses involved in combatting RTIs. While an enormous effort has been put into vaccine development and immunogen design, there are still some knowledge gaps in understanding long-term memory and protective immunity. Advances in methods to assess immunogenicity have been very relevant. Vaccines have been traditionally dependent on humoral response activation by means of B-cells producing neutralising antibodies. However, over the years it has been accepted that cellular immunity mediated by CD4⁺ and CD8⁺ T-cells is also critical, evidencing that even a strong antibody response is not sufficient for protection. Recently it has been recognised that local immunity to bacterial or viral RTIs can be mediated by specific cells with a memory phenotype, called tissue-resident memory T-cells (TRMs). These cells are noncirculating, present at the site of infection, and retained in tissues for mediating a protective response in case of reinfection. Studies in mouse models and humans have evidenced that TRMs have a potential role against several respiratory pathogens such as influenza, RSV, *M. tuberculosis* or SARS-CoV-2 virus [110–115]. It is therefore important to develop new approaches and perform immunological studies to characterise TRMs as a diagnostic tool to monitor new vaccines that enhance these cell populations. Finally, the pandemic accelerated novel vaccine formulations including new viral vectored or nucleic acid-based vaccines, as well as the re-emergence of the concept of trained immunity. Live vaccines such as BCG can confer nonspecific protection against upper and lower RTIs not associated with *M. tuberculosis* through epigenetic reprogramming during haematopoiesis of innate cells [116–121].

Finally, better understanding of host–pathogen interactions has allowed the identification of potential host targets and therefore the development of host-directed therapies. These methodologies consist of inhibiting host factors indispensable for microorganism replication, intensifying a pathway of the host immune response or decreasing the inflammatory status [122–125]. Metabolic, autophagy and immune response pathways are currently being investigated. Implementation is still a challenge, with a need for accurate patient stratification for tailored interventions that prevent major side effects. Several randomised clinical trials are ongoing, focusing on TB and COVID-19 (<https://ClinicalTrials.gov>).

Advances in diagnostic tools to predict severity

Clinical assessment of severity, related to involvement of lung parenchyma in the acute phase and prediction of functional sequelae, is relevant for clinical decisions. In radiology, current practices include tedious conventional processes, which rely on specialist technical expertise and are prone to human error. Great progress has been made in deep learning that supports medical radiologists [126–128]. Novel approaches such as radiomics, a high-throughput method extracting a tremendous amount of quantitative imaging data using data-characterisation algorithms, have shown great potential in characterising imaging biomarkers [129]. Also, radiomics-based machine learning signatures have shown the potential to accurately differentiate ground-glass opacities due to COVID-19 pneumonia from those due to other acute lung diseases [130] or distinction between lung adenocarcinoma and tuberculosis granuloma [131]. Another example would be the computer-aided design (CAD) procedure for automatic diagnosis of COVID-19 from chest X-ray images [132].

Several bronchoscopic technologies have emerged over recent years, including thin/ultrathin bronchoscopes, radial probe endobronchial ultrasound (RP-EBUS), virtual navigation bronchoscopy (VBN), electromagnetic navigation bronchoscopy (ENB) and robotic bronchoscopy [133]. Bronchoscopic transparenchymal nodule access (BTPNA) and transbronchial access tool (TBAT) are novel techniques that, combined with navigational bronchoscopic technologies, improve access to lung lesions. The introduction of cryobiopsy has improved tissue sampling. These innovative techniques allow higher diagnostic yield, also in the context of RTIs and TB and other mycobacterial infections during the study of lung nodules and staging of lung cancer [134].

Oxygen saturation monitoring has traditionally been carried out using transmittance pulse oximeters due to their dependability, but they are limited to peripheral regions. Recently, new options being studied include reflectance pulse oximeters that can be used at different body sites (finger, wrist, chest and forehead) and can be scaled down to affordable patches [135].

Regarding prognostic tools, diaphragm ultrasound can be used to diagnose diaphragm dysfunction, assess severity, and monitor disease progression, and could be beneficial both in pneumonia and COVID-19 [16, 136]. Advances have also been made regarding better diagnosis of long-term structural–functional complications and a better follow-up of sequelae by standardising prognostic measures such as quality of life and social impact [137–139].

Final remarks: lessons learned

The pandemic has brought the need for an integrated approach for handling infectious diseases back to the forefront, along with the need for a coordinated effort across multiple disciplines including human, animal and environmental [140]. Unprecedented milestones have been achieved by improving and applying the latest technologies in key areas such as epidemiology, contact tracing, diagnostics and vaccine development.

However, global health inequities in low-income countries related to vaccines and treatments, and also diagnostics, still need to be addressed. The pandemic has additional costs related to the previously identified global crisis in AMR and TB [141] and several aspects have been highlighted as opportunities at different levels [142, 143].

POC technologies have allowed community-based testing to be scaled up and used as a public health tool, but they need to be linked to careful evaluation [144] and to demonstrate their diagnostic accuracy in clinical practice [18]. Timely results also involve careful interpretation and this is facilitated by effective interdisciplinary communication, starting with understandable reporting of results.

While providing emergency healthcare, clinicians and scientists have carried out clinical research and lessons learned underline the importance of pre-established structures and procedures and the need for improved regulatory consensus and globally connected networks [145]. Cost-effectiveness analyses can be used to assess the value of diagnostics in clinical practice, but they need proper design and reporting [146] in the context of pragmatic clinical trials. Digital transformation of health is ongoing through the incorporation of artificial intelligence to support clinical decision processes [147].

After years of reporting clinical diagnosis and microbiologically confirmed diagnosis in different databases, priorities have been set up in data connectivity by maximising efforts in FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable) approaches [148, 149]. Real-world data and real-world evidence are rapidly gaining importance and being formalised in policy frameworks [150].

Summary

Advances in diagnostic tools have been largely accelerated by the pandemic and affect both the design of personalised therapies and public health measures. Transdisciplinary communication is crucial for proper development and implementation of current techniques. Impact of the use of diagnostic tools depends on several contextual factors involving clinical setting, geographical location, connectivity and clinical research resources. It is mandatory to maintain monitoring of pathogenesis of individual RTIs for a timely diagnosis and proper interpretation.

Acknowledgements: The authors wish to thank Raquel Villar-Hernandez, who designed the figures, and Harvey Evans, who reviewed the English grammar.

Contributors: Antoni Rosell, Pneumology Dept, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Institut d'Investigació Germans Trias i Pujol (IGTP), Universitat Autònoma de Barcelona, Ciber Enfermedades Respiratorias, Badalona, Spain; Carlos Rodrigo Gonzalo de Liria, Pediatrics Dept, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, IGTP, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain; Maria Méndez, Pediatrics Dept, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, IGTP, Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Spain; and Raquel Villar-Hernandez, Microbiology, IGTP, Badalona, Spain.

Provenance: Commissioned article, peer reviewed.

Conflict of interest: C. Prat-Aymerich is an associate editor of this journal. The others authors have no conflict of interest, including specific financial interests or relationships or affiliations to the subject matter or materials discussed in the manuscript. All authors have seen and approved the final version of the manuscript; they have contributed significantly to the work and they have taken care to ensure the integrity of the work.

Support statement: No specific funding has been required but the research scope of this review was supported by 1) grants from the Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) (PI18/00411, PI19/01408 and CP20/00070), integrated in the

Plan Nacional de I+D+I and co-funded by the ISCIII Subdirección General de Evaluación and the Fondo Europeo de Desarrollo Regional; 2) a grant from the Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (project 25/2016); 3) from the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement number 823854 (INNOVA4TB); and 4) Innovative Medicines Initiative 2 Joint Undertaking under grant agreement No 820755 (Value-Dx). This Joint Undertaking receives support from the European Union's Horizon 2020 Research and Innovation Programme and EFPIA and bioMérieux SA, Janssen Pharmaceutica NV, Accelerate Diagnostics S.L., Abbott, Bio-Rad Laboratories, BD Switzerland Sàrl and The Wellcome Trust Limited.

References

- 1 GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 2020; 396: 1204–1222.
- 2 World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2020. WHO, Geneva, 2020.
- 3 Chakaya J, Khan M, Ntoumi F, *et al.* Global Tuberculosis Report 2020 – Reflections on the Global TB burden, treatment and prevention efforts. *Int J Infect Dis* 2021; 113: Suppl. 1, S7–S12.
- 4 World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2021. WHO, Geneva, 2021.
- 5 Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS). World Health Organization. <https://www.who.int/initiatives/global-influenza-surveillance-and-response-system/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 6 International Severe Acute Respiratory and emerging Infection Consortium. <https://isaric.org/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 7 Zhu N, Zhang D, Wang W, *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382: 727–733.
- 8 Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Geneva: World Health Organization, 2020. [https://www.who.int/publications/i/item/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/report-of-the-who-china-joint-mission-on-coronavirus-disease-2019-(covid-19)) Date last accessed: 5 July 2022.
- 9 Fronteira I, Sidat M, Magalhaes JP, *et al.* The SARS-CoV-2 pandemic: a syndemic perspective. *One Health* 2021; 12: 100228.
- 10 World Health Organization. 2019. Noncommunicable diseases and air pollution. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/346416/WHO-EURO-2019-3641-43400-60937-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Date last accessed: 5 July 2022.
- 11 Byng-Maddick R, Noursadeghi M. Does tuberculosis threaten our ageing populations? *BMC Infect Dis* 2016; 16: 119.
- 12 Lacoma A, Mateo L, Blanco I, *et al.* Impact of host genetics and biological response modifiers on respiratory tract infections. *Front Immunol* 2019; 10: 1013.
- 13 Regulation (EU) 2017/746 of the European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU. <https://op.europa.eu/s/waFx/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 14 Chau CH, Strobe JD, Figg WD. COVID-19 clinical diagnostics and testing technology. *Pharmacotherapy* 2020; 40: 857–868.
- 15 The World Health Organization Essential Medicines List Antibiotic Book. 2022. <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/the-who-essential-medicines-list-antibiotic-book/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 16 Torres A, Cilloniz C, Niederman MS, *et al.* Pneumonia. *Nat Rev Dis Primers* 2021; 7: 25.
- 17 Nhung NTT, Amini H, Schindler C, *et al.* Short-term association between ambient air pollution and pneumonia in children: a systematic review and meta-analysis of time-series and case-crossover studies. *Environ Pollut* 2017; 230: 1000–1008.
- 18 Gentilotti E, De Nardo P, Cremonini E, *et al.* Diagnostic accuracy of point-of-care tests in acute community-acquired lower respiratory tract infections. A systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2022; 28: 13–22.
- 19 D'Amato M, Rea G, Carnevale V, *et al.* Assessment of thoracic ultrasound in complementary diagnosis and in follow up of community-acquired pneumonia (CAP). *BMC Medical Imaging* 2017; 17: 52.
- 20 Shi H, Han X, Jiang N, *et al.* Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2020; 20: 425–434.
- 21 Drain PK, Bajema KL, Dowdy D, *et al.* Incipient and subclinical tuberculosis: a clinical review of early stages and progression of infection. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31: e00021–18.
- 22 Migliori GB, Ong CWM, Petrone L, *et al.* The definition of tuberculosis infection based on the spectrum of tuberculosis disease. *Breathe (Sheff)* 2021; 17: 210079.
- 23 WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: Diagnosis – Rapid diagnostics for tuberculosis detection 2021 update. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240029415/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 24 American Academy of Pediatrics Subcommittee on Diagnosis and Management of Bronchiolitis. Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics* 2006; 118: 1774–1793.
- 25 Ralston S, Lieberthal AS, Meissner HC, *et al.* Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics* 2014; 134: e1474–e1502.

- 26 Teijeiro A, Gómez RM. Wheezing-related relevant factors and the role of viral bronchiolitis. *Front Allergy* 2021; 2: 726972.
- 27 Bronchiectasis. European Respiratory Society, 2018. <https://books.ersjournals.com/content/bronchiectasis>
- 28 King PT, Holdsworth SR, Freezer NJ, et al. Microbiologic follow-up study in adult bronchiectasis. *Respir Med* 2007; 101: 1633–1638.
- 29 Polverino E, Goeminne PC, McDonnell MJ, et al. European Respiratory Society guidelines for the management of adult bronchiectasis. *Eur Respir J* 2017; 50: 1700629.
- 30 Aliberti S, Goeminne PC, O'Donnell AE, et al. Criteria and definitions for the radiological and clinical diagnosis of bronchiectasis in adults for use in clinical trials: international consensus recommendations. *Lancet Respir Med* 2022; 10: 298–306.
- 31 Hill AT, Haworth CS, Aliberti S, et al. Pulmonary exacerbation in adults with bronchiectasis: a consensus definition for clinical research. *Eur Respir J* 2017; 49: 1700051.
- 32 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. 2022 Report. Available from: <https://goldcopd.org/2022-gold-reports-2/>
- 33 Boaventura R, Sibila O, Agusti A, et al. Treatable traits in bronchiectasis. *Eur Respir J* 2018; 52: 1801269.
- 34 Soler-Cataluña JJ, Piñera P, Trigueros JA, et al. Spanish COPD guidelines (GesEPOC) 2021 update diagnosis and treatment of COPD exacerbation syndrome. *Arch Bronconeumol* 2022; 58: 159–170.
- 35 McDonald VM, Clark VL, Cordova-Rivera L, et al. Targeting treatable traits in severe asthma: a randomised controlled trial. *Eur Respir J* 2020; 55: 1901509.
- 36 Martínez-García MA, Soler-Cataluña J-J, Perpiñá-Tordera M, et al. Factors associated with lung function decline in adult patients with stable non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Chest* 2007; 132: 1565–1572.
- 37 Sethi S, Maloney J, Grove L, et al. Airway inflammation and bronchial bacterial colonization in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 991–998.
- 38 Prat C, Lacoma A. Bacteria in the respiratory tract – how to treat? Or do not treat? *Int J Infect Dis* 2016; 51: 113–122.
- 39 Daley CL, Iaccarino JM, Lange C, et al. Treatment of nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an official ATS/ERS/ESCMID/IDSA clinical practice guideline. *Eur Respir J* 2020; 56: 2000535.
- 40 Prevots DR, Loddenkemper R, Sotgiu G, et al. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease: an increasing burden with substantial costs. *Eur Respir J* 2017; 49: 1700374.
- 41 Pan S-W, Shu C-C, Lee C-C, et al. Role of soluble T-cell immunoglobulin mucin domain-3 in differentiating nontuberculous mycobacterial lung disease from pulmonary colonization. *Arch Bronconeumol* 2022; 58: 547–553.
- 42 Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, et al. Tools and techniques for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 detection. *Clin Microbiol Rev* 2021; 34: e00228-20.
- 43 Ren A, Sohaei D, Ulndreaj A, et al. Ultrasensitive assay for saliva-based SARS-CoV-2 antigen detection. *Clin Chem Lab Med* 2022; 60: 771–777.
- 44 Wölfl-Duchek M, Bergmann F, Jorda A, et al. Sensitivity and specificity of SARS-CoV-2 rapid antigen detection tests using oral, anterior nasal, and nasopharyngeal swabs: a diagnostic accuracy study. *Microbiol Spectr* 2022; 10: e0202921.
- 45 LaCourse SM, Seko E, Wood R, et al. Diagnostic performance of oral swabs for non-sputum based TB diagnosis in a TB/HIV endemic setting. *PLoS One* 2022; 17: e0262123.
- 46 Molina-Moya B, Ciobanu N, Hernandez M, et al. Molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* in oral mucosa from patients with presumptive tuberculosis. *J Clin Med* 2020; 9: 4124.
- 47 Summer S, Schmidt R, Herdina AN, et al. Detection of SARS-CoV-2 by real-time PCR under challenging pre-analytical conditions reveals independence of swab media and cooling chain. *Sci Rep* 2021; 11: 13592.
- 48 Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med* 2020; 58: 1070–1076.
- 49 Zidovec Lepej S, Poljak M. Portable molecular diagnostic instruments in microbiology: current status. *Clin Microbiol Infect* 2020; 26: 411–420.
- 50 Rytter H, Jamet A, Coureuil M, et al. Which current and novel diagnostic avenues for bacterial respiratory diseases? *Front Microbiol* 2020; 11: 616971.
- 51 Murphy CN, Fowler R, Balada-Llasat JM, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for detection and quantification of agents of lower respiratory tract infection. *J Clin Microbiol* 2020; 58: e00128-20.
- 52 Leber AL, Lisby JG, Hansen G, et al. Multicenter evaluation of the QIAstat-Dx respiratory panel for detection of viruses and bacteria in nasopharyngeal swab specimens. *Clin Microbiol* 2020; 58: e00155-20.
- 53 van Asten SAV, Boers SA, de Groot JDF, et al. Evaluation of the Genmark ePlex® and QIAstat-Dx® respiratory pathogen panels in detecting bacterial targets in lower respiratory tract specimens. *BMC Microbiol* 2021; 21: 236.

- 54 Parčina M, Schneider UV, Visseaux B, *et al.* Multicenter evaluation of the QIAstat Respiratory Panel – a new rapid highly multiplexed PCR based assay for diagnosis of acute respiratory tract infections. *PLoS One* 2020; 15: e0230183.
- 55 Etienne EE, Nunna BB, Talukder N, *et al.* COVID-19 biomarkers and advanced sensing technologies for point-of-care (POC) diagnosis. *Bioengineering (Basel)* 2021; 8: 98.
- 56 Mehaffy C, Kruh-Garcia NA, Graham B, *et al.* Identification of *Mycobacterium tuberculosis* peptides in serum extracellular vesicles from persons with latent tuberculosis infection. *J Clin Microbiol*; 58: e00393-20.
- 57 Wang C, Liu M, Wang Z, *et al.* Point-of-care diagnostics for infectious diseases: from methods to devices. *Nano Today* 2021; 37: 101092.
- 58 Antoñanzas F, Juárez-Castelló CA, Rodríguez-Ibeas R. Using point-of-care diagnostic testing for improved antibiotic prescription: an economic model. *Health Econ Rev* 2021; 11: 29.
- 59 Prod'homme G, Durussel C, Greub G. A simple blood-culture bacterial pellet preparation for faster accurate direct bacterial identification and antibiotic susceptibility testing with the VITEK 2 system. *J Med Microbiol* 2013; 62: 773–777.
- 60 Stupar P, Opota O, Longo G, *et al.* Nanomechanical sensor applied to blood culture pellets: a fast approach to determine the antibiotic susceptibility against agents of bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect* 2017; 23: 400–405.
- 61 GISAID. Enabling rapid and open access to epidemic and pandemic virus data. <https://www.gisaid.org/about-us/mission/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 62 Oude Munnink BB, Worp N, Nieuwenhuijse DF, *et al.* The next phase of SARS-CoV-2 surveillance: real-time molecular epidemiology. *Nat Med* 2021; 27: 1518–1524.
- 63 WHO Consultation on the Global Genomic Surveillance Strategy for Pathogens with Pandemic and Epidemic Potential. <https://www.who.int/news-room/events/detail/2021/12/08/default-calendar/who-consultation-on-the-global-genomic-surveillance-strategy-for-pathogens-with-pandemic-and-epidemic-potential/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 64 Rakovitsky N, Frenk S, Kon H, *et al.* Fourier transform infrared spectroscopy is a new option for outbreak investigation: a retrospective analysis of an extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak in a neonatal intensive care unit. *J Clin Microbiol* 2020; 58: e00098-20.
- 65 Rogers GB, Wesselingh S. Precision respiratory medicine and the microbiome. *Lancet Respir Med* 2016; 4: 73–82.
- 66 Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, *et al.* The microbiome and the respiratory tract. *Annu Rev Physiol* 2016; 78: 481–504.
- 67 Tiew PY, Mac Aogáin M, Chotirmall SH. The current understanding and future directions for sputum microbiome profiling in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med* 2022; 28: 121–133.
- 68 Faner R, Sibila O, Agustí A, *et al.* The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *Eur Respir J* 2017; 49: 1602086.
- 69 Pinu FR, Beale DJ, Paten AM, *et al.* Systems biology and multi-omics integration: viewpoints from the metabolomics research community. *Metabolites* 2019; 9: 76.
- 70 Huang YJ, Erb-Downward JR, Dickson RP, *et al.* Understanding the role of the microbiome in chronic obstructive pulmonary disease: principles, challenges, and future directions. *Transl Res* 2017; 179: 71–83.
- 71 Janda JM, Abbott SL. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 2761–2764.
- 72 Knight R, Vrbanac A, Taylor BC, *et al.* Best practices for analysing microbiomes. *Nat Rev Microbiol* 2018; 16: 410–422.
- 73 Quince C, Walker AW, Simpson JT, *et al.* Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nat Biotechnol* 2017; 35: 833–844.
- 74 Rogers GB, Marsh P, Stressmann AF, *et al.* The exclusion of dead bacterial cells is essential for accurate molecular analysis of clinical samples. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 1656–1658.
- 75 MacAogáin M, Narayana JK, Tiew PY, *et al.* Integrative microbiomics in bronchiectasis exacerbations. *Nat Med* 2021; 27: 688–699.
- 76 Kosmides AK, Kamisoglu K, Calvano SE, *et al.* Metabolomic fingerprinting: challenges and opportunities. *Crit Rev Biomed Eng* 2013; 41: 205–221.
- 77 Nicholson JK, Lindon JC. Metabonomics. *Nature* 2008; 455: 1054–1056.
- 78 Dicker AJ, Huang J, Lonergan M, *et al.* The sputum microbiome, airway inflammation, and mortality in chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 2021; 147: 158–167.
- 79 Dicker AJ, Lonergan M, Keir HR, *et al.* The sputum microbiome and clinical outcomes in patients with bronchiectasis: a prospective observational study. *Lancet Respir Med* 2021; 9: 885–896.
- 80 Rogers GB, van der Gast CJ, Cuthbertson L, *et al.* Clinical measures of disease in adult non-CF bronchiectasis correlate with airway microbiota composition. *Thorax* 2013; 68: 731–737.
- 81 Mindt BC, DiGiandomenico A. Microbiome modulation as a novel strategy to treat and prevent respiratory infections. *Antibiotics (Basel)* 2022; 11: 474.

- 82 Matthews H, Hanison J, Nirmalan N. “Omics”-informed drug and biomarker discovery: opportunities, challenges and future perspectives. *Proteomes* 2016; 4: 28.
- 83 Kontsevaya I, Lange C, Comella-del-Barrio P, *et al.* Perspectives for systems biology in the management of tuberculosis. *Eur Respir Rev* 2021; 30: 200377.
- 84 Olivier I, Loots DT. 2011. An overview of tuberculosis treatments and diagnostics. What role could metabolomics play. *J Cell Tissue Res* 2011; 11: 2655-2671.
- 85 Haas CT, Roe JK, Pollara G, *et al.* Diagnostic ‘omics’ for active tuberculosis. *BMC Med* 2016; 14: 37.
- 86 Izquierdo-Garcia JL, Comella-del-Barrio P, Campos-Olivas R, *et al.* Discovery and validation of an NMR-based metabolomic profile in urine as TB biomarker. *Sci Rep* 2020; 10: 22317.
- 87 Comella-del-Barrio P, Izquierdo-Garcia JL, Gautier J, *et al.* Urine NMR-based TB metabolic fingerprinting for the diagnosis of TB in children. *Sci Rep* 2021; 11: 12006.
- 88 den Hartog I, Zwep LB, Vestjens SMT, *et al.* Metabolomic profiling of microbial disease etiology in community-acquired pneumonia. *PLoS One* 2021; 16: e0252378.
- 89 Izquierdo-García JL, Nin N, Cardinal-Fernandez P, *et al.* Metabolomic profile of acute respiratory distress syndrome of different etiologies. *Intensive Care Med* 2019; 45: 1318–1320.
- 90 Slupsky CM, Cheypesh A, Chao DV, *et al.* *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* pneumonia induce distinct metabolic responses. *J Proteome Res* 2009; 8: 3029–3036.
- 91 Karakioulaki M, Stolz D. Biomarkers in pneumonia – beyond procalcitonin. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 2004.
- 92 Carlton HC, Savović J, Dawson S, *et al.* Novel point-of-care biomarker combination tests to differentiate acute bacterial from viral respiratory tract infections to guide antibiotic prescribing: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 2021; 27: 1096–1108.
- 93 Haag E, Molitor A, Gregoriano C, *et al.* The value of biomarker-guided antibiotic therapy. *Expert Rev Mol Diagn* 2020; 20: 829–840.
- 94 Pérez-López A, Irwin A, Rodrigo C, *et al.* Role of C reactive protein and procalcitonin in the diagnosis of lower respiratory tract infection in children in the outpatient setting. *BMJ* 2021; 373: n1409.
- 95 Tabernero E, Ruiz LA, España PP, *et al.* COVID-19 in young and middle-aged adults: predictors of poor outcome and clinical differences. *Infection* 2022; 50: 179–189.
- 96 Riou C, du Bruyn E, Stek C, *et al.* Relationship of SARS-CoV-2-specific CD4 response to COVID-19 severity and impact of HIV-1 and tuberculosis coinfection. *J Clin Invest* 2021; 131: e149125.
- 97 Aabye MG, Latorre I, Diaz J, *et al.* Dried plasma spots in the diagnosis of tuberculosis: IP-10 release assay on filter paper. *Eur Respir J* 2013; 42: 495–503.
- 98 Latorre I, Díaz J, Mialdea I, *et al.* IP-10 is an accurate biomarker for the diagnosis of tuberculosis in children. *J Infect* 2014; 69: 590–599.
- 99 Ruhwald M, Dominguez J, Latorre I, *et al.* A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with *M. tuberculosis*. *Tuberculosis (Edinb)* 2011; 91: 260–267.
- 100 Villar-Hernández R, Latorre I, Mínguez S, *et al.* Use of IFN- γ and IP-10 detection in the diagnosis of latent tuberculosis infection in patients with inflammatory rheumatic diseases. *J Infect* 2017; 75: 315–325.
- 101 Lydon EC, Ko ER, Tsalik EL. The host response as a tool for infectious disease diagnosis and management. *J Infect* 2017; 75: 315–325.
- 102 Ross MH, Zick BL, Tsalik EL. Host-based diagnostics for acute respiratory infections. *Clin Ther* 2019; 41: 1923–1938.
- 103 Herberg JA, Kaforou M, Wright VJ, *et al.* Diagnostic test accuracy of a 2-transcript host RNA signature for discriminating bacterial vs viral infection in febrile children. *JAMA* 2016; 316: 835–845.
- 104 Channon-Wells S, O'Connor D. Host gene signature shows promise to distinguish bacterial and viral infections. *Lancet Digit Health* 2021; 3: e465–e466.
- 105 Bhattacharya S, Rosenberg AF, Peterson DR, *et al.* Transcriptomic biomarkers to discriminate bacterial from nonbacterial infection in adults hospitalized with respiratory illness. *Sci Rep* 2017; 7: 6548.
- 106 Suarez NM, Bunsow E, Falsey AR, *et al.* Superiority of transcriptional profiling over procalcitonin for distinguishing bacterial from viral lower respiratory tract infections in hospitalized adults. *J Infect Dis* 2015; 212: 213–222.
- 107 Woods CW, McClain MT, Chen M, *et al.* A host transcriptional signature for presymptomatic detection of infection in humans exposed to influenza H1N1 or H3N2. *PLoS One* 2013; 8: e52198.
- 108 Davenport EE, Antrobus RD, Lillie PJ, *et al.* Transcriptomic profiling facilitates classification of response to influenza challenge. *J Mol Med (Berl)* 2015; 93: 105–114.
- 109 Zak DE, Penn-Nicholson A, Scriba TJ, *et al.* A blood RNA signature for tuberculosis disease risk: a prospective cohort study. *Lancet* 2016; 387: 2312–2322.
- 110 Zheng MZM, Wakim LM. Tissue resident memory T cells in the respiratory tract. *Mucosal Immunol* 2022; 15: 379–388.
- 111 Ogongo P, Porterfield JZ, Leslie A. Lung tissue resident memory T-cells in the immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Front Immunol* 2019; 10: 992.

- 112 Grau-Expósito J, Sánchez-Gaona N, Massana N, *et al.* Peripheral and lung resident memory T cell responses against SARS-CoV-2. *Nat Commun* 2021; 12: 3010.
- 113 Luangrath MA, Schmidt ME, Hartwig SM, *et al.* Tissue-resident memory T cells in the lungs protect against acute respiratory syncytial virus infection. *Immunohorizons* 2021; 5: 59–69.
- 114 Ogongo P, Tezera LB, Ardain A, *et al.* Tissue-resident-like CD4⁺ T cells secreting IL-17 control *Mycobacterium tuberculosis* in the human lung. *J Clin Invest* 2021; 131: e142014.
- 115 Yang Q, Zhang M, Chen Q, *et al.* Cutting edge: characterization of human tissue-resident memory T cells at different infection sites in patients with tuberculosis. *J Immunol* 2020; 204: 2331–2336.
- 116 Arts RJW, Moorlag S, Novakovic B, *et al.* BCG vaccination protects against experimental viral infection in humans through the induction of cytokines associated with trained immunity. *Cell Host Microbe* 2018; 23: 89–100.e5.
- 117 Covián C, Ríos M, Berríos-Rojas RV, *et al.* Induction of trained immunity by recombinant vaccines. *Front Immunol* 2021; 11: 611946.
- 118 Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Domínguez-Andrés J, *et al.* Trained immunity: a tool for reducing susceptibility to and the severity of SARS-CoV-2 infection. *Cell* 2020; 181: 969–977.
- 119 O'Neill LAJ, Netea MG. BCG-induced trained immunity: can it offer protection against COVID-19? *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 335–337.
- 120 Pittet LF, Messina NL, Gardiner K, *et al.* BCG vaccination to reduce the impact of COVID-19 in healthcare workers: protocol for a randomised controlled trial (BRACE trial). *BMJ Open* 2021; 11: e052101.
- 121 Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsilika M, Moorlag S, *et al.* Activate: randomized clinical trial of BCG vaccination against infection in the elderly. *Cell* 2020; 183: 315–323.e9.
- 122 Hancock RE, Nijnik A, Philpott DJ. Modulating immunity as a therapy for bacterial infections. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 243–254.
- 123 Kaufmann SHE, Dorhoi A, Hotchkiss RS, *et al.* Host-directed therapies for bacterial and viral infections. *Nat Rev Drug Discov* 2018; 17: 35–56.
- 124 van de Veerdonk FL, Giamarellos-Bourboulis E, Pickkers P, *et al.* A guide to immunotherapy for COVID-19. *Nat Med* 2022; 28: 39–50.
- 125 Zumla A, Rao M, Wallis RS, *et al.* Host-directed therapies for infectious diseases: current status, recent progress, and future prospects. *Lancet Infect Dis* 2016; 16: e47–e63.
- 126 Nardelli P, Jimenez-Carretero D, Bermejo-Pelaez D, *et al.* Pulmonary artery-vein classification in CT images using deep learning. *IEEE Trans Med Imaging* 2018; 37: 2428–2440.
- 127 Yan C, Wang L, Lin J, *et al.* A fully automatic artificial intelligence-based CT image analysis system for accurate detection, diagnosis, and quantitative severity evaluation of pulmonary tuberculosis. *Eur Radiol* 2022; 32: 2188–2199.
- 128 Serena Low WC, Chuah JH, Tee CATH, *et al.* An overview of deep learning techniques on chest X-ray and CT scan identification of COVID-19. *Comput Math Methods Med* 2021; 2021: 5528144.
- 129 Frix A-N, Cousin F, Refaee T, *et al.* Radiomics in lung diseases imaging: state-of-the-art for clinicians. *J Pers Med* 2021; 11: 602.
- 130 Pizzi AD, Chiarelli AM, Chiacchiaretta P, *et al.* Radiomics-based machine learning differentiates “ground-glass” opacities due to COVID-19 from acute non-COVID-19 lung disease. *Sci Rep* 2021; 11: 17237.
- 131 Feng B, Chen X, Chen Y, *et al.* Radiomics nomogram for preoperative differentiation of lung tuberculoma from adenocarcinoma in solitary pulmonary solid nodule. *Eur J Radiol* 2020; 128: 109022.
- 132 Chen L, Rezaei T. A new optimal diagnosis system for coronavirus (COVID-19) diagnosis based on Archimedes optimization algorithm on chest X-ray images. *Comput Intell Neurosci* 2021; 2021: 7788491.
- 133 Chen AC, Pastis NJ, Mahajan AK, Jr, *et al.* Robotic bronchoscopy for peripheral pulmonary lesions: a multicenter pilot and feasibility study (BENEFIT). *Chest* 2021; 159: 845–852.
- 134 Ishiwata T, Gregor A, Inage T, *et al.* Bronchoscopic navigation and tissue diagnosis. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2020; 68: 672–678.
- 135 Vijayarangan S, Suresh P, Sp P, *et al.* Robust modelling of reflectance pulse oximetry for SpO₂ estimation. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc* 2020; 2020: 374–377.
- 136 Patel Z, Franz CK, Bharat A, *et al.* Diaphragm and phrenic nerve ultrasound in COVID-19 patients and beyond. *J Ultrasound Med* 2022; 41: 285–299.
- 137 Ong CWM, Migliori GB, Raviglione M, *et al.* Epidemic and pandemic viral infections: impact on tuberculosis and the lung. *Eur Respir J* 2020; 56: 2001727.
- 138 Taboada M, Moreno E, Cariñena A, *et al.* Quality of life, functional status, and persistent symptoms after intensive care of COVID-19 patients. *Br J Anaesth* 2021; 126: e110–e113.
- 139 Chams N, Chams S, Badran R, *et al.* COVID-19: a multidisciplinary review. *Front Public Health* 2020; 8: 383.
- 140 One health. World Health Organization. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/health-policy/one-health/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 141 Naylor NR, Atun R, Zhu N, *et al.* Estimating the burden of antimicrobial resistance: a systematic literature review. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018; 7: 58.

- 142 Ruhwald M, Carmona S, Pai M. Learning from COVID-19 to reimagine tuberculosis diagnosis. *Lancet Microbe* 2021; 2: e169–e170.
- 143 Stojanovic Z, Prat-Aymerich C. Impact of COVID-19 on tuberculosis: turning challenges into opportunities. *Enf Emerg* 2021; 20: 151–154.
- 144 FIND. Landscape of benchtop immunoassay platforms for near patient testing: The MAPDx Program. https://www.finddx.org/wp-content/uploads/2019/04/Landscape-benchtop-immunoassay-platforms-201890405_FINAL_v2.pdf Date last accessed: 5 July 2022.
- 145 Goossens H, Derde L, Horby P, *et al.* The European clinical research response to optimise treatment of patients with COVID-19: lessons learned, future perspective, and recommendations. *Lancet Infect Dis* 2022; 22: e153–e158.
- 146 van der Pol S, Rojas Garcia P, Antoñanzas Villar F, *et al.* Health-economic analyses of diagnostics: guidance on design and reporting. *PharmacoEconomics* 2021; 39: 1355–1363.
- 147 García-Vidal C, Sanjuán G, Puerta-Alcalde P, *et al.* Artificial intelligence to support clinical decision-making processes. *EBioMedicine* 2019; 46: 27–29.
- 148 Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, *et al.* The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data* 2016; 3: 160018.
- 149 European Commission, Directorate-General for Research and Innovation, Maxwell L. Maximising investments in health research: FAIR data for a coordinated COVID-19 response: workshop report; 2022. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/f023acef-ba07-11ec-b6f4-01aa75ed71a1/language-en/format-PDF/> Date last accessed: 5 July 2022.
- 150 US Food and Drug Administration. 21st Century Cures Act. <https://www.fda.gov/regulatory-information/selected-amendments-fdc-act/21st-century-cures-act/> Date last accessed: 5 July 2022.

10.10. ANEXO X. Becas otorgadas y ayudas al grupo de investigación

- ✓ Beca Sapiens de intensificació (2018)
- ✓ CIBERES Intramuros (2018): 60.000€
- ✓ Beca becario de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica [SEPAR] (2019): 25.000€
- ✓ Beca de proyecto de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica [SEPAR] (2019): 12.000€
- ✓ Beca becari de la Societat Catalana de Pneumologia [SOCAP] (2020): 12.000€
- ✓ Menarini (2020-2021): 50.000€
- ✓ Beca Llegat (2023): 139.740€