

---

# **INFLUENCIA DE LA MICROBIOTA RESPIRATORIA E INTESTINAL EN LA SUSCEPTIBILIDAD Y SEVERIDAD DE INFECCIONES RESPIRATORIAS POR VIRUS. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA.**

---

Autora: Paula Garcia Faus

Tutora: Paula Carrasco Espí



Facultad de Ciencias de la Salud. Grado en Medicina.

Castellón de la Plana, 19 de mayo de 2021



## **TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG) - MEDICINA**

**EL/LA PROFESOR/A TUTOR/A** hace constar su **AUTORIZACIÓN** para la Defensa Pública del Trabajo de Fin de Grado y **CERTIFICA** que el/la estudiante lo ha desarrollado a lo largo de 6 créditos ECTS (150 horas)

**TÍTULO del TFG: INFLUENCIA DE LA MICROBIOTA RESPIRATORIA E INTESTINAL EN LA SUSCEPTIBILIDAD Y SEVERIDAD DE INFECCIONES RESPIRATORIAS POR VIRUS. UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA.**

**ALUMNO/A:** Paula Garcia Faus

**DNI:** 21699503S

**PROFESOR/A TUTOR/A:** Paula Carrasco Espí

Fdo (Tutor/a): .....

**COTUTOR/A INTERNO/A (Sólo en casos en que el/la Tutor/a no sea profesor/a de la Titulación de Medicina):**

Fdo (CoTutor/a interno): .....

## ÍNDICE

RESUMEN/ ABSTRACT	1
EXTENDED SUMMARY	3
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>6</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>12</b>
3.1 Estrategia de búsqueda	12
3.2 Criterios de selección de los estudios	15
3.3 Extracción de datos	16
3.4 Evaluación de la calidad metodológica	17
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>18</b>
4.1 Estudios encontrados en la búsqueda	18
4.2 Características de los estudios incluidos	20
4.3 Síntesis de los resultados	26
4.4 Riesgo de sesgo	30
<b>5. DISCUSIÓN</b>	<b>32</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>40</b>
<b>7. REFERENCIAS</b>	<b>42</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>46</b>

## RESUMEN

**Introducción:** En la actualidad, las infecciones respiratorias víricas son una causa importante de morbilidad en el mundo. Con el fin de entender mejor el impacto interindividual causado por los virus, las investigaciones actuales estudian el papel de la microbiota.

**Objetivos:** Investigar la relación entre la composición de la microbiota respiratoria e intestinal con la susceptibilidad y severidad de algunas de las infecciones respiratorias víricas más importantes.

**Metodología:** Se realizó una búsqueda estructurada en PubMed y Scopus seleccionando los estudios que cumplieran los objetivos y criterios de inclusión. Para sintetizar los resultados se elaboró una tabla de extracción de datos y para evaluar la calidad metodológica se utilizó la herramienta Escala Newcastle-Ottawa (NOS).

**Resultados:** La revisión incluye un total de 11 estudios, 7 prospectivos y 4 transversales. La mayoría de los estudios incluidos encuentran relación entre la microbiota y la susceptibilidad y la gravedad a las infecciones víricas encontrando tanto efectos protectores como de aumento de riesgo. El riesgo de sesgo fue mayor en los estudios transversales que los prospectivos. Se observó gran variabilidad entre los estudios en cuanto a características de la población, definición de severidad, periodo de seguimiento, tipo de muestra de microbiota, técnicas de análisis de microbiota y abordajes en el análisis estadístico.

**Conclusión:** Debido a la heterogeneidad en los resultados de los estudios no es posible establecer bacterias específicas que se hayan asociado de forma consistente entre estudios. Son necesarias futuras investigaciones, con mejoras en la metodología, que permitan profundizar en el conocimiento de la relación entre microbiota e infecciones respiratorias víricas.

**Palabras clave:** Microbiota, rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial, SARS-CoV2

## ABSTRACT

**Introduction:** Nowadays, viral respiratory infections are a major cause of morbidity and mortality worldwide. In order to better understand the inter-individual impact caused by viruses, current research is studying the role of the microbiota.

**Objectives:** The aim is to investigate the relationship between the composition of the respiratory and intestinal microbiota with the susceptibility and severity of some of the most important viral respiratory infections.

**Methodology:** A structured search was carried out in PubMed and Scopus, selecting studies that met the objectives and inclusion criteria. A data extraction table was used to synthesise the results and the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) tool was used to assess methodological quality.

**Results:** The review includes a total of 11 studies, 7 prospective and 4 cross-sectional. Most of the included studies found a relationship between microbiota and susceptibility and severity to viral infections, finding both protective and risk-increasing effects. The risk of bias was higher in cross-sectional studies than in prospective studies. Large variability was observed between studies in terms of population characteristics, severity definition, follow-up period, type of microbiota sample, microbiota analysis techniques and statistical analysis approaches.

**Conclusion:** Due to heterogeneity in study results it is not possible to establish specific bacteria that have been consistently associated between studies. Future research is needed, with improvements in methodology, to deepen our understanding of the relationship between microbiota and viral respiratory infections.

**Key words:** Microbiota, rhinovirus, influenza, respiratory syncytial virus, SARS-CoV2

## **EXTEND SUMMARY**

### **Introduction**

Respiratory infections are considered to be one of the leading causes of death worldwide. Viruses are the most frequent aetiological agents and among the most prominent, due to their frequency, are respiratory syncytial virus, rhinovirus, influenza virus and SARS-CoV-2.

The impact of respiratory viral infections is diverse, as the host response to the same aetiological agent varies. Thus, the same virus can cause a self-limiting process with outpatient management or a severe process with inpatient management. These inter-individual differences have not been explained by focusing solely on the aetiological agent, so host characteristics, including the composition of the microbiota, come into play in the study. Therefore, a systematic review is needed to study the influence of the microbiota on susceptibility and severity of viral respiratory infections.

### **Objectives**

To evaluate the current scientific evidence on the relationship between the composition of the respiratory and intestinal microbiota and the predisposition and increased likelihood of severity of respiratory infections, in particular rhinovirus, influenza virus, respiratory syncytial virus and SARS-CoV2.

### **Methodology**

Regarding the methodology employed, a literature search was carried out in PubMed and Scopus. The selected studies had to focus on the objectives and study the relationship of the microbiota with the susceptibility and severity of viral respiratory infections. In addition, the selection of articles followed inclusion and exclusion criteria. After that, relevant information was extracted from each study using a summary table that included: author, year and country; study design and follow-up period; population characteristics; virus and virus diagnosis; stage of infection at baseline; type of microbiota sample; timing of microbiota analysis; microbiota analysis technique;

microbiota measures; exposure; outcome; effect; adjustments for confounding variables and sensitivity analysis. Finally, the methodological quality of the included studies was assessed using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS).

## **Results**

A total of 11 studies were included of which 7 were prospective and 4 cross-sectional. The articles were divided into those studying the relationship between microbiota and susceptibility to infections and those studying the relationship between microbiota and severity. In total, 3 prospective studies focused on susceptibility of which 2 agreed on the predisposing effect of *Prevotella spp.* to influenza infection. However, no agreement was found with the bacteria that showed a protective effect to infection. On the other hand, 8 studies focused on severity and/or complications, 4 prospective and 4 cross-sectional. Except one, all of these studies found protective or predisposing effects on complications or severity of various bacteria, with no overlap.

In terms of limitations and biases, some studies were notable for low sample size and self-selection biases. The assessment of methodological quality with the NOS scale revealed that many of the cross-sectional studies had biases in the selection process and comparability. On the other hand, prospective studies were generally more satisfactory in this aspect.

Moreover, the included studies were very heterogeneous finding differences in design type, population characteristics, definition of severity, follow-up period, sample collection methods, measures of microbiota and statistical analysis approaches. This heterogeneity precluded a meta-analysis, so a descriptive analysis of the results was performed.

## **Conclusion**

The evidence found in the present review suggests a relationship between microbiota and viral respiratory infections. However, the heterogeneity of the studies does not allow us to understand what this relationship looks like and therefore to establish which microorganisms play an important role.

To better understand the influence of the microbiota on viral respiratory infections, more studies with larger sample sizes, longer follow-up periods, different sampling at different points in the follow-up period and better methodological quality are needed to provide more solid scientific evidence. Also, to reach a more global understanding, the joint study of the respiratory and gut microbiota and the role of other components of the microbiota such as viruses and fungi is recommended.

## 1. INTRODUCCIÓN

En el cuerpo humano conviven trillones de microorganismos, esto supone un número incluso mayor de microorganismos que de células humanas. Esta comunidad de microorganismos, incluyendo bacterias, virus y hongos, se engloba dentro del término microbiota (1).

Los términos microbiota y microbioma se usan indistintamente, pero presentan alguna diferencia. Mientras que la microbiota hace referencia a los microorganismos asociados a los humanos, el microbioma incluye a estos microorganismos y a sus genes (2). En los últimos años ha habido grandes progresos en el estudio de ambos, ya que tradicionalmente para caracterizar la microbiota se cultivaban los microorganismos, pero la mayoría de estos no crecen en cultivos. En la actualidad, para caracterizar el microbioma se utilizan técnicas moleculares de secuenciación, siendo la más extendida la secuenciación masiva del gen que codifica la subunidad 16S del ARNr (3).

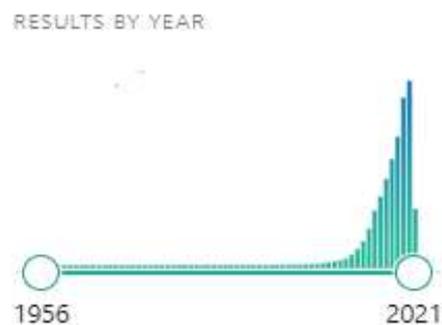
Los microorganismos que conforman la microbiota están presentes en la piel y en las mucosas del tracto respiratorio, vagina y aparato digestivo. En cada una de estas localizaciones los microbios son característicos y diferentes, adaptándose a las condiciones del ambiente en que habitan (4) y aportando un papel fundamental en la inmunidad y el metabolismo del cuerpo humano. Sin embargo, algunos de estos microorganismos están relacionados con enfermedades (5).

El tracto gastrointestinal es la parte del cuerpo humano más colonizada por microorganismos y, a su vez, la más estudiada. En concreto la microbiota intestinal alberga una carga bacteriana de  $10^4$ . En contraposición, el tracto respiratorio es una de las partes menos colonizadas por microbiota en los humanos, con 100 bacterias por cada 1000 células (6). A pesar de encontrarse anatómicamente separados, la mucosa del aparato digestivo y la mucosa respiratoria están comunicadas por el conocido "gut lung axis". Así, las microbiotas de ambos aparatos están conectadas, interviniendo ambas en las respuestas inmunitarias contra las enfermedades respiratorias (7). De este modo, fragmentos y metabolitos derivados de la microbiota intestinal llegan al pulmón a través de la circulación sistémica, y actúan como moléculas de señalización induciendo respuestas inmunes. Además, las bacterias intestinales se encargan de la activación de mecanismos implicados en la defensa antiviral, como los interferones (INFs) y transductor de señal y activador de transcripción-1 (STAT1).

Consecuentemente, se ha visto que la alteración de la microbiota intestinal puede derivar en respuestas inmunes alteradas contra las infecciones respiratorias (8).

Para el estudio de la microbiota respiratoria, se obtienen muestras mediante técnicas no invasivas, como el frotis con torundas nasofaríngeas, y mediante técnicas más complejas que son invasivas (9). En cambio, para la microbiota intestinal se utiliza como muestra las heces. Estos estudios revelan que la mayoría de microorganismos corresponden a bacterias siendo en ambas localizaciones la filogenia bacteriana similar ya que en ambos están presentes los *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (10). En la microbiota intestinal predominan los filos *Bacteroidetes* (25%) y *Firmicutes* (60%) y en menor medida *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria* y *Spirochaetes*. En la microbiota pulmonar también predominan *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, seguidos por *Proteobacteria* y *Actinobacteria* (4,11).

En la comunidad científica, el interés en el estudio de la microbiota ha aumentado en los últimos años. Un claro ejemplo es el “Human Microbiome Project” que pretende estudiar muchas de las incógnitas alrededor de la microbiota (12). Otro dato que refleja este interés creciente es que al introducir el término “microbiota” en el buscador de pubmed se objetiva una tendencia en aumento del número de artículos publicados (figura 1).



**Figura 1:** Gráfica con el número de resultados de “microbiota” por año en PubMed.

Este interés en la microbiota ha ido unido a la motivación de relacionar la microbiota con las enfermedades, entre ellas las enfermedades respiratorias. Por ejemplo, se ha visto que cambios en la microbiota de las vías respiratorias están asociados a la incidencia y gravedad en el asma (13). Otro ejemplo lo encontramos en la fibrosis quística, enfermedad en la que se ha evidenciado disbiosis en la microbiota respiratoria y digestiva (14). De manera similar ocurre en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, en la que se ha demostrado que la microbiota respiratoria contribuye a la progresión de la enfermedad y se ha observado que la microbiota intestinal es distinta a los sujetos sanos (15).

Dentro de las enfermedades respiratorias destacan las infecciones respiratorias agudas por ser una causa muy frecuente de morbilidad en el mundo. De hecho,

la Organización Mundial de la Salud incluye las infecciones de las vías respiratorias inferiores como una de las principales causas de defunción a nivel mundial en el 2019 (16). En concreto, los virus representan la causa más frecuente de infección respiratoria. Entre los virus más comúnmente asociados a infección respiratoria se encuentran el virus respiratorio sincitial (VRS), el rinovirus, y los virus de la gripe (17). Además, cabe destacar la aparición de un nuevo coronavirus, el SARS-CoV-2, causante de la actual pandemia de COVID-19 a nivel internacional (18).

En primer lugar, la gripe está causada por el virus influenza, siendo los más importantes el virus A (H1N1 y H3N2) y el virus B. Según el Centro Nacional de Epidemiología, en España durante la temporada 2019-2020 la gripe tuvo un impacto moderado (menor que las dos temporadas anteriores) ocasionando 619.000 casos confirmados en Atención Primaria y 27.700 hospitalizaciones, el 47% de estas en mayores de 64 años de edad. Además, causó 1800 ingresos en unidades de cuidados intensivos y 3900 muertes atribuibles a la gripe (19).

En cuanto al VRS, es la causa principal de bronquilitis. Se calcula que en España estas infecciones originan anualmente entre 15.000 y 20.000 visitas pediátricas de urgencia y de 7.000 a 14.000 hospitalizaciones, siendo la causa más frecuente de hospitalización en menores de 1 año. Además, se estima que fallecen entre 70 y 250 niños al año a causa de infección por VRS. Por otro lado, la infección en niños mayores o adultos es asintomática o se manifiesta con un resfriado común, sin embargo en pacientes inmunocomprometidos puede ser grave (20).

Por otro lado, el principal causante del resfriado común es el rinovirus, que constituye el patógeno más común en los humanos. En España se estima que el 21% de las personas se resfría tres o más veces al año. A pesar de ser una enfermedad leve y autolimitada, destaca por ser la más extendida en el mundo y ser una de las principales causas de absentismo laboral y escolar ya que los síntomas pueden llegar a ser bastante molestos (21).

Finalmente, el virus SARS-CoV2 ha causado la pandemia mundial actual declarada desde marzo de 2019. Este virus puede causar cuadros clínicos que van desde el resfriado común con hasta casos más graves como los producidos por los virus del Síndrome Respiratorio Agudo Grave. Según los datos de la OMS, desde la detección de los primeros casos hasta abril de 2021 se han confirmado a nivel global al menos

138.411.980 casos y 2.974.642 fallecimientos a causa de esta infección. En concreto, en España ha causado un total 3.604.799 casos y 79.339 muertos (22,23)

Así pues, la gravedad de la enfermedad causada por los virus respiratorios es diversa. Por un lado, son causantes de procesos leves y autolimitados que se manejan ambulatoriamente. Sin embargo, también pueden derivar en procesos más graves que requieren hospitalización particularmente en grupos de edad extremos. De hecho, en menores de dos años constituyen una de las principales causas de consulta a Atención Primaria y de hospitalización (24).

De este modo, tradicionalmente, se ha descrito al agente etiológico vírico como el principal causante de las infecciones virales respiratorias. Sin embargo, en la actualidad hay evidencia que un mismo agente etiológico tiene un impacto diferente en el huésped. En este sentido, en los últimos años se han realizado estudios centrados en identificar la relación entre la microbiota del huésped y la variabilidad en la respuesta a las infecciones respiratorias virales (25).

En esta relación entre microbiota e infección viral, resulta complejo determinar la causa o efecto. En otras palabras, es confuso determinar si la composición de la microbiota del huésped influye en las infecciones virales, o más bien al revés, las infecciones virales cambian la composición de la microbiota (26). De este modo, algunos estudios han estudiado como bacterias de la microbiota pueden conducir a mayor susceptibilidad y severidad de las infecciones virales respiratorias. Por otro lado, estudios diferentes se han centrado en cómo las infecciones virales respiratorias pueden producir cambios en la microbiota (27). En esta revisión, nos centraremos en cómo la microbiota está relacionada con el aumento de susceptibilidad y gravedad en las infecciones respiratorias virales

Se ha propuesto que la microbiota respiratoria puede llegar a actuar como predictor en la gravedad de infecciones respiratorias y convertirse en una diana para el tratamiento, e incluso profilaxis, de las infecciones respiratorias (28). Sin embargo, la determinación de una microbiota que predisponga a las infecciones respiratorias conlleva cierta dificultad ya que requiere un seguimiento y obtención de muestras de pacientes sanos. Es por eso que muchos de los estudios se limitan a determinar la microbiota durante la infección. Además, la mayoría de estudios se han centrado en población infantil (25) en los primeros años de vida para identificar grupos taxonómicos

asociados a susceptibilidad a bronquiolitis. Pero debido a que su microbiota no es estable y es inmadura los resultados no se pueden extrapolar a la población general.

Debido al papel crucial de juega la microbiota en la salud y en especial sobre el sistema inmune, y la importancia de encontrar estrategias de pronóstico y tratamiento frente a infecciones víricas, como se ha puesto de manifiesto de manera especial en la actual pandemia por COVID-19, en el presente estudio se plantea realizar una revisión sistemática para estudiar la influencia de la microbiota respiratoria e intestinal sobre la susceptibilidad a infección respiratoria y la aparición de complicaciones y/o severidad asociadas a infecciones respiratorias en población adulta.

## 2. OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

Estudiar la relación entre la composición de la microbiota respiratoria e intestinal y la susceptibilidad a infección respiratoria y la aparición de complicaciones y/o severidad de infecciones respiratorias (rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2) en población adulta.

### **Objetivos específicos:**

- Analizar si existe relación entre la composición de la microbiota respiratoria e intestinal y la susceptibilidad a infecciones respiratorias virales (rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2) en población adulta.
- Analizar si existe relación entre la composición de la microbiota respiratoria e intestinal y complicaciones o severidad de infecciones respiratorias virales (rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2) en población adulta.
- Caracterizar la composición de la microbiota respiratoria e intestinal asociada a protección o riesgo de infecciones respiratorias por virus rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2) en población adulta.
- Caracterizar la composición de la microbiota respiratoria e intestinal asociada a protección o riesgo de complicación o severidad de infecciones respiratorias por virus rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2) en población adulta

### 3. METODOLOGÍA

La metodología de esta revisión sigue las directrices de la declaración PRISMA para revisiones sistemáticas (ANEXO 1) (29).

#### 3.1 Estrategia de búsqueda

Para la presente revisión se realizó una búsqueda exhaustiva de todos los artículos científicos publicados en la base de datos de MEDLINE, vía PubMed, y en la base de datos de Scopus. La búsqueda se realizó entre el mes de diciembre de 2020 y enero de 2021.

Inicialmente, para la búsqueda se establecieron las palabras clave basadas en términos relacionados con las variables de interés.

En el caso de PubMed, para que la búsqueda resultase más específica, se identificó el tesauro de MEDLINE que corresponde a los términos MeSH (*Medical Subject Headings*). Por otro lado, para realizar una búsqueda lo más extensa posible, también se emplearon las palabras clave en texto libre, incluyendo así en la búsqueda aquellos artículos que no habían usado los términos MeSH. Por lo tanto, la búsqueda incluye palabras con terminología MeSH y palabras libres buscadas en el campo TITTLE/ABSTRACT, repitiendo algunas de ellas. Además, en PubMed se utilizó el asterisco como operador de truncamiento que permite buscar todos los derivados del término que lo acompaña. En esta revisión se utilizó en el término “microbio\*” por lo que se incluyen las palabras “microbiota” y “microbiome”.

Para la búsqueda en Scopus, se utilizaron las palabras clave de las variables con el campo TITLE-ABS-KEY.

Se planteó una estrategia de búsqueda amplia con el propósito de obtener cualquier tipo de complicación o definición de severidad de enfermedad por infección vírica que hubiera sido objeto de estudio en relación con la microbiota. Tanto en el caso de la base de datos PubMed con en el de Scopus se crearon tres bloques diferentes, cada uno de los cuales incluía los términos clave de un mismo componente de la búsqueda. El primer bloque abarca términos relacionados con la exposición (microbiota); el segundo bloque incluye términos relacionados con agentes causantes víricos; el tercer bloque integra

los términos relacionados con enfermedad causada por los agentes víricos. No se incluyeron términos específicos de severidad o complicaciones determinadas para no restringir la búsqueda. Para combinar todas las palabras claves entre sí se usaron operadores booleanos: OR y AND. Se empleó el operador OR para unir los términos incluidos dentro de un mismo bloque. Posteriormente, se combinaron los diferentes bloques con el operador AND.

Finalmente, para incluir el máximo número posible de artículos relevantes, se repasó las referencias bibliográficas de los artículos obtenidos en la búsqueda anteriormente explicada y de revisiones.

**Tabla 1.** Descripción de las búsquedas con PubMed y Scopus.

Bases de datos	Descripción de la búsqueda	Número de artículos
PUBMED	<p><b>BLOQUE 1 (#1)</b>            ((microbiota[MeSH Terms]) OR (microbio*[Title/Abstract])) OR (gut-lung axis[Title/Abstract])</p>	175.987
	<p><b>BLOQUE 2 (#2)</b>            (((((((Respiratory Syncytial Virus, Human[MeSH Terms]) OR (Rhinovirus[MeSH Terms])) OR (sars-cov-2[MeSH Terms])) OR (Respiratory syncytial virus[Title/Abstract])) OR (RSV[Title/Abstract])) OR (Influenza virus[Title/Abstract])) OR (Rhinovirus[Title/Abstract]) OR (sars-cov-2[Title/Abstract]),,,,"respiratory syncytial virus, human"[MeSH Terms] OR ""Rhinovirus""[MeSH Terms] OR ""sars-cov-2""[MeSH Terms] OR ""respiratory syncytial virus""[Title/Abstract] OR ""RSV""[Title/Abstract] OR ""influenza virus""[Title/Abstract] OR ""Rhinovirus""[Title/Abstract] OR ""sars-cov-2""[Title/Abstract]"</p>	103.2020
	<p><b>BLOQUE 3 (#3)</b>            "((((((((Respiratory tract infections[MeSH Terms]) OR ((respiratory[Title/Abstract] AND (infection*[Title/Abstract]))) OR (COVID-19[MeSH Terms])) OR (COVID-19[Title/Abstract])) OR (Influenza, Human[MeSH Terms])) OR (Influenza[Title/Abstract])) OR (Flu[Title/Abstract])) OR (Common cold[MeSH Terms])) OR</p>	550.996

	<p>(Common cold[Title/Abstract] ,,, "respiratory tract infections"[MeSH Terms] OR ("respiratory"[Title/Abstract] AND "infection*"[Title/Abstract]) OR "COVID-19"[MeSH Terms] OR "COVID-19"[Title/Abstract] OR "influenza, human"[MeSH Terms] OR "Influenza"[Title/Abstract] OR "Flu"[Title/Abstract] OR "common cold"[MeSH Terms] OR "common cold"[Title/Abstract]),</p> <p><b>BÚSQUEDA FINAL (#1 AND #2 AND #3)</b>  (((microbiota[MeSH Terms]) OR (microbio*[Title/Abstract])) OR (gut-lung axis[Title/Abstract])) AND (((((((Respiratory Syncytial Virus, Human[MeSH Terms]) OR (Rhinovirus[MeSH Terms])) OR (sars-cov-2[MeSH Terms])) OR (Respiratory syncytial virus[Title/Abstract])) OR (RSV[Title/Abstract])) OR (Influenza virus[Title/Abstract])) OR (Rhinovirus[Title/Abstract])) OR (sars-cov-2[Title/Abstract])) AND (((((((Respiratory tract infections[MeSH Terms]) OR ((respiratory[Title/Abstract] AND (infection*[Title/Abstract]))) OR (COVID-19[MeSH Terms])) OR (COVID-19[Title/Abstract])) OR (Influenza, Human[MeSH Terms])) OR (Influenza[Title/Abstract])) OR (Common cold[MeSH Terms])) OR (Common cold[Title/Abstract])</p>	882
SCOPUS	<p><b>BLOQUE 1 (#1)</b>  TITLE-ABS-KEY ( microbiota OR microbiome OR "gut-lung axis")</p> <p><b>BLOQUE 2 (#2)</b>  TITLE-ABS-KEY ("respiratory syncytial virus" OR rhinovirus OR "influenza virus" OR sars-cov-2 )</p> <p><b>BLOQUE 3 (#3)</b>  TITLE-ABS-KEY ("respiratory infection*" OR covid-19 OR influenza OR "common cold" )</p> <p><b>BÚSQUEDA FINAL (#1 AND #2 AND #3)</b>  TITLE-ABS-KEY (microbiota OR microbiome OR "gut-lung axis" ) AND TITLE-ABS-KEY ( "respiratory syncytial virus" OR rhinovirus OR "influenza virus" OR sars-cov-2 ) AND TITLE-ABS-KEY ( "respiratory infection*" OR covid-19 OR influenza OR "common cold" )</p>	96.375  133.382  301.717  304

### 3.2 Criterios de elegibilidad

Los criterios de elegibilidad de los estudios se muestran a continuación:

#### **Criterios de inclusión:**

- Artículos científicos que se ajusten a los objetivos: estudios que analicen la relación entre la microbiota respiratoria e intestinal y la infección y aparición de complicaciones y/o severidad de infecciones respiratorias por rinovirus, influenza, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2.
- Estudios realizados en humanos
- Estudios realizados en adultos (>18 años)
- Diseño de estudios: estudios observacionales, cohortes, casos y controles, transversales
- Idioma de publicación: inglés y español.
- Artículos en texto completo y original

#### **Criterios de exclusión:**

- Estudios no realizados en humanos
- Estudios ex-vivo
- Estudios realizados en niños.
- Estudios con algún tipo de intervención al inicio del estudio.
- Revisiones sistemáticas, artículos de opinión, conferencias, cartas al editor, artículos en fase de pre-print.

Una vez realizada la búsqueda de estudios inicial, se revisaron los títulos y abstracts de los artículos obtenidos en ambas bases de datos y se realizó un primer cribado teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión. Posteriormente, se revisó detenidamente el texto completo de los estudios restantes y se incluyeron los que cumplían criterios de inclusión.

### 3.3 Extracción de datos

Tras el proceso de selección de artículos, se procedió a extraer la información de los estudios seleccionados. Se obtuvieron datos relacionados con el diseño y características de la población, medidas de exposición y variable resultado, principales hallazgos y análisis estadístico. A continuación, se presentan con mayor detalle:

- Autor, año: autor principal y año de publicación.
- País: país donde se efectúa el estudio.
- Diseño del estudio: estudio prospectivo o transversal.
- Periodo de seguimiento: tiempo, en días, durante el cual se sigue a los participantes en los estudios prospectivos.
- Características de la población: tamaño muestral (n), género de los participantes incluidos en el estudio y edad media.
- Virus y diagnóstico del virus: virus (influenza, SARS-CoV2, rinovirus o virus sincitial respiratorio) en el que se centra el estudio y método para diagnosticar la infección vírica.
- Tipo de muestra de microbiota: método y localización de la muestra biológica obtenida para el estudio de la microbiota.
- Momento análisis microbiota: momento durante el estudio y/o el proceso infeccioso en el que se analiza la microbiota
- Técnica análisis microbiota: método empleado para analizar la composición de la microbiota.
- Medidas de microbiota: medidas utilizadas para caracterizar, cuantificar y comparar la microbiota.
- Variable de resultado (outcome): variable resultado que se analiza en cada estudio.
- Principales resultados: relación observada entre la microbiota y las características de las infecciones respiratorias víricas.
- Ajuste por variables de confusión: factores de confusión por los que se ajusta el análisis.

### **3.4 Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios**

El riesgo de sesgo de los artículos seleccionados se ha evaluado mediante la herramienta Escala Newcastle-Ottawa (NOS) (30).

La escala NOS es una herramienta de evaluación de los estudios observacionales (caso-control, cohorte y transversal) incluidos en las revisiones sistemáticas. Está compuesta por ocho ítems para estudios de caso-control y cohorte, y siete ítems para los estudios transversales. Estos ítems están categorizados en tres bloques según el tipo de estudio. Para los estudios de caso-control los tres bloques son: selección de los grupos de estudio, comparabilidad de los grupos de casos y controles y comprobación de la exposición. Los estudios de cohorte se dividen en: selección de la cohorte, comparabilidad de la cohorte y evaluación del resultado. Finalmente, los bloques de estudios transversales son: selección, comparabilidad de grupos y evaluación del resultado.

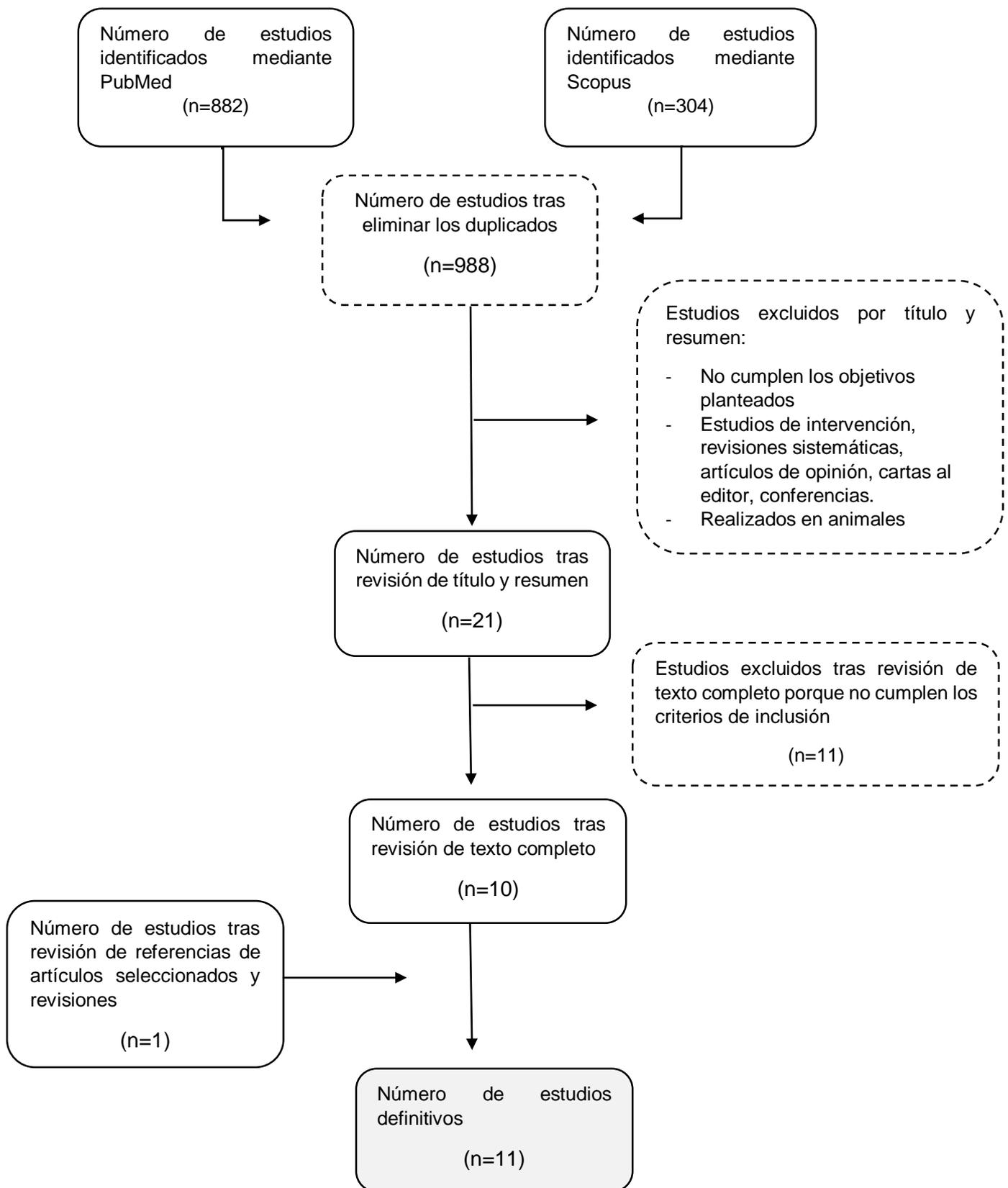
Para cada ítem se otorga, o no, estrellas según el riesgo de sesgo y se obtiene una puntuación final que va de 0 a 10 en estudios transversales y de 0 a 9 en estudios de casos y controles y cohorte. Mayor puntuación indica menor riesgo de sesgo o mayor calidad metodológica. En función de dicha puntuación se clasifican los estudios transversales en estudios muy buenos (9-10 puntos), estudios buenos (7-8 puntos), estudios satisfactorios (5-6 puntos), estudios insatisfactorios (0-4 puntos), y los estudios de casos y controles y de cohortes en estudios con bajo riesgo de sesgo ( $\geq 6$  puntos) y elevado riesgo de sesgo ( $\leq 5$  puntos).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Resultados de la búsqueda bibliográfica**

Tras aplicar la estrategia de búsqueda previamente descrita se obtuvieron un total de 882 estudios en la base de datos de PubMed y 304 en Scopus. De estos estudios se eliminaron los duplicados, quedando 988.

A continuación, en un siguiente paso de lectura a texto completo fueron excluidos 10 estudios por no ceñirse al tema propuesto, restando 10 artículos. Asimismo, se detectó 1 artículo adicional a partir de la revisión manual las referencias bibliográficas de los 10 artículos incluidos previamente. Así pues, se incluyeron un total de 11 artículos en la revisión final (Figura 2).



**Figura 2:** Diagrama de flujo que resume el proceso de búsqueda e inclusión de estudios.

## **4.2 Características de los estudios incluidos**

En la tabla 2 se presentan las características principales de la población y diseño de los estudios y en la tabla 3 las principales características de medida de microbiota y de la variable resultado (outcome) así como los principales hallazgos y análisis estadístico.

**Tabla 2:** Diseño de los estudios y características de la población.

Autor, año	País	Diseño del estudio	Periodo de seguimiento	Características de la población	Virus y diagnóstico de virus	Tipo de muestra de microbiota	Momento análisis microbiota	Técnica análisis microbiota
<b>Lee et al, 2019 (a)</b>	Nicaragua	Prospectivo	13 días	Sujetos expuestos a influenza en el hogar y con RT-PCR negativa: n= 573 , 35% hombres  n=61, 2 (RI 1-4) años n=163, 10 (RI 8-14) años n=313, 33 (RI 24-43) años	Influenza  RT-PCR	Hisopos orofaríngeos y nasales	2 muestras: al inicio del estudio antes de la infección y el último día de seguimiento (media entre las dos muestras 9 días, IQR:9-10 días)	Secuenciación de 16S rRNA
<b>K. Tsang et al, 2019</b>	Nicaragua	Prospectivo	9-12 días	Sujetos expuestos a influenza A: n= 286, 37% hombres n=33, 0-5 años n=88, 6-17 años n=165, >17 años  Sujetos expuestos a influenza B: n=150, 39% hombres n=19, 0-5 años n=45, 6-17 años n=86, >17 años	Influenza A (H7N9) Influenza B  RT-PCR	Hisopos orofaríngeos y nasales	Antes de la infección: día -1 Durante la infección: días 2-5 de seguimiento Después de la infección: a los 60 días de la infección	Secuenciación de 16S rRNA (región V4)
<b>Allen et al, 2014</b>	Estados Unidos	Prospectivo	5 días	Voluntarios sanos n=10 Edad media: 19,6 años Sexo: hombres 60 %, mujeres 40 %  Grupo infectados rinovirus (n=7) Grupo no infectados rinovirus (n=3)	Rinovirus (tipo 39)  Detección de rinovirus en lavados nasales o incremento del título de anticuerpos	Lavado nasal	Antes de la infección: 3 muestras Durante la infección: días 1-5 de seguimiento Después de la infección: a los 10 y 21 días de la infección	Pirosecuenciación del gen ARNr 16S (región V1-V2)
<b>Zuo T et al, 2020</b>	China	Prospectivo	21 ± 2,4 días	Grupo COVID (hospitalizados): n=15, 55 años, hombres 47%	SARS-CoV-2  2 test RT-PCR	Heces	Durante la infección, desde la hospitalización hasta el alta: 2-3 veces por semana	Secuenciación metagenómica (mNGS GridION sequencing)
<b>Lee et al, 2019 (b)</b>	Nicaragua	Prospectivo	13 días	Casos secundarios de influenza tras exposición en hogar: n=124, 35% hombres  n=19, 0-5 años n=45, 6-17 años n=60, >18 años	Influenza  RT-PCR o ≥ 4 veces de cambio en anticuerpos específicos de inhibición de hemaglutinación	Hisopos orofaríngeos y nasales	Antes de la infección	Secuenciación de 16S rRNA (región V4)

<b>Hofstra et al, 2015</b>	Holanda	Prospectivo	7 días	Voluntarios sanos n=6 Edad: 18-28 años Sexo: hombres 50 %, mujeres 50 %	Rinovirus (HRV16)  PCR, cultivos virales positivos de lavados nasales y desarrollo síntomas	Hisopo orofaringe	Antes de la infección: día -1 Durante la infección: días 2-5 de seguimiento Después de la infección: a los 60 días de la infección	Pirosecuenciación del gen ARNr 16S
<b>J. Lehtinen et al, 2018</b>	Estados Unidos	Prospectivo	5 días	Voluntarios sanos n=152	Rinovirus (tipo 39)	Cultivo cuantitativo a rinovirus, lavado nasal con marcadores inflamatorios y desarrollo de síntomas	Antes de la infección: día -28 y -14 Durante la infección: días 1-5 de seguimiento Después de la infección: a los 28 días de la infección	Secuenciación de 16S rRNA (región V4)
<b>Mostafa et al, 2020</b>	Estados Unidos	Transversal		Pacientes en total: n=50, 50,5 años, 52% hombres  Grupo con COVID positivo n=40 Grupo control con sospecha de COVID pero con pruebas diagnósticas negativas n=10	SARS-CoV-2  RT-PCR	Hisopo nasofaríngeo	Al diagnóstico de la infección	Secuenciación metagenómica (mNGS GridION sequencing)
<b>Palacios et al, 2009</b>	Argentina	Transversal		Pacientes infectados por influenza n=199, 43,5% hombres, 24,7±16,8 años que se clasifican en:  - Pacientes graves (hospitalización o muerte) n=39, 57,1% hombres, 27,8±21,6 años  - Pacientes leves n=160, 40,3% hombres, 23,9±15,5 años	Influenza (H1N1)  RT-PCR	Hisopos nasofaríngeos	Al diagnóstico de la infección	MassTag PCR
<b>Qin et al, 2020</b>	China	Transversal		Pacientes infectados con influenza n=52, 46% hombres, 56 ±19 años que se clasifican en: - Casos graves, n=31 -Casos leves, n= 21	Influenza A y B  qRT-PCR	Hisopos nasofaríngeos Lavado broncoalveolar, aspirado endotraqueal, esputo y sangre	Durante la infección	Secuenciación de 16S rRNA
<b>H. Lu et al, 2017</b>	China	Transversal		Grupo con influenza y con infección pulmonar bacteriana secundaria n=21, 57, 14% hombres, 60,5 años  Grupo con influenza y sin infección pulmonar bacteriana secundaria n=30, 56,6% hombres, 53 años  Grupo control sanos n=30, 36,6% hombres, 50 años	Influenza A (H7N9)  RT-PCR	Hisopos orofaríngeos y lavados nasales	Durante la infección, al inicio del estudio	Secuenciación de 16S rRNA (región V3y V4)

**Tabla 3:** Resultados principales en el estudio de la microbiota.

Autor, año	Medidas de microbiota	Outcome	Principales resultados	Ajuste por variables de confusión
<b>Lee et al, 2019 (a)</b>	Abundancia relativa: de los 15 oligotipos que contribuyen a más del 50% de la diferencia entre comunidades microbianas Tipo de comunidad microbiana Diversidad $\alpha$ : índice de Shannon e índice de Chao 1 Diversidad $\beta$ : disimilaridad de Bray-Curtis y distancia de Jaccard	Susceptibilidad infección influenza: infección si/no (prueba diagnóstica mediante RT-PCR y diario de síntomas recogido por los participantes)	<i>Alloprevotella</i> y <i>Prevotella histicola/ veroralis/ fusca/ scopos/ melaninogenica</i> se asociaron positivamente con susceptibilidad a infección por influenza mientras que <i>Bacteroides vulgatus</i> se asoció negativamente La comunidad microbiana tipo 4 se asoció con menor susceptibilidad a infección por influenza  La diversidad no se asoció con susceptibilidad a infección por influenza	Análisis multivariable ajustado por variables de confusión (tipo de comunidad microbiana al inicio del estudio, edad, fumadores en el hogar, hacinamiento en el hogar y agrupación por hogares)
<b>K. Tsang et al, 2019</b>	Abundancia relativa: oligotipos que contribuyen a más del 50% de la diferencia entre comunidades microbianas Tipo de comunidad microbiana (CST)	Susceptibilidad infección influenza A y B: modelo de transmisión en el hogar	El aumento de abundancia de <i>Streptococcus dentisani/ mitis/ oralis/ infantis/ tigurinus/ lactarius/ peroris/ pnemoniae</i> y <i>Prevotella salivae</i> se asociaron con menor susceptibilidad a infección por influenza A.  El aumento de abundancia de <i>Streptococcus vestibularis/ salivarius gordonii</i> se asociaron con menor susceptibilidad a influenza B mientras que el aumento de abundancia de <i>Prevotella veroralis/fusca/ histicola/ scopos/melanninogenica</i> se asociaron positivamente con mayor susceptibilidad a influenza B.  El CST 4 se asoció con menor susceptibilidad a infección por influenza A y CST 5 se asoció con menor susceptibilidad a infección por influenza B.	Análisis multivariable ajustado por variables de confusión (grupos de edad, vacunación y tamaño de las casas)
<b>Allen et al, 2014</b>	Abundancia relativa Unidades taxonómicas funcionales (OTUs) Diversidad $\alpha$ : índices de Shannon y Chao 1 Diversidad $\beta$ : distancia de UniFrac	Susceptibilidad a la infección por rinovirus: infección sí/no	No se observaron cambios significativos en la abundancia relativa de los filos durante los 3 momentos diferentes de la infección en infectados y no infectados.  Los participantes infectados mostraron menor diversidad que los no infectados. Entre los infectados se encontró mayor abundancia relativa del género <i>Propionibacterium</i> y menor de los <i>Haemophilus</i> con respecto a los no infectados.  Los pacientes infectados y no infectados presentaron similar distribución de géneros bacterianos, pero se encontraron diferencias significativas en la diversidad de la comunidad en el índice de Chao1 ( $p=0,031$ ). Las diferencias fueron significativas en <i>Neisseria</i> y <i>Propionibacterium</i>	Análisis univariable
<b>Zuo T et al, 2020</b>	Abundancia relativa	Severidad en COVID: suave (no neumonía en la radiografía), moderada (neumonía con síntomas respiratorios y fiebre), severa (frecuencia respiratoria >30, saturación oxígeno <93%, o PaO <sub>2</sub> /FIO <sub>2</sub> >300), crítica (ventilación mecánica o UCI) Carga viral: mediante RT-PCR	<i>Coprobacillus</i> , <i>Clostridium ramosum</i> y <i>Clostridium hathewayi</i> pertenecientes a <i>Firmicutes</i> ylum se asociaron con mayor severidad de COVID <i>Alistipes onderdonkii</i> y <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> se asociaron con menor severidad de COVID  <i>Bacteroides dorei</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides massiliensis</i> y <i>Bacteroides ovatus</i> mostró una correlación inversa significativa con la carga viral fecal de SARS-CoV2. <i>Erysipelotrichaceae bacterium</i> mostró una correlación positiva fuerte con la carga viral fecal de SARS-CoV2	Análisis multivariable ajustado por variables de confusión: edad, género, uso de antibióticos y comorbilidades

<p><b>Lee et al, 2019 (b)</b></p>	<p>Abundancia relativa: de los 15 oligotipos que contribuyen a más del 50% de la diferencia entre comunidades microbianas  Tipo de comunidad microbiana  Diversidad <math>\alpha</math>: índice de Shanon e índice de Chao 1  Diversidad <math>\beta</math>: disimilaridad de Bray-Curtis y distancia de Jaccard</p>	<p>Duración de los síntomas: Los participantes completaron un diario de síntomas que documentaba la presencia de los siguientes síntomas: fiebre o febrícula, rinorrea, dolor de garganta y tos  Duración de diseminación viral: tiempo entre la primera RT-PCR positiva y RT-PCR negativa</p>	<p><i>Veillonella parvula/rogosae/atypica/denticariosi/dispar</i> se asoció negativamente con la duración de fiebre; <i>Neisseria</i> y <i>Prevotella melaninogenica/scopos/sp./histicola/veroralis</i> se asoció positivamente con la duración de rinorrea; <i>Prevotella sp./ veroralis/fusca/histicola/scopos/melaninogenica</i>, <i>Megasphaera micronuciformis</i> y <i>Prevotella salivae</i> se asoció positivamente con dolor de garganta; <i>Fusobacterium</i>, <i>Neisseria</i> y <i>Haemophilus</i> se asoció positivamente con duración diseminación viral; <i>Streptococcus vestibularis/salivarius/gordonii</i> y <i>Streptococcus australis/parasanguinis</i> // <i>parasanguinis</i> // <i>parasanguinis</i> // <i>sp./oligofermentans/cristatus/sinensis/sanguinis/gordonii/lactarius</i> / <i>peroris/oralis</i> se asoció negativamente con la duración diseminación viral</p> <p>No se observó asociación entre la diversidad y la duración de síntomas.  Se observó una asociación positiva entre la diversidad bacteriana según el índice de Shannon y la diseminación viral.</p>	<p>Análisis multivariable ajustado por edad, sexo y agrupación por hogares</p>
<p><b>Hosftra JJet al, 2015</b></p>	<p>Abundancia relativa  Diversidad <math>\alpha</math>: índice Shannon, Simpson, Chao 1</p>	<p>Score validado de síntomas de resfriado</p>	<p>Durante la infección aguda se observaron aumentos de <i>Haemophilus Parainfluenzae</i>, <i>Neisseria subflava</i>, <i>Staphylococcus Aureus</i> asociadas a infecciones secundarias tras infección con rinovirus, sin embargo, su aumento no se asoció con aumento de carga viral ni con mayores puntuaciones en el Score de síntomas de resfriado</p> <p>Los índices de diversidad fueron similares en cuanto a las especies durante el tiempo de seguimiento.</p>	<p>Análisis multivariable pero no menciona variables de confusión</p>
<p><b>J. Lehtinen et al, 2018</b></p>	<p>Abundancia relativa por grupos de bacterias</p> <p>6 cluster de acuerdo con el grupo más predominante:  Satph: Staphylococcus,  Cor/All):  Corynebacterium/Alloiococcus  Mor: Moraxella  Hae: Haemophilus  Ps/Mix:  Pseudomonadaceae/Mixed  Mixed</p> <p>Diversidad <math>\alpha</math>: Shannon  Diversidad <math>\beta</math></p>	<p>Carga viral  Score validado de síntomas de resfriado (Wisconsin Upper Respiratory Symptom Score o WURSS-21) que evalúa la gravedad de síntomas (rinorrea, obstrucción nasal, estornudos, dolor de garganta, ronquera de voz, congestión de la cabeza, congestión del pecho y cansancio) y el estado funcional.  Score de síntomas de resfriado  Marcadores nasales de inflamación en lavados nasales</p>	<p>El cluster Staph tuvo los menores incrementos de marcadores de inflamación (G-CSF, CCL20, IL-6, y CCL2) durante la infección y el grupo Mor los mayores incrementos.</p> <p>El cluster Ps/Mix tuvo menores títulos de carga viral desde el inicio de la infección hasta el día 5 de la infección comparado con los clusters Staph y Mor.</p> <p>El score WURSS-21 sintomático fue menor en los clusters Cor/All comparado con los clusters Staph y Ps/Mix durante la infección. El score de síntomas de resfriado fue menor en el cluster Cor/All comparado con Staph (<math>p=0,007</math>) y Ps/Mix (<math>p=0,013</math>). También fue menor la obstrucción nasal (<math>p=0,048</math>), estornudos (<math>p=0,013</math>) y tos (<math>p=0,042</math>) en el cluster Cor/All comparado con el cluster Staph. El cluster Ps/Mix tuvo mayor tos que el cluster Cor/All (<math>p=0,026</math>).  La rinorrea severa se encontró asociada positivamente a cambios en la diversidad <math>\alpha</math> (<math>p=0,014</math>), No cambios significativos en la diversidad alfa con otros síntomas.</p>	<p>Análisis univariable</p>
<p><b>Mostafa et al, 2020</b></p>	<p>Abundancia relativa  Diversidad <math>\alpha</math>: índices de Chao, Simpson y Shannon  Diversidad <math>\beta</math> índice Bray-Curtis e índice Jaccard</p>	<p>Índice de gravedad (4 categorías: no ingreso hospital, ingreso hospital, ingreso UCI, intubación)</p>	<p>En COVID positivos se observó menor diversidad con mayor abundancia de <i>Propionibacteriaceae</i>, aumento de <i>H.influenzae</i> y <i>M.catarrhalis</i> asociadas a coinfecciones y descenso de <i>Corynebacterium accolens</i>.</p> <p>Se observaron diferencias de diversidad bacteriana según el índice de Bray-Curtis en función de las categorías de índice de severidad. A mayor severidad menor diversidad.</p>	<p>Análisis univariable</p>

<p><b>Palacios et al, 2009</b></p>	<p>Presencia</p>	<p>Casos leves de influenza: casos ambulatorios con diagnóstico confirmado de H1N1 Casos severos de influenza: casos de muerte o neumonía severa requiriendo hospitalización o asistencia mecánica con diagnóstico confirmado de H1N1.</p>	<p><i>S. pneumoniae</i> fue detectado en el 56,4% de casos severos, pero en el 25% de casos leves (<math>p=0,0004</math>). <i>H. influenzae</i> fue detectado en 21.3% de casos severos y en el 59.4% de casos leves (<math>p&lt;0,0001</math>). <i>S. aureus</i> fue detectado en 2,6 % de casos severos y en el 25% de casos leves (<math>p=0,0008</math>). La presencia de RSV A fue más común en casos severos (15,4%) frente a casos leves (3,1%) (<math>p=0,0085</math>). No se observó diferencias para <i>K. pneumoniae</i>, <i>S. marcescens</i>, <i>A. baumannii</i>, <i>HRV</i>, <i>HCoV-229E</i>, <i>HCoV-OC43</i>, <i>RSV B</i></p> <p>Se realizó una análisis multivariable estratificado por edad: La relación entre <i>Streptococcus pneumoniae</i> y la severidad de la enfermedad fue significativa en los pacientes del grupo de edad asociados a bajo riesgo de complicaciones relacionadas con la influenza (6-55 años, <math>n=155</math>, OR= 125 (95% CI, 16.95, 928.72; <math>p,0.0001</math>), mientras que no fue significativa para los grupos de edad asociados mayor riesgo (&lt;6 o &gt;55 años, <math>n=26</math>).</p>	<p>Análisis multivariable ajustado por presencia de RSV A en los hisopos nasofaríngeos, número total de agentes detectados en hisopos y presencia de factores de riesgo médicos implicados en la severidad por H1N1)</p>
<p><b>Qin et al, 2020</b></p>	<p>Diversidad <math>\alpha</math>: índices de Chao 1, Abundance Coverage-based Estimator (ACE), Shannon, Simpson Abundancia relativa</p>	<p>Severidad: leve o severa. Se considera infección severa la presencia de al menos un criterio clínico: (1) fiebre persistente con tos, expectoración, esputo con sangre o dolor en el pecho; (2) taquipnea, disfonía y cianosis; (3) somnolencia, disforia y consulsiones, (4) vomito severo, diarrea y deshidratación; (5) neumonía; (6) agravamiento obvio de enfermedades subyacentes; (7) fallo respiratorio, encefalopatía aguda necrotizante, shock séptico o disfunción multiorgánica</p>	<p>En los grupos influenza, leve y severa, se observó menor diversidad que en el grupo de sanos, sobre todo en los índices Chao1 y ACE. No diferencias de diversidad entre ambos grupos en los índices de Shannon y Simpson.</p> <p>En el grupo control de sanos los géneros más abundantes fueron: <i>Corynebacteriaceae</i>, <i>Staphylococcus</i>, <i>Cubibacterium</i>, <i>Lawsonella</i>, <i>Serratia</i>, En el grupo de influenza leve los géneros más abundantes fueron: <i>Streptococcus</i>, <i>Prevotellaceae</i>, <i>Neisseria</i>, <i>Leptotrichia</i>, <i>Veillonella</i>. En el grupo de influenza severa los géneros más abundantes fueron: <i>Acinetobacter</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Lactococcus</i>, <i>Prevotellaceae</i>, <i>Corynebacteriaceae</i>. Tanto la <i>Prevotella</i> como el <i>Streptococcus</i> fueron dominantes en ambos grupos, pero no en los controles sanos.</p> <p>El 61% de los casos severos fueron portadores de patobiontes (bacterias con capacidad de provocar patologías en condiciones de disbiosis): <i>Lactococcus</i> (<math>n=7</math>), <i>Acinetobacter</i> (<math>n=4</math>), <i>Streptococcus</i> (<math>n=3</math>), <i>Corynebacteriaceae</i> (<math>n=3</math>), <i>Staphylococcus</i> (<math>n=1</math>), <i>Prevotellaceae</i> (<math>n=1</math>). Solo el 29% de casos de influenza leve y el 24% de casos control sanos fueron portadores de patobiontes. En el tracto respiratorio inferior, en 10 casos de influenza (18 severos y 2 leves) se detectaron patobiontes (<i>A. baumannii</i>, <i>K. pneumoniae</i>, <i>P.aeruginosa</i> y <i>C. striatum</i>) que se identificaron como especies pertenecientes a la microbiota nasofaríngea.</p>	<p>Análisis univariable</p>
<p><b>H. Lu et al, 2017</b></p>	<p>Abundancia Diversidad: índice de Chao 1, Obs, estimadores de cobertura basados en la incidencia, Simpson, Simpson invertido y Shannon Unidades taxonómicas funcionales (OTUs)</p>	<p>Susceptibilidad a infección secundaria bacteriana</p>	<p>En el grupo de influenza con infección pulmonar secundaria se observó aumento de la diversidad en los diferentes índices (Chao 1, Obs, incidence-based coverage estimators, Simpson, Simpson invertido y Shannon) respecto al grupo de sanos. En el grupo de influenza sin infección secundaria se observó aumento de diversidad en índice de Shannon y Obs respecto al grupo de sanos. No diferencias significativas en la diversidad entre los dos grupos de influenza.</p> <p>En el grupo influenza con infección secundaria se observó mayor disbiosis y abundancia de especies de los géneros <i>Leptotrichia</i>, <i>Oribacterium</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Atopobium</i>, <i>Eubacterium</i>, <i>Solobacterium</i> y <i>Rothia</i> y en el grupo de influenza sin infección secundaria se observó mayor abundancia de especies de los géneros <i>Filifactor</i>, <i>Megasphaera</i> y <i>Leptotrichia</i> en comparación al grupo de sanos. Especies de los géneros <i>Haemophilus</i> y <i>Bacteroides</i> fueron más abundantes en sanos.</p>	<p>Univariable</p>

### 4.3 Síntesis de los resultados

Las fechas de publicación de los estudios incluidos en la revisión sistemática están comprendidas entre los años 2009 (31) y 2020 (32–34) y han sido desarrollado en diferentes países: Nicaragua (35–37), China (33,34,38), Estados Unidos (32,39,40), Holanda (41) y Argentina (31).

Se encontraron 8 artículos que se centraban en estudiar la microbiota y severidad de enfermedad y/o complicaciones (31–35,38,39,41) y 3 que estudiaban la relación entre la microbiota y susceptibilidad a infecciones respiratorias víricas (36,37,40).

En primer lugar, los estudios que investigan la asociación entre la microbiota y aspectos relacionados con la severidad miden la severidad con distintos métodos. De este modo, podemos encontrar estudios que emplean categorías de severidad (31–34) que clasifican a los participantes en distintos grados de gravedad. Otros estudios utilizan la medición de síntomas (35,39,41), la carga viral (33,39), marcadores de inflamación (39), la diseminación viral (35) y la susceptibilidad a infección bacteriana secundaria (38) como aspectos asociados con la severidad y/o complicaciones en la infección vírica.

Dentro de este primer grupo de estudios, se pueden diferenciar dos tipos de diseño: prospectivo (33,35,39,41) y transversal (31,32,34,38). Los estudios prospectivos presentan un periodo de seguimiento de días que oscila entre los 5 (39) y los  $21 \pm 2,4$  días (33). Además, en cuanto a las infecciones virales, se encontraron 4 estudios que se centran en el virus influenza (31,34,35,38), 2 en el virus SARS-CoV-2 (32) (33) y 2 en el rinovirus (39,41). No se encontró ningún artículo en adultos que estudiase la relación de la microbiota con la gravedad causada por el virus respiratorio sincitial.

En cuanto a las características de la población de estos estudios, han participado un total de 609 participantes. En concreto, 396 personas participaron en estudios centrados en el virus de la influenza, 158 participantes en el rinovirus y 55 participantes en el virus SARS-CoV-2. La edad media de los participantes está descrita detalladamente en la tabla de extracción, pero a modo resumen, un estudio incluye niños entre la población estudiada (35) y algunos sólo incluyen adultos con edad media igual o mayor a 50 años (32–34,38)

Para finalizar con los estudios que se centran en la severidad y/o complicaciones, el tipo de muestra recogida para el análisis de la microbiota se realiza mediante diferentes

métodos. Para la recogida de muestras del tracto respiratorio superior se emplean hisopos orofaríngeos (35,38,41), hisopo nasofaríngeo (31,32,34) hisopos nasales (35) (39) y lavados nasales (38). Solo un estudio recoge muestra del tracto respiratorio inferior mediante lavado broncoalveolar, aspirado endotraqueal y esputo (34) y dos estudios recogen heces para el estudio de la microbiota fecal (33,39) Finalmente, las medidas de la microbiota han sido expresadas por abundancia de bacterias (32,33,35,38,39,41) e índices de diversidad (32,34,35,38,39,41) Además, en algunos artículos también se ha utilizado la presencia de bacterias (31,34) y el tipo comunidad microbiana nasal/orofaríngea (35).

En segundo lugar, el otro grupo de estudios está formado por aquellos que investigan la relación entre la microbiota e infección respiratoria viral. En total encontramos 3 estudios con diseño prospectivo y tiempo de seguimiento que oscila entre 5 días (40) y 13 días (36).

En relación a las infecciones virales, 2 estudios se centran en el virus influenza (36,37) y 1 estudio con el rinovirus (40). No se encontraron estudios para virus SARS-CoV-2 ni el virus respiratorio sincitial.

En cuanto a la población, los estudios están formados por un total de 1019 participantes. De estos, 1009 participantes pertenecen a estudios que investigan con el virus influenza y los otros 10 participantes pertenecen a estudios que se centran en el rinovirus. Los estudios con el virus de la influenza incluyen niños y adultos mientras que el que se centra en el rinovirus solo incluye adultos de 19.6 años de edad media.

Por último, en estos estudios para analizar la microbiota se recogen muestras mediante hisopos orofaríngeos (36,37) y lavados nasales (40). Además, para medir los resultados de la microbiota se emplea la abundancia de bacteria (36,37,40) y el tipo de comunidad microbiana nasal/orofaríngea (37).

En cuanto a los hallazgos obtenidos, los estudios que investigan la relación entre la microbiota y severidad y/o complicaciones se pueden diferenciar según el tipo de diseño, prospectivo o transversal. En general, todos los estudios prospectivos encontraron efectos de las bacterias, excepto Hofstra et al (41) el cual no halló relación entre la abundancia o diversidad bacteriana y la severidad y/o complicaciones de la infección vírica. El resto de estudios prospectivos encontraron relación entre la abundancia de bacterias y la protección o la predisposición a la severidad y/o complicaciones, pero ninguno en la diversidad bacteriana. En referencia a los estudios transversales, Lee et al (35) y Mostafa et al (32) fueron los únicos que encontraron relación con la diversidad y la abundancia bacteriana, el resto de estudios solo encontró asociación con la abundancia bacteriana.

Con respecto a las bacterias, a pesar de que cada estudio encontró efectos de varias bacterias en la severidad y/o complicaciones al comparar, tanto los estudios prospectivos como los transversales entre sí, no existen concordancias a nivel de género o especie bacteriana.

El segundo grupo de estudios, los centrados en la asociación entre la microbiota e infección respiratoria, encontraron efectos protectores o efectos predisponentes en la abundancia de bacterias. En concreto, Lee et al (36) y K. Tsang et al (37) encontraron bacterias tanto con efecto protector como predisponente de la infección, sin embargo, Allen et al (40) encontró bacterias con efecto predisponente.

En estos estudios Lee et al (36) y K. Tsang et al (37) coincidieron en el efecto predisponente a la infección de las especies *Prevotella histicola/veroralis/fusca/scopos/melaninogenica*. Sin embargo, no se encontraron coincidencias de bacterias con efecto protector a nivel de género o especie.

A continuación, en las tablas 4 y 5 se resumen los resultados encontrados sobre las bacterias que han mostrado un efecto de protección o un de complicación y/o severidad de las infecciones víricas estudiadas.

**Tabla 4:** Efecto en la severidad y/o complicaciones de las bacterias en las infecciones respiratorias víricas.

EFECTO EN LA SEVERIDAD Y/O COMPLICACIONES				
Virus	Protección		Complicación/Severidad	
	Prospectivos	Transversales	Prospectivos	Transversales
<b>SARS-CoV2</b>	<b>Zuo et al (33):</b> Especies: <i>Alistipes onderdonkii</i> <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ,	<b>Mostafa et al (32):</b> Especies: Aumento de <i>Propionibacteriaceae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> y <i>Moraxella catarrhalis</i> Descenso de <i>Corynebacterium accolens</i>	<b>Zuo et al (33):</b> Familia: <i>Erysipelotrichaceae</i>  Género <i>Coprobacillus</i>  Especies: <i>Clostridium ramosum/ hatheway</i>	<b>Mostafa et al (32):</b> Menor diversidad bacteriana
<b>Rinovirus</b>	<b>J. Lehtinen et al (39):</b> Géneros: Clúster <i>Staphilococcus</i> Clúster <i>Pseudomona/Mixto</i> Clúster <i>Corynebacterium/Alloicoccus</i>		<b>J. Lehtinen et al (39):</b> Género: Clúster <i>Moraxella</i>	
<b>Influenza</b>	<b>Lee et al (b) (35):</b> Especies: <i>Veillonella parvula/rogosae/atypica/denticariosi/dispensar</i> <i>Streptococcus vestibularis/salivarius/gordonii</i> <i>Streptococcus australis/parasanguinis II/ parasanguinis I/ oligofermentans/cristatus/ sinensis/sanguinis/ gordonii/lactarius/ peroris/oralis</i>	<b>H. Lu et al (38):</b> Géneros: <i>Filifactor</i> , <i>Megasphaera</i> , <i>Leptorichia</i> , <i>Haemophilus</i> y <i>Bacteroides</i>  <b>Palacios et al:</b> Especies: <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>  <b>Qin et al:</b> Familia: <i>Corynebacteriaceae</i>  Géneros:, <i>Staphylococcus</i> , <i>Cubibacterium</i> , <i>Lawsonella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Prevotellaceae</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Leptotrichia</i> , <i>Veillonella</i>	<b>Lee et al (b) (35):</b> Diversidad bacteriana  Géneros: <i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Fusobacterium</i>  Especies: <i>Prevotella melaninogenica/scopos/sp./histicola/veroralis/fusca/ salivae</i> <i>Megasphaera micronuciformis</i>	<b>H. Lu et al (38):</b> Géneros: <i>Leptorichia</i> , <i>Oribacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Atopobium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Solobacterium</i> y <i>Rothia</i>  <b>Palacios et al:</b> Especie: <i>Streptococcus pneumoniae</i> RSV A  <b>Qin et al:</b> Familia: <i>Corynebacteriaceae</i>  Géneros <i>Acinetobacter</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Prevotellaceae</i>

**Tabla 5:** Efecto en la infección de las bacterias en las infecciones respiratorias víricas.

EFECTO EN LA INFECCIÓN		
Virus	Protectores	Predisponentes
Influenza	<b>Lee et al (a) (36):</b> Especie: <i>Bacteroides vulgatus</i>	<b>Lee et al (a) (36):</b> Género: <i>Alloprevotella</i>  Especies: <i>Prevotella histicola/veroralis/fusca/scopos/melaninogenica</i>
Influenza A	<b>Tsang et al (37)::</b> Especies: <i>Streptococcus dentisani/ mitis/oralis/ infantis/ tigurinus/ lactarius/ peroris/ pneumoniae</i> <i>Prevotella salivae</i>  Comunidad microbiana: CST4	
Influenza B	<b>Tsang et al (37):</b> Especies: <i>Streptococcus vestibularis/ salivarius gordonii</i> Comunidad microbiana: CST 5	<b>Tsang et al (37):</b> Especies: <i>Prevotella veroralis/fusca/histicola/scopos/melanninogenica</i>
Rinovirus		<b>Allen E et al (40):</b> Géneros: Menor abundancia de <i>Neisseria</i> y mayor abundancia de <i>Propionibacterium</i>

#### 4.4 Riesgo de sesgo

La evaluación de la calidad metodológica de cada uno de los estudios que se incluyen en la revisión se describe en el ANEXO 2 para los estudios transversales y en el ANEXO 3 para los prospectivos.

En cuanto a los estudios transversales, solo uno ha destacado por considerarse como estudio bueno (31), dos estudios han sido evaluados como satisfactorios (32,38) y un estudio como insatisfactorio (34). Tal y como se observa en la tabla 6, los puntos más deficientes en la calidad metodológica son la selección y la comparabilidad, mientras que el outcome ha sido mejor valorado en los estudios transversales.

**Tabla 6:** Resumen de la evaluación de la calidad metodológica de estudios transversales.

	TRANSVERSALES									Score	Resumen
	Selection				Comparability	Outcome					
	1	2	3	4	1	1	2				
Mostafa, et al, 2020	★			★ ★		★ ★	★			6	Estudio satisfactorio
H Lu et al, 2017				★ ★		★ ★	★			5	Estudio satisfactorio
Palacios et al, 2009	★			★ ★	★ ★	★ ★	★			8	Estudio bueno
Qin T et al, 2020				★ ★		★	★			4	Estudio insatisfactorio

En referencia a los estudios prospectivos, tras la evaluación se han obtenido 6 estudios con bajo riesgo de sesgo (33,36,37,39–41) mientras que solo 1 ha presentado elevado riesgo de sesgo (35). En general, los procesos de selección y comparabilidad de los estudios prospectivos han sido más satisfactorios que en los estudios transversales. Finalmente, en la gran mayoría de estudios el outcome también ha sido bien valorado.

**Tabla 7:** Resumen de la evaluación de calidad metodológica de estudios prospectivos.

	PROSPECTIVOS									Score	Resumen
	Selection				Comparability	Outcome					
	1	2	3	4	1	1	2	3			
Lee et al, 2019 (a)	★	★	★	★	★ ★	★	★	★		9	Bajo Riesgo sesgo
Lee et al, 2019 (b)	★	★	★	★	★ ★		★	★		8	Bajo riesgo
Zuo T et al, 2020	★	★	★		★ ★	★	★	★		8	Bajo riesgo
Hosfra JJet al, 2015		★	★	★			★	★		5	Alto riesgo
Tsang et al, 2019	★	★	★	★	★ ★	★	★	★		9	Bajo riesgo
Lehtinen et al, 2018		★	★	★	★	★	★	★		7	Bajo riesgo
Allen et al, 2014		★	★	★	★	★	★	★		7	Bajo riesgo

## 5. DISCUSIÓN

El efecto beneficioso de la microbiota para la salud de los seres humanos se ha estudiado durante muchos años, pero el estudio de la implicación de ésta en algunas enfermedades es más novedoso. La presente revisión se ha centrado en la relación de la microbiota y las infecciones respiratorias virales, en concreto en cuatro de los virus más importantes en la actualidad por frecuencia e impacto: rinovirus, virus respiratorio sincitial, influenza y SARS-CoV-2. Para ello se han incluido 11 estudios que evalúan la microbiota respiratoria y/o fecal y su relación con alguno de estos virus.

En general, cada estudio ha encontrado relación de ciertas bacterias con la susceptibilidad o la gravedad a las infecciones víricas. Sin embargo, al comparar en conjunto los estudios no hay consenso sobre ninguna bacteria y su implicación en la susceptibilidad o gravedad a las infecciones víricas. Es decir, los resultados de todos los estudios son muy heterogéneos y no coinciden en que bacterias pueden considerarse “predisponentes” o “protectoras” de las infecciones causadas por virus. En definitiva, hay evidencias científicas de que ciertas bacterias pueden aumentar la predisposición o gravedad a infecciones virales, pero estas evidencias no permiten concluir qué bacterias específicas están implicadas.

Con respecto a la influencia de la microbiota respiratoria sobre la susceptibilidad de infecciones víricas respiratorias existen escasos estudios en adultos. En esta revisión sistemática se han obtenido 3 estudios, dos centrados en infección por influenza (36) (37) y otro en infección por rinovirus (40) con diferencias entre ellos. Lee K et al (a) encontró una asociación positiva entre *Alloprevotella* spp y *Prevotella* spp e infección por influenza. Tsang T et al, en un estudio realizado en la misma población, consideró los subtipos de influenza A (H3N2) y B, encontrando una asociación positiva con *Prevotella* spp únicamente con infección del subtipo B pero no con el subtipo A, poniendo de manifiesto que las asociaciones pueden depender del subtipo de virus de influenza (37).

Con respecto a las bacterias que mostraron protección frente a infección los resultados fueron heterogéneos. Lee K et al (a) mostró una asociación negativa entre *Bacteroides vulgatus* e infección por influenza (36) mientras que Tsang T et al observó una asociación negativa entre *Streptococcus* spp y *Prevotella salivae* e infección por influenza A y entre *Streptococcus vestibularis/ salivarius gordonii* e infección por

influenza B (37). Además de la consideración de los subtipos de influenza, el diferente abordaje en el análisis estadístico y diferente ajuste por variables de confusión con especial atención al estado de vacunación (25) podrían explicar las discrepancias en los resultados.

Por otro lado, Allen E et al mostró que en los infectados por rinovirus se encontró mayor abundancia relativa del género *Propionibacterium* y menor del género *Neisseria* con respecto a los no infectados en una cohorte pequeña (n=10) (40), no coincidiendo con las bacterias que mostraron efecto en los estudios en influenza. También, los resultados fueron inconsistentes con respecto a la diversidad bacteriana ya que Allen E et al observó que los participantes infectados mostraron menor diversidad que los no infectados, sin embargo, no se encontró asociación en los estudios con influenza.

Nuestros resultados encajan con la bibliografía actual sobre la relación de la microbiota con las infecciones virales. Por ejemplo, una revisión realizada por Yuan et al (42) coincide en la conclusión de que existe evidencia de la influencia de la microbiota sobre la susceptibilidad a la infección viral, especialmente a partir de estudios realizados en población infantil que son los mayoritarios, pero hay variabilidad entre los diferentes virus.

Otros trabajos, como el de Esposito et al (43), coinciden con nuestros resultados afirmando que en varios estudios se han identificado bacterias “protectoras” y “peligrosas” de las infecciones virales. En este sentido, Wilks J et al (44) también reconoce este doble papel que puede ejercer los microorganismos componentes de la microbiota en las infecciones virales. Por otro lado, Li N. et al (45) respalda esta interacción entre la microbiota comensal y los virus, a pesar de reconocer que no se entienden los mecanismos por los cuales la microbiota influye en la replicación, transmisión y persistencia viral, además, añade que la interacción es bidireccional y las infecciones virales causan disbiosis de la microbiota. A la luz de los resultados observados en la presente revisión, son necesarios más estudios para confirmar la asociación de *Prevotella* spp con mayor riesgo de infección por influenza, así como para verificar cómo *Prevotella* spp puede modificar la inmunidad y la respuesta inmune específica al virus de la influenza.

Por otro lado, la comparabilidad entre estudios es difícil puesto que el estudio realizado con respecto a infección de rinovirus mostró peores puntuaciones en la evaluación del riesgo de sesgo que los dos anteriores debido a posible sesgo de selección por

reclutamiento de voluntarios que podrían estar más interesados en su salud y, por lo tanto, más sanos (46) y ausencia de análisis multivariable. Además, también difiere respecto al periodo de seguimiento, al tipo de muestra de microbiota y a las técnicas de análisis de microbiota ya que en este estudio se secuenció las regiones V1-V2 y en los dos anteriores estudios las regiones V3-V4. La selección de la región de secuenciación puede influir en los resultados obtenidos, obteniéndose mayor reproducibilidad con las regiones V3-V4 que con V1- V2 (47).

Otra revisión (25), también destaca la heterogeneidad de los estudios tanto en niños como en adultos y también la necesidad de nuevos estudios con periodos de seguimiento más largos, con diversas tomas de muestra en diferentes puntos del periodo de seguimiento, y que tengan en cuenta variables de confusión como estado vacunal, edad, y dieta. Destaca también el desafío que suponen este tipo de estudios debido a la necesidad de la obtención de microbiota con anterioridad a la infección, la elección del momento adecuado de la obtención de la microbiota y la variabilidad del periodo hasta el desenlace. Ello podría ser más fácil con el reclutamiento de participantes que se expongan de forma voluntaria a la infección, pero ello implica consideraciones éticas.

Todas estas características podrían relacionarse con la escasa evidencia encontrada. Sin embargo, y coincidiendo con revisiones previas (25,28) existe mayor número, aunque también limitado, de estudios que han analizado la relación de los cambios en la microbiota nasofaríngea e intestinal con complicaciones y/o severidad de infecciones respiratorias en adultos, en concreto 8 estudios. Cuatro de ellos eran estudios transversales con un nivel de evidencia menor, y solo se encontraron 4 estudios prospectivos sobre 3 tipos de infección respiratoria diferente, infección debida a SARS-Cov-2 (33), rinovirus (39) e influenza (35).

Todos los estudios prospectivos encontraron efectos protectores o de aumento de complicaciones o severidad de diversas bacterias, sin hallar coincidencias, excepto Hofstra JJ et al (41) el cual no halló relación entre la abundancia o diversidad bacteriana y la severidad y/o complicaciones de la infección vírica. Los géneros *Coprobacillus*, *Moraxella*, y *Neisseria*, *Haemophilus* y *Fusobacterium* mostraron asociación con severidad en la enfermedad asociada a infección de SARS-Cov-2 (33), rinovirus (39) e influenza (35) respectivamente. *Clostridium* spp y *Prevotella* spp mostraron asociación con severidad en el caso de SARS-Cov-2 (33) e influenza (35). Sin embargo, los géneros *Staphylococcus*, *Pseudomona* y *Corynebacterium* se asociaron con menor

severidad para infección de rinovirus, las especies *Alistipes onderdonkii* y *Faecalibacterium prausnitzii* se asociaron con menor severidad de COVID y *Veinella* spp y *Streptococcus* spp con menor severidad de influenza. Cabe destacar que la muestra de microbiota del estudio prospectivo realizado en relación a SARS-Cov-2 (33) proviene de heces, siendo el único estudio, incluido en esta revisión, que estudia la relación de la influencia de la microbiota intestinal en la severidad de infección vírica.

Con respecto a los estudios transversales (31,32,34,38) incluidos en esta revisión sistemática también se encontraron efectos protectores o de aumento de complicaciones o severidad de COVID y gripe de diversas bacterias. La mayoría de estudios se realizaron en relación a infección por influenza aunque en diferentes subtipos. Los resultados fueron muy heterogéneos e incluso contradictorios en el caso de ciertos géneros como *Streptococcus* y *Prevotellaceae* (34,38) poniendo de manifiesto la importancia de analizar la microbiota a nivel de especie. La especie *Haemophilus influenzae* mostró un efecto protector frente a severidad tanto para infección por SARS-Cov-2 (32) como para influenza (31). En cuanto a la relación de diversidad bacteriana con severidad de la infección los resultados fueron inconsistentes. Además, la heterogeneidad observada entre estudios no ha hecho posible el análisis cuantitativo mediante metanálisis de las asociaciones observadas.

La evidencia previa en estudios realizados en población infantil expone que estudios de cohortes también han mostrado un aumento de *Moraxella* en niños y neonatos en la infección por rinovirus (48). Además de *Moraxella*, también destaca un aumento de *Haemophilus*. En contraposición, en la infección por VRS no destacan ni *Moraxella* ni *Haemophilus*, los cuales se encuentran en baja carga (49). En la infección por VRS sí que destaca la presencia de especies de *Streptococcus*, que se relaciona con un aumento en la severidad de la bronquiolitis (50). Otro estudio transversal realizado durante la infección por RSV asocia la gravedad de la infección con *Haemophilus influenzae*, mientras que la gravedad se asocia negativamente con *Streptococcus* spp (51). Otro artículo añade que la dominancia de *Moraxella* durante la infección por RSV supone una hospitalización menor, mientras que la presencia de *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus* spp se asocian con mayor hospitalización (52). En relación con la gripe, en otro estudio realizado en niños, se predice la infección severa por influenza ante el aumento de la diversidad de bacterias en la nasofaringe, en concreto las especies más abundantes fueron *Prevotella melaninogenica* y *Veillonella dispar* (53). Como se observa, hay resultados heterogéneos y también contradictorios entre los diferentes estudios. Esta inconsistencia en los resultados también se ha

destacado en algunas revisiones previas (25,28,54), remarcando la importancia de identificar el grupo taxonómico de las bacterias a nivel de especie puesto que especies de un mismo género han mostrado efectos opuestos como es el caso de *Moraxella* spp y *Haemophilus* spp (55). A pesar de que no se haya detectado una microbiota específica en adultos, sin embargo, en relación a la severidad, algunas revisiones como Pichon et al (28) y Diaz- Diaz et al (54) refieren que la microbiota modula las consecuencias clínicas durante las infecciones respiratorias interaccionando con el sistema inmune.

Así pues, en esta revisión podemos encontrar algunas limitaciones que pueden afectar a los resultados. La variabilidad encontrada en los resultados puede deberse a los diferentes agentes víricos evaluados, el tipo de diseño transversal o prospectivo y el nivel de caracterización de la microbiota (familia, género, especie) como se ha expuesto anteriormente pero también a otros factores. Los estudios difieren en las características de los participantes. Hay variación en la región geográfica y en la edad ya que algunos estudios también incluyen niños (35–37). Esto puede aumentar la heterogeneidad debido a que la edad está asociada a cambios en la composición de la microbiota (44). También incluyen voluntarios sanos, contactos en hogares y hospitalizados que pueden diferir en el estado inicial de salud y, por lo tanto, en la microbiota. Además, para medir la severidad los estudios utilizan métodos bastante diferentes entre sí, algunos de los cuales son medidas subjetivas, como la medición de síntomas (35,39,41) y por tanto variables entre individuos.

También se observan diferencias en los periodos de seguimiento y en el momento y tipo de muestra de microbiota. Solo se ha encontrado un estudio que haya estudiado la relación entre la microbiota fecal y severidad por infección vírica (33). Sin embargo, se está dando especial importancia al estudio conjunto de la microbiota respiratoria e intestinal (25) ya que podría ayudar a identificar la microbiota asociada a susceptibilidad y severidad por infección vírica así como futuras perspectivas en diagnóstico y tratamiento.

En segundo lugar, también aporta variabilidad que el tema sea novedoso y no se posea tanta experiencia como en otros campos. Esto queda reflejado en esta revisión ya que, a pesar de no haber incluido restricciones en la fecha de publicación de los estudios incluidos, muchos de ellos tienen fecha de publicación menor de 2 años. En relación con ello, se observa también diferencias entre estudios en las técnicas de análisis de microbiota y abordajes en el análisis estadístico en busca de aumentar la validez de los estudios, que podrían influir en la síntesis de los resultados observados (25).

Además, la microbiota no solo está compuesta por bacterias sino también por virus, hongos etc... que pueden influir también en la relación entre microbiota e infecciones víricas (28). Las técnicas actuales de metagenómica permiten la detección de los diferentes microorganismos, sin embargo, en la presente revisión sistemática solo se ha encontrado un estudio que haya detectado bacterias y virus (31).

Por otro lado, los estudios prospectivos generan un nivel de evidencia mayor que el resto de estudios observacionales. Sin embargo, para incluir un mayor número de artículos que pudieran aportar información adicional, esta revisión no solo incluye estudios prospectivos, sino que también incluye estudios transversales que presentan menor el nivel de evidencia científica. Esto se debe al número limitado de artículos originales, en parte debido a la dificultad y desafío que representa obtener muestras de microbiota en diferentes momentos de la infección, sobre todo antes y después de la infección.

En relación al párrafo anterior, otra limitación importante es el bajo tamaño de muestra de algunos de los estudios. Los estudios con menor número de participantes incluyen a 6 y a 10 voluntarios que se inoculan con rinovirus (40,41), a 15 sujetos con infección COVID (33) y a 21 pacientes con influenza y con infección pulmonar bacteriana secundaria (38).

También se han detectado sesgos que podrían condicionar los resultados observados. Los transversales han mostrado bajas puntuaciones en la escala de NOS, sobre todo en el dominio relacionado con el sesgo de selección. Esto se debe a que ninguno de los estudios justifica el tamaño de muestra ni aporta información de los sujetos no reclutados de la población diana. En el caso de los prospectivos, en general, el proceso de selección presenta menor riesgo de sesgo. También 3 de los estudios podrían presentar sesgo de autoselección o del voluntario (39–41).

También destaca que solo algunos estudios ajustan por factores de confusión en el análisis de los resultados (31,33,35–37). El resto de estudios tiene un mayor riesgo de sesgo por confusión porque no realizan ajuste en el análisis por los factores de confusión. Dubourg et al (25) destaca la necesidad de ajuste por variables importantes como edad y estado de vacunación y además, reclama la realización de nuevos estudios que ayuden a clarificar los principales factores de confusión. En esta revisión sistemática se han recopilado las siguientes variables: edad, sexo, comorbilidades, uso de antibióticos, consumo de tabaco, tipo de comunidad microbiana al inicio del estudio y

estado de vacunación. Sin embargo, otro factor de confusión importante como la dieta (25) no se ha tenido en cuenta en ninguno de los estudios.

Por otro lado, otra limitación inherente de las revisiones sistemáticas, el sesgo de publicación (46). Este sesgo consiste en una alteración en los resultados debido a que se tiende a publicar más los estudios que concluyen con resultados a favor de las hipótesis que se estudia. De esta manera, las revisiones tienden a sobreestimar el efecto o asociación que se estudia porque no se incluyen los estudios no publicados que van en el sentido opuesto. En este caso, los resultados probablemente están más influidos por estudios que han encontrado asociación entre la microbiota y las infecciones virales que en estudios que no han encontrado asociación. Otra limitación, es que a pesar de que se ha diseñado una búsqueda sistemática y exhaustiva, es posible que no se hayan encontrado algunos estudios, sobre todo aquellos que no hayan sido publicados en las bases de datos de PubMed y Scopus o publicados en otro idioma diferente al español o el inglés.

En conclusión, en la presente revisión sistemática, que incluye 11 estudios, se muestra evidencia de la asociación entre la microbiota respiratoria e intestinal y la susceptibilidad a infección vírica o severidad debida a la infección en población adulta. Se observan tanto efectos protectores como de aumento de riesgo. Sin embargo, debido a diferencias en los diversos agentes víricos, características de la población, diseño de estudios, técnicas de caracterización de microbiota y análisis estadístico la comparabilidad entre estudios es difícil y los resultados heterogéneos, de manera, que no es posible establecer bacterias específicas que se hayan asociado de forma consistente entre estudios la susceptibilidad a infección vírica o severidad debida a la infección en población adulta. La evidencia obtenida en esta revisión destaca el creciente interés en el estudio de la microbiota objetivando un aumento de los estudios sobre este tema en los últimos años. Además, proyectos como The Human Microbiome Project (12) que pretende ampliar el conocimiento de la microbiota y su papel en la salud y en la enfermedad.

Así pues, es indiscutible que en los seres humanos conviven microorganismos que repercuten en la salud y, en concreto, en las infecciones respiratorias víricas. El reto actual recae en cómo estos microorganismos se relacionan con la protección o la predisposición en la susceptibilidad y severidad a las infecciones. Una vez se establezca dicha relación, las futuras investigaciones podrán centrarse en terapias, como el uso de

probióticos, que modulen la interacción de la microbiota con los virus respiratorios, cambiando el manejo actual y limitado de las infecciones respiratorias víricas.

## 6. CONCLUSIONES

Con respecto a la influencia de la microbiota respiratoria e intestinal sobre la susceptibilidad de infecciones víricas respiratorias se han observado asociación con bacterias protectoras y que aumentan el riesgo. Sin embargo, los estudios son escasos, debido en parte al desafío que representa el desarrollo de los mismos. Se detectaron 3 estudios prospectivos sobre infección por influenza y rinovirus. No se detectaron estudios con microbiota intestinal. En dos estudios prospectivos, realizados en la misma población, pero con diferencias en la metodología, se ha mostrado una asociación de *Prevotella* spp con mayor riesgo de infección por influenza que debe ser confirmada en futuros estudios. Sin embargo, la variabilidad de bacterias que han mostrado protección es amplia. La consideración de los subtipos de influenza, el diferente abordaje en el análisis estadístico y diferente ajuste por variables de confusión con especial atención al estado de vacunación podrían explicar las discrepancias en los resultados.

Con respecto a estudios que han analizado la relación de los cambios en la microbiota nasofaríngea e intestinal con complicaciones y/o severidad de infecciones respiratorias en adultos, se detectaron 8 estudios, 4 de ellos transversales con un nivel de evidencia menor, y 4 estudios prospectivos sobre 3 tipos de infección respiratoria diferente, infección debida a SARS-Cov-2, rinovirus e influenza. Solo uno de ellos analiza microbiota fecal. Todos los estudios prospectivos y transversales encontraron efectos protectores o de aumento de complicaciones o severidad de diversas bacterias, sin hallar coincidencias, excepto uno de ellos que no encontró asociación.

Se detectó mayor riesgo de sesgo en los estudios transversales que en los estudios prospectivos. Aun así, se observó gran variabilidad entre los estudios en cuanto a características de la población, definición de severidad, periodo de seguimiento, tipo de muestra de microbiota, técnicas de análisis de microbiota y abordaje en el análisis estadístico.

Se recomienda para futuros estudios aumentar el tamaño de muestra, caracterizar la microbiota a nivel de especie puesto que a nivel de género se pueden encontrar resultados contradictorios, estudiar el papel de otros componentes de la microbiota como hongos y virus, estudiar de forma conjunta la microbiota respiratoria y la microbiota intestinal, realizar estudios con periodos de seguimiento más largos, con diversas tomas de muestra en diferentes puntos del periodo de seguimiento, y que tengan en cuenta variables de confusión como edad, sexo, comorbilidades, uso de antibióticos, consumo de tabaco, tipo de comunidad microbiana al inicio del estudio, estado de vacunación y

dieta así como, explorar nuevos factores de confusión que pueden influir en la asociación entre microbiota respiratoria e intestinal y la susceptibilidad o severidad de infecciones víricas respiratorias.

Todo ello contribuirá a un conocimiento más profundo en la relación entre microbiota e infecciones respiratorias víricas que conduzca a futuros avances en pronóstico, diagnóstico y tratamiento de las infecciones respiratorias víricas.

## 7. REFERENCIAS

1. Beltrán de Heredia MR. Microbiota autóctona. *Farm Prof.* 2017; 31 (2): 17-21
2. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev.* 2012;70:S38–44.
3. Davidson RM, Epperson LE. Microbiome Sequencing Methods for Studying Human Diseases.. 2018;1706:77-90
4. Cercenado Mansilla Rafael Cantón Moreno María Luisa Mateos Lindemann María Luisa Mateos Lindemann Sonia Pérez-Castro María Teresa Pérez-Gracia Manuel Rodríguez-Iglesias E, Cercenado Mansilla Rosa del Campo Moreno Teresa Alarcón Caveró Rafael Cantón Moreno Giuseppe ED, Susana Delgado Palacio Rosa del Campo Moreno Manuel Ferrer Martínez A. Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus del papiloma humano 59 MICROBIOTA. 2016.
5. Al-Judaibi AA. Microbiota and their influence in the human body. *J Pure Appl Microbiol.* 2021;15(1):42–52.
6. Marsland BJ, Aur´ A, Trompette A, Gollwitzer ES. The Gut-Lung Axis in Respiratory Disease. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12:150–6.
7. Leon T Dicks Distinguished Professor PM. The gut-lung link: a vital connection . 2020
8. Shahbazi R, Yasavoli-Sharahi H, Alsadi N, Ismail N, Matar C. Probiotics in Treatment of Viral Respiratory Infections and Neuroinflammatory Disorders. *Molecules.* 2020;25(21).
9. Bordes Benítez A, Díez O, María G, Fernández L, Lara Pérez M. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón Coordinador: Oscar Díez Gil Autores: Ninive Batista Díaz. 2006.
10. Dumas A, Bernard L, Poquet Y, Lugo-Villarino G, Neyrolles O. The role of the lung microbiota and the gut–lung axis in respiratory infectious diseases. 2018; 20(12)
11. Enaud R, Prevel R, Ciarlo E, Beaufilets F, Wieërs G, Guery B, et al. The Gut-Lung Axis in Health and Respiratory Diseases: A Place for Inter-Organ and Inter-Kingdom Crosstalks. 2020; 10:9
12. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project. 2007; 449: 804-10
13. Stiemsma LT, Turvey SE. Asthma and the microbiome: defining the critical window in early life. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2017;13:3.
14. Huang YJ, Lipuma JJ. The Microbiome in Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med.* 2016;37:59–67.

15. Bowerman KL, Rehman SF, Vaughan A, Lachner N, Budden KF, Kim RY, et al. Disease-associated gut microbiome and metabolome changes in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Commun.* 2020 Dec 1;11(1).
16. OMS. 2020. Las 10 principales causas de defunción [Internet]. [cited 2020 Dec 3] Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
17. Pagarolas AA, Suñé TP. Diagnóstico microbiológico de las infecciones virales respiratorias en el paciente adulto. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014 Feb 1; 32(SUPPL.1):51–6.
18. Mira JJ. COVID-19 pandemic: Now what? *J Healthc Qual Res.* 2020 May 1;35(3):133–5.
19. Comité Asesor de Vacunas de la AEP. Gripe: balance final de la temporada 2019-2020 | [Internet]. [cited 2021 May 15]. Available from: <https://vacunasaep.org/profesionales/noticias/gripe-espana-balance-2019-2020>
20. AEPED. Virus respiratorio sincitial [Internet]. [cited 2021 May 17]. Available from: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/vrs.pdf>
21. CinfaSalud. III Estudio CinfaSalud en torno a la gripe y al resfriado. [Internet]. [cited 2021 May 15]. Available from: <https://cinfasalud.cinfa.com/p/estudio-cinfasalud-gripe-y-resfriado/>
22. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Actualización nº 355. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19). 16.04.2021 [Internet]. [cited 2021 May 17]. Available from: [https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCoV/documentos/Actualizacion\\_355\\_COVID-19.pdf](https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCoV/documentos/Actualizacion_355_COVID-19.pdf)
23. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias INFORMACIÓN CIENTÍFICA-TÉCNICA Enfermedad por coronavirus, COVID-19 [Internet]. [cited 2021 May 17]. Available from: <https://www.aemps.gob.es/https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/prevPromocion/vacunaciones/covid19/vacunasCovid19.htm>
24. C. Calvo Rey, M.L. García García, I. Casas Flecha\* PPB. Infecciones respiratorias virales. 2012; 19:190–203,.
25. Dubourg G, Edouard S, Raoult D. Relationship between nasopharyngeal microbiota and patient's susceptibility to viral infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2019;17(6):437–47.
26. Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: At the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics.* Nature Publishing Group. 2012; 13:260-70.
27. Dinwiddie DL, Denson JL, Kennedy JL. Role of the Airway Microbiome in Respiratory Infections and Asthma in Children. *Pediatr Allergy, Immunol Pulmonol.* 2018 Dec 1;31(4):236–40.
28. Pichon M, Lina B, Josset L. Impact of the respiratory microbiome on host

- responses to respiratory viral infection. *Vaccines*. 2017;5(4).
29. Urrútia G, Bonfill X. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Med Clin*. 2010;135(11):507-511
  30. Ottawa Hospital Research Institute [Internet]. [cited 2021 Apr 2]. Available from: [http://www.ohri.ca/programs/clinical\\_epidemiology/oxford.asp](http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp)
  31. Palacios G, Hornig M\*, Cisterna D, Savji N, Bussetti AV, Kapoor V, et al. *Streptococcus pneumoniae* Coinfection Is Correlated with the Severity of H1N1 Pandemic Influenza. *PLoS One*. 2009; 4(12)
  32. Mostafa HH, Fissel JA, Fanelli B, Bergman Y, Gniazdowski V, Dadlani M, et al. Metagenomic next-generation sequencing of nasopharyngeal specimens collected from confirmed and suspect covid-19 patients. *MBio*. 2020;11(6):1–13.
  33. Zuo T, Liu Q, Zhang F, Lui GCY, Tso EYK, Yeoh YK, et al. Depicting SARS- CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19. *Gut*. 2020 Feb 1; 70 (2)
  34. Qin T, Geng T, Zhou H, Han Y, Ren H, Qiu Z, et al. Super-dominant pathobiontic bacteria in the nasopharyngeal microbiota as causative agents of secondary bacterial infection in influenza patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Jan 1;9(1):605–15.
  35. Lee KH, Foxman B, Kuan G, López R, Shedden K, Ng S. The respiratory microbiota: associations with influenza symptomatology and viral shedding. *Ann Epidemiol*. 2019 Sep;37:51-56.
  36. Lee KH, Gordon A, Shedden K, Kuan G, Ng S, Balmaseda A, et al. The respiratory microbiome and susceptibility to influenza virus infection. *PLoS One* 2019 Jan 9;14(1) (a)
  37. Tsang TK, Lee KH, Foxman B, Balmaseda A, Gresh L, Sanchez N, et al. Association between the respiratory microbiome and susceptibility to influenza virus infection. *Clin Infect Dis*. 2020;71(5):1195–203. (b)
  38. Lu HF, Li A, Zhang T, Ren ZG, He KX, Zhang H, et al. Disordered oropharyngeal microbial communities in h7n9 patients with or without secondary bacterial lung infection. *Emerg Microbes Infect*. 2017;6(1).
  39. Lehtinen MJ, Hibberd AA, Männikkö S, Yeung N, Kauko T, Forssten S, et al. Nasal microbiota clusters associate with inflammatory response, viral load, and symptom severity in experimental rhinovirus challenge. *Sci Rep*. 2018 Jul 30;8(1):11411
  40. Allen EK, Koepfel AF, Hendley JO, Turner SD, Winther B, Sale MM. Characterization of the nasopharyngeal microbiota in health and during rhinovirus challenge. *Microbiome*. 2014;2:22.
  41. Hofstra JJ, Matamoros S, van de Pol MA, de Wever B, Tanck MW, Wendt-Knol H, et al. Changes in microbiota during experimental human Rhinovirus infection. *BMC Infect Dis*. 2015 Aug;15:336.

42. Yuan L, Hensley C, Mahsoub HM, Ramesh AK, Zhou P. Microbiota in viral infection and disease in humans and farm animals. Vol. 171, Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2020. 15–60 p.
43. Esposito S, Principi N. Impact of nasopharyngeal microbiota on the development of respiratory tract diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37(1).
44. Wilks J, Golovkina T. Influence of microbiota on viral infections. *PLoS Pathog*. 2012 May; 8(5)
45. Li N, Ma W-T, Pang M, Fan Q-L, Hua J-L. The commensal microbiota and viral infection: A comprehensive review. *Front Immunol*. 2019;10(JULY).
46. Delgado-Rodríguez M, Llorca J. Bias. *J Epidemiol Community Health*. 2004 Aug;58(8):635-41.
47. van den Broek MFL, De Boeck I, Claes IJJ, Nizet V, Lebeer S. Multifactorial inhibition of lactobacilli against the respiratory tract pathogen *Moraxella catarrhalis*. *Benef Microbes*. 2018 Apr 25;9(3):429-439.
48. Kloepfer KM, Sarsani VK, Poroyko V, Lee WM, Pappas TE, Kang T, et al. Community-acquired rhinovirus infection is associated with changes in the airway microbiome. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Jul 1;140(1):312-315.e8.
49. Mansbach JM, Hasegawa K, Henke DM, Ajami NJ, Petrosino JF, Shaw CA. Respiratory syncytial virus and rhinovirus severe bronchiolitis are associated with distinct nasopharyngeal microbiota. *J Allergy Clin Immunol*. 137(6):1909-1913.
50. Schippa S, Frassanito A, Marazzato M, Nenna R, Petrarca L, Neroni B. Nasal Microbiota in RSV Bronchiolitis. 2020 May; 8(5): 731.
51. Sonawane AR, Tian L, Chu CY, Qiu X, Wang L, Holden-Wiltse J. Microbiome-Transcriptome Interactions Related to Severity of Respiratory Syncytial Virus Infection. *Sci Rep*. 2019 Dec 1;9(1).
52. de Steenhuijsen Piters WAA, Heinonen S, Hasrat R, Bunsow E, Smith B, Suarez-Arrabal M-C. Nasopharyngeal Microbiota, Host Transcriptome, and Disease Severity in Children with Respiratory Syncytial Virus Infection. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Nov;194(9):1104–15.
53. Langevin S, Pichon M, Smith E, Morrison J, Bent Z, Green R, et al. Early nasopharyngeal microbial signature associated with severe influenza in children: a retrospective pilot study. 2017 Oct;98(10):2425-2437
54. Diaz-Diaz A, Garcia-Maurino C, Jordan-Villegas A, Naples J, Ramilo O, Mejias A. Viral Bacterial Interactions in Children: Impact on Clinical Outcomes. 2019 Jun;38(6S Suppl 1):S14-S19.
55. Edouard S, Million M, Bachar D, et al. The nasopharyngeal microbiota in patients with viral respiratory tract infections is enriched in bacterial pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37:1725–1733.

## 8. ANEXOS

### ANEXO 1: Lista de comprobación de los ítems para incluir en la publicación de una revisión sistemática (con o son metaanálisis). La declaración PRISMA.

Sección/tema	Número	Ítem
Título		
Título	1	Identificar la publicación como revisión sistemática, metaanálisis o ambos
Resumen		
Resumen estructurado	2	Facilitar un resumen estructurado que incluya, según corresponda: antecedentes; objetivos; fuente de los datos; criterios de elegibilidad de los estudios, participantes e intervenciones; evaluación de los estudios y métodos de síntesis; resultados; limitaciones; conclusiones e implicaciones de los hallazgos principales; número de registro de la revisión sistemática
Introducción		
Justificación	3	Describir la justificación de la revisión en el contexto de lo que ya se conoce sobre el tema
Objetivos	4	Plantear de forma explícita las preguntas que se desea contestar en relación con los participantes, las intervenciones, las comparaciones, los resultados y el diseño de los estudios (PICOS)*
Métodos		
Protocolo y registro	5	Indicar si existe un protocolo de revisión al que se pueda acceder (por ej., dirección web) y, si está disponible, la información sobre el registro, incluyendo su número de registro
Criterios de elegibilidad	6	Especificar las características de los estudios (por ej., PICOS, duración del seguimiento) y de las características (por ej., años abarcados, idiomas o estatus de publicación) utilizadas como criterios de elegibilidad y su justificación
Fuentes de información	7	Describir todas las fuentes de información (por ej., bases de datos y períodos de búsqueda, contacto con los autores para identificar estudios adicionales, etc.) en la búsqueda y la fecha de la última búsqueda realizada
Búsqueda	8	Presentar la estrategia completa de búsqueda electrónica en, al menos, una base de datos, incluyendo los límites utilizados, de tal forma que pueda ser reproducible
Selección de los estudios	9	Especificar el proceso de selección de los estudios (por ej., el cribado y la elegibilidad incluidos en la revisión sistemática y, cuando sea pertinente, incluidos en el metaanálisis)
Proceso de extracción de datos	10	Describir los métodos para la extracción de datos de las publicaciones (por ej., formularios pilotado, por duplicado y de forma independiente) y cualquier proceso para obtener y confirmar datos por parte de los investigadores
Lista de datos	11	Listar y definir todas las variables para las que se buscaron datos (por ej., PICOS, fuente de financiación) y cualquier asunción y simplificación que se hayan hecho
Riesgo de sesgo en los estudios individuales	12	Describir los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo en los estudios individuales (especificar si se realizó al nivel de los estudios o de los resultados) y cómo esta información se ha utilizado en la síntesis de datos
Medidas de resumen	13	Especificar las principales medidas de resumen (por ej., razón de riesgos o diferencia de medias)
Síntesis de resultados	14	Describir los métodos para manejar los datos y combinar resultados de los estudios, cuando esto es posible, incluyendo medidas de consistencia (por ej., ítem 2) para cada metaanálisis
Riesgo de sesgo entre los estudios	15	Especificar cualquier evaluación del riesgo de sesgo que pueda afectar la evidencia acumulativa (por ej., sesgo de publicación o comunicación selectiva)
Análisis adicionales	16	Describir los métodos adicionales de análisis (por ej., análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión), en el caso de que se hiciera, indicar cuáles fueron preespecificados
Resultados		
Selección de estudios	17	Facilitar el número de estudios cribados, evaluados para su elegibilidad e incluidos en la revisión, y detallar las razones para su exclusión en cada etapa, idealmente mediante un diagrama de flujo
Características de los estudios	18	Para cada estudio presentar las características para las que se extrajeron los datos (por ej.,
Riesgo de sesgo en los estudios	19	Presentar datos sobre el riesgo de sesgo en cada estudio y, si está disponible, cualquier evaluación del sesgo en los resultados (ver ítem 12)
Resultados de los estudios individuales	20	Para cada resultado considerado en cada estudio (beneficios o daños), presentar: a) el dato resumen para cada grupo de intervención y b) la estimación del efecto con su intervalo de confianza, idealmente de forma gráfica mediante un diagrama de bosque ( <i>forest plot</i> )
Síntesis de los resultados	21	Presentar los resultados de todos los metaanálisis realizados, incluyendo los intervalos de confianza y las medidas de consistencia
Riesgo de sesgo entre los estudios	22	Presentar los resultados de cualquier evaluación del riesgo de sesgo entre los estudios (ver ítem 15)
Análisis adicionales	23	Facilitar los resultados de cualquier análisis adicional, en el caso de que se hayan realizado (por ej., análisis de sensibilidad o de subgrupos, metarregresión [ver ítem 16])
Discusión		
Resumen de la evidencia	24	Resumir los hallazgos principales, incluyendo la fortaleza de las evidencias para cada resultado principal: considerar su relevancia para grupos clave (por ej., proveedores de cuidados, usuarios y decisores en salud)
Limitaciones	25	Discutir las limitaciones de los estudios y de los resultados (por ej., riesgo de sesgo) y de la revisión (por ej., obtención incompleta de los estudios identificados o comunicación selectiva)
Conclusiones	26	Proporcionar una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias, así como las implicaciones para la futura investigación
Financiación		
Financiación	27	Describir las fuentes de financiación de la revisión sistemática y otro tipo de apoyos (por ej., aporte de los datos), así como el rol de los financiadores en la revisión sistemática

**ANEXO 2:** Evaluación de la calidad estudios transversales con la herramienta Newcastle-Ottawa Scale adapted for cross-sectional studies

**METAGENOMIC NEXT-GENERATION SEQUENCING OF NASOPHARYNGEAL SPECIMENS COLLECTED FROM CONFIRMED AND SUSPECT COVID-19 PATIENTS** Mostafa et al, 2020

**Selection:**

- 1) Representativeness of the sample:
  - a) **Truly representative of the average in the target population ★ (all subjects or random sampling)** *Se obtuvieron 50 muestras de hisopos nasofaríngeos seleccionados al azar de 40 pacientes con COVID-19 y 10 pacientes con sospecha de tener COVID-19.*
  - b) Somewhat representative of the average in the target group.★ (non-random sampling)
  - c) Selected group of users/convenience sample.
  - d) No description of the derivation of the included subjects.
  
- 2) Sample size:
  - a) Justified and satisfactory (including sample size calculation). ★
  - b) **Not justified.** *No incluye cálculos para el tamaño muestral ni lo justifica*
  - c) No information provided
  
- 3) Non-respondents:
  - a) Proportion of target sample recruited attains pre-specified target or basic summary of non-respondent characteristics in sampling frame recorded. ★
  - b) Unsatisfactory recruitment rate, no summary data on non-respondents.
  - c) **No information provided** *No información sobre los sujetos no reclutados de la población diana.*
  
- 4) Ascertainment of the exposure (risk factor):
  - a) **Vaccine records/vaccine registry/clinic registers/hospital records only. ★ ★** *Secuenciación metagenómica para determinar la microbiota.*
  - b) Parental or personal recall and vaccine/hospital records. ★
  - c) Parental/personal recall only.

**Comparability:** (Maximum 2 stars)

- 1) Comparability of subjects in different outcome groups on the basis of design or analysis. Confounding factors controlled.
  - a) Data/ results adjusted for relevant predictors/risk factors/confounders e.g. age, sex, time since vaccination, etc. ★ ★
  - b) **Data/results not adjusted for all relevant confounders/risk factors/information not provided.** *Análisis univariable.*

### Outcome:

- 1) Assessment of outcome:
  - a) Independent blind assessment using objective validated laboratory methods. ★ ★
  - b) **Unblinded assessment using objective validated laboratory methods.** ★ ★  
*Índice de gravedad (4 categorías: no ingreso hospital, ingreso hospital, ingreso UCI, intubación)*
  - c) Used non-standard or non-validated laboratory methods with gold standard. ★
  - d) No description/non-standard laboratory methods used.
  
- 2) Statistical test:
  - a) **Statistical test used to analyse the data clearly described, appropriate and measures of association presented including confidence intervals and probability level (p value).** ★
  - b) Statistical test not appropriate, not described or incomplete.

<p><b>DISORDERED OROPHARYNGEAL MICROBIAL COMMUNITIES IN H7N9 PATIENTS WITH OR WITHOUT SECONDARY BACTERIAL LUNG INFECTION H.</b> Lu et al</p>
--

### Selection:

- 1) Representativeness of the sample:
  - a) Truly representative of the average in the target population. ★ (all subjects or random sampling)
  - b) Somewhat representative of the average in the target group. ★ (non-random sampling)
  - c) **Selected group of users/convenience sample.** *Los participantes del estudio fueron voluntarios introducidos por su medico.*
  - d) No description of the derivation of the included subjects.
  
- 2) Sample size:
  - a) Justified and satisfactory (including sample size calculation). ★
  - b) **Not justified.** *No incluye cálculos para el tamaño muestral ni lo justifica*
  - c) No information provided
  
- 3) Non-respondents:
  - a) Proportion of target sample recruited attains pre-specified target or basic summary of non-respondent characteristics in sampling frame recorded. ★
  - b) Unsatisfactory recruitment rate, no summary data on non-respondents.
  - c) **No information provided** *No información sobre los sujetos no reclutados de la población diana.*
  
- 4) Ascertainment of the exposure (risk factor):
  - a) **Vaccine records/vaccine registry/clinic registers/hospital records only.** ★ ★  
*Secuenciación de 16S rRNA /región V3y V4*
  - b) Parental or personal recall and vaccine/hospital records. ★
  - c) Parental/personal recall only.

**Comparability:** (Maximum 2 stars)

- 1) Comparability of subjects in different outcome groups on the basis of design or analysis. Confounding factors controlled.
  - a) Data/ results adjusted for relevant predictors/risk factors/confounders e.g. age, sex, time since vaccination, etc. ★ ★
  - b) Data/results not adjusted for all relevant confounders/risk factors/information not provided. *Análisis univariante***

**Outcome:**

- 1) Assessment of outcome:
  - a) Independent blind assessment using objective validated laboratory methods. ★ ★
  - b) Unblinded assessment using objective validated laboratory methods. ★ ★**  
*La infección secundaria bacteriana fue determinada por métodos de laboratorio y registros médicos.*
  - c) Used non-standard or non-validated laboratory methods with gold standard. ★
  - d) No description/non-standard laboratory methods used.
  
- 2) Statistical test:
  - a) Statistical test used to analyse the data clearly described, appropriate and measures of association presented including confidence intervals and probability level (p value). ★**
  - b) Statistical test not appropriate, not described or incomplete.

**STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE COINFECTION IS CORRELATED WITH THE SEVERITY OF H1N1 PANDEMIC INFLUENZA** Palacios et al

**Selection:**

- 1) Representativeness of the sample:
  - a) Truly representative of the average in the target population.★ (all subjects or random sampling)** *Las muestras para este estudio fueron seleccionadas al azar.*
  - b) Somewhat representative of the average in the target group.★ (non-random sampling)
  - c) Selected group of users/convenience sample.
  - d) No description of the derivation of the included subjects.
  
- 2) Sample size:
  - a) Justified and satisfactory (including sample size calculation). ★
  - b) Not justified.** *No incluye cálculos para el tamaño muestral ni lo justifica*
  - c) No information provided
  
- 3) Non-respondents:
  - a) Proportion of target sample recruited attains pre-specified target or basic summary of non-respondent characteristics in sampling frame recorded. ★
  - b) Unsatisfactory recruitment rate, no summary data on non-respondents.

c) **No information provided** *No información sobre los sujetos no reclutados de la población diana.*

- 4) Ascertainment of the exposure (risk factor):
- a) **Vaccine records/vaccine registry/clinic registers/hospital records only.**★★  
*MassTag PCR*
  - b) Parental or personal recall and vaccine/hospital records. ★
  - c) Parental/personal recall only.

**Comparability:** (Maximum 2 stars)

- 1) Comparability of subjects in different outcome groups on the basis of design or analysis. Confounding factors controlled.
- a) **Data/ results adjusted for relevant predictors/risk factors/confounders e.g. age, sex, time since vaccination, etc.** ★★ *Análisis multivariable ajustado por presencia de RSV A en los hisopos nasofaríngeos, número total de agentes detectados en hisopos y presencia de factores de riesgo médicos implicados en la severidad por H1N1)*
  - b) Data/results not adjusted for all relevant confounders/risk factors/information not provided.

**Outcome:**

- 1) Assessment of outcome:
- a) Independent blind assessment using objective validated laboratory methods.★★
  - b) **Unblinded assessment using objective validated laboratory methods.** ★★  
*Los casos leves corresponden a pacientes ambulatorios con diagnóstico confirmado de H1N1 y los casos severos corresponden a pacientes con neumonía severa requiriendo hospitalización o asistencia mecánica. No menciona que sea ciego.*
  - c) Used non-standard or non-validated laboratory methods with gold standard. ★
  - d) No description/non-standard laboratory methods used.
- 2) Statistical test:
- a) **Statistical test used to analyse the data clearly described, appropriate and measures of association presented including confidence intervals and probability level (p value).** ★
  - b) Statistical test not appropriate, not described or incomplete.

**SUPER-DOMINANT PATHOBIONTIC BACTERIA IN THE NASOPHARYNGEAL MICROBIOTA AS CAUSATIVE AGENTS OF SECONDARY BACTERIAL INFECTION IN INFLUENZA PATIENTS** Qin et al

**Selection:**

- 1) Representativeness of the sample:
- a) Truly representative of the average in the target population. ★ (all subjects or random sampling)
  - b) Somewhat representative of the average in the target group. ★ (non-random sampling)

- c) **Selected group of users/convenience sample.** *Los participantes del estudio fueron seleccionados (no menciona método) entre los pacientes ingresados en un hospital de China.*
  - d) No description of the derivation of the included subjects.
- 2) Sample size:
- a) Justified and satisfactory (including sample size calculation). ★
  - b) Not justified.** *No incluye cálculos para el tamaño muestral ni lo justifica*
  - c) No information provided
- 3) Non-respondents:
- a) Proportion of target sample recruited attains pre-specified target or basic summary of non-respondent characteristics in sampling frame recorded. ★
  - b) Unsatisfactory recruitment rate, no summary data on non-respondents.
  - c) No information provided** *No información sobre los sujetos no reclutados de la población diana.*
- 4) Ascertainment of the exposure (risk factor):
- a) Vaccine records/vaccine registry/clinic registers/hospital records only. ★★**  
*Secuenciación de 16S rRNA*
  - b) Parental or personal recall and vaccine/hospital records. ★
  - c) Parental/personal recall only.

**Comparability:** (Maximum 2 stars)

- 1) Comparability of subjects in different outcome groups on the basis of design or analysis. Confounding factors controlled.
- a) Data/ results adjusted for relevant predictors/risk factors/confounders e.g. age, sex, time since vaccination, etc. ★ ★
  - b) Data/results not adjusted for all relevant confounders/risk factors/information not provided.** *Análisis univariable*

**Outcome:**

- 1) Assessment of outcome:
- a) Independent blind assessment using objective validated laboratory methods. ★ ★
  - b) Unblinded assessment using objective validated laboratory methods. ★ ★
  - c) Used non-standard or non-validated laboratory methods with gold standard. ★**  
*Severidad medida con criterios clínicos*
  - d) No description/non-standard laboratory methods used.
- 2) Statistical test:
- a) Statistical test used to analyse the data clearly described, appropriate and measures of association presented including confidence intervals and probability level (p value). ★**
  - b) Statistical test not appropriate, not described or incomplete.

**ANEXO 3:** Evaluación de la calidad estudios prospectivos con la herramienta Newcastle-Ottawa Scale assessment scale cohort studies

**THE RESPIRATORY MICROBIOME AND SUSCEPTIBILITY TO INFLUENZA VIRUS INFECTION** Lee et al, 2019 (a)

**Selection**

1) Representativeness of the exposed cohort

- a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
- b) **b) somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★**  
*Los participantes son gente que acude al centro de salud con síntomas de influenza y sus contactos en el hogar*
- c) selected group of users eg nurses, volunteers:
- d) no description of the derivation of the cohort

2) Selection of the non exposed cohort

- a) **a) drawn from the same community as the exposed cohort ★** *Todos los participantes se reclutan igual*
- b) drawn from a different source
- c) no description of the derivation of the non exposed cohort

3) Ascertainment of exposure

- a) **a) secure record (eg surgical records) ★** *Secuenciación de 16S rRNA*
- b) structured interview ★
- c) written self report
- d) no description

4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study

- a) **a) yes ★** *RT-PCR para influenza negativo al inicio del estudio*
- b) No

**Comparability**

1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis

- a) **a) study controls \_\_\_\_\_ select the most important factor) ★**
- b) **b) study controls for any additional factor ★** (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.)  
*Análisis multivariable ajustado por variables de confusión (tipo de comunidad microbiana al inicio del estudio, edad, fumadores en el hogar, hacinamiento en el hogar y agrupación por hogares)*

## Outcome

### 1) Assessment of outcome

- a) independent blind assessment ★
- b) **record linkage** ★ *RT-PCR o anticuerpos específicos de inhibición de hemaglutinación, no menciona que la evaluación sea ciega*
- c) self report
- d) no description

### 2) Was follow-up long enough for outcomes to occur

- a) **yes** (select an adequate follow up period for outcome of interest) ★ *13 días, tiempo suficiente para que se produzca la infección*
- b) no

### 3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **a) complete follow up - all subjects accounted for** ★ *Sin pérdidas de participantes*
- b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost) ★
- c) follow up rate < \_\_\_\_ % (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement

**THE RESPIRATORY MICROBIOTA: ASSOCIATIONS WITH INFLUENZA SYMPTOMATOLOGY AND VIRAL SHEDDING** Lee et al, 2019 (b)

## Selection

### 1) Representativeness of the exposed

- a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
- b) **somewhat representative of the average** \_\_\_\_\_ **in the community** ★  
*Los participantes son gente que va al centro de salud con síntomas de influenza y sus contactos en el hogar*
- c) selected group of users eg nurses, volunteers:
- d) no description of the derivation of the cohort

### 2) Selection of the non exposed cohort

- a) **drawn from the same community as the exposed cohort** ★ *Todos se reclutan igual*
- b) drawn from a different source
- c) no description of the derivation of the non exposed cohort

### 3) Ascertainment of exposure

- a) **a) secure record (eg surgical records)**★ *Secuenciación de 16S rRNA*
- b) structured interview ★
- c) written self report
- d) no description

4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study

- a) **yes** ★
- b) no

**Comparability**

1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis

- a) **study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor)** ★
- b) **study controls for any additional factor** (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.) ★  
*Análisis multivariable ajustado por edad, sexo y agrupación por hogares*

**Outcome**

1) Assessment of outcome

- a) independent blind assessment ★
- b) record linkage ★
- c) **self report** *La duración diseminación viral se mide con tiempo entre la primera RT-PCR positiva y la primera RT-PCR negativa (método de laboratorio) pero la duración sintomatología se mide con un diario de síntomas reportado por los participantes,*
- d) no description

2) Was follow-up long enough for outcomes to occur

- a) **yes (select an adequate follow up period for outcome of interest)** ★ *13 días, se establece un periodo que es el "influenza-associated illness period"*
- b) no

3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **complete follow up - all subjects accounted for** ★ *Sin pérdidas de participantes*
- b) b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost) ★
- c) follow up rate < \_\_\_\_\_ % (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement

**ALTERATIONS IN GUT MICROBIOTA OF PATIENTS WITH COVID-19 DURING TIME OF HOSPITALIZATION** Zuo T et al, 2020

**Selection**

1) Representativeness of the exposed cohort

- a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
- b) **somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community** ★  
*Los participantes son hospitalizados por COVID-19*
- c) selected group of users eg nurses, volunteers

d) no description of the derivation of the cohort

2) Selection of the non exposed cohort

- a) **drawn from the same community as the exposed cohort** ★ *Todos se reclutan igual*
- b) drawn from a different source
- c) no description of the derivation of the non exposed cohort

3) Ascertainment of exposure

- a) **secure record (eg surgical records)**★ *Secuenciación metagenómica*
- b) structured interview ★
- c) written self report
- d) no description

4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study

- a) yes ★
- b) **no** *Pacientes con COVID-19 categorizados según la severidad al inicio del estudio*

## Comparability

1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis

- a) **study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor)** ★
- b) **study controls for any additional factor** ★ (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.)  
*Análisis multivariable ajustado por variables de confusión: edad, género, uso de antibióticos y comorbilidades*

## Outcome

1) Assessment of outcome

- a) independent blind assessment ★
- b) **record linkage**★ *Severidad objetivada por radiografía, saturación de O2, frecuencia respiratoria, PaO2/FiO2, ventilación mecánica.*
- c) self report
- d) no description

2) Was follow-up long enough for outcomes to occur

- a) **yes (select an adequate follow up period for outcome of interest)** ★ *21± 2.4 días*
- b) No

3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **complete follow up - all subjects accounted for** ★ *Sin pérdidas de participantes*
- b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost) ★

- c) follow up rate < \_\_\_\_% (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement

**CHANGES IN MICROBIOTA DURING EXPERIMENTAL HUMAN RHINOVIRUS INFECTION** Hofstra JJ et al, 2015

**Selection**

1) Representativeness of the exposed cohort

- a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
- b) somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
- c) **selected group of users eg nurses, volunteers** *Muestra no aleatoria formada por 6 voluntarios sanos*
- d) no description of the derivation of the cohort

2) Selection of the non exposed cohort

- a) **drawn from the same community as the exposed cohort** ★ *Todos los se reclutan igual*
- b) drawn from a different source
- c) no description of the derivation of the non exposed cohort

3) Ascertainment of exposure

- a) **secure record (eg surgical records)** ★ *Piroecuentación de 16S rRNA*
- b) structured interview \*
- c) written self report
- d) no description

4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study

- a) **yes** ★ *Los participantes están sanos al inicio del estudio*
- b) *no*

**Comparability**

1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis

- a) study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor) ★
- b) study controls for any additional factor (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.) ★  
*Análisis multivariable pero no menciona variables de confusión*

## Outcome

### 1) Assessment of outcome

- a) independent blind assessment ★
- b) record linkage ★
- c) **self report** *Síntomas reportados diariamente por los participantes*
- d) no description

### 2) Was follow-up long enough for outcomes to occur

- a) **yes (select an adequate follow up period for outcome of interest)**★7 días
- b) no

### 3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **complete follow up - all subjects accounted for** ★ *Sin pérdidas de participantes*
- b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost) ★
- c) follow up rate < \_\_\_\_% (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement

<b>ASSOCIATION BETWEEN THE RESPIRATORY MICROBIOME AND SUSCEPTIBILITY TO INFLUENZA VIRUS INFECTION . K Tsang et al, 2019</b>
---

## Selection

### 1) Representativeness of the exposed cohort

- a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ (describe) in the community ★
- b) **somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community** ★ *Los participantes son gente que acude al centro de salud con síntomas de influenza y sus contactos en el hogar*
- c) selected group of users eg nurses, volunteers
- d) no description of the derivation of the cohort

### 2) Selection of the non exposed cohort

- a) **drawn from the same community as the exposed cohort** ★ *Todos se reclutan igual*
- b) drawn from a different source
- c) no description of the derivation of the non exposed cohort

### 3) Ascertainment of exposure

- a) **a) secure record (eg surgical records)** ★ *Secuenciación de 16S rRNA*
- b) structured interview ★
- c) written self report
- d) no description

4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study

- a) **yes** ★ *RT-PCR para influenza negativo al inicio del estudio*
- b) no

**Comparability**

1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis

- a) **study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor) ★**
- b) **study controls for any additional factor ★** (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.)  
*Análisis multivariable ajustado por variables de confusión (grupos de edad, vacunación y tamaño de las casas)*

**Outcome**

1) Assessment of outcome

- a) independent blind assessment ★
- b) **record linkage** ★ *RT-PCR, no menciona que la evaluación sea ciega*
- c) self report
- d) no description

2) Was follow-up long enough for outcomes to occur

- a) **yes** (select an adequate follow up period for outcome of interest) ★ *9-12 días, tiempo suficiente para desarrollar infección*
- b) no

3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **a) complete follow up - all subjects accounted for** ★ *Sin pérdidas de participantes*
- b) b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost) ★
- c) follow up rate < \_\_\_\_\_ % (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement

**NASAL MICROBIOTA CLUSTERS ASSOCIATE WITH INFLAMMATORY RESPONSE, VIRAL LOAD, AND SYMPTOM SEVERITY IN EXPERIMENTAL RHINOVIRUS CHALLENGE** J. Lehtinen et al

**Selection**

1) Representativeness of the exposed cohort

- a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ (describe) in the community ★
- b) somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
- c) **selected group of users eg nurses, volunteers** *Los participantes son voluntarios sanos*
- d) no description of the derivation of the cohort

2) Selection of the non exposed cohort

- a) **drawn from the same community as the exposed cohort** ★
- b) drawn from a different source
- c) no description of the derivation of the non exposed cohort

3) Ascertainment of exposure

- a) **secure record (eg surgical records)** ★ *Secuenciación de 16S rRNA (región V4)*
- b) *structured interview* ★
- c) written self report
- d) no description

4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study

- a) **yes** *Los participantes estaban sanos al inicio del estudio* ★
- b) no

### Comparability

1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis

- a) **study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor)** ★
- b) study controls for any additional factor ★ (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.) *Análisis univariable*

### Outcome

1) Assessment of outcome

- a) independent blind assessment ★
- b) **record linkage** ★ *La carga viral y la inflamación se miden por métodos de laboratorio. La gravedad sintomática se mide por score validados que rellenan los participantes*
- c) no description

2) Was follow-up long enough for outcomes to occur

- a) **yes (select an adequate follow up period for outcome of interest)** *5★días son suficientes para determinar la gravedad de un resfriado común.*
- b) No

3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **complete follow up - all subjects accounted for** ★ *sin pérdidas de participantes*
- b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost
- c) follow up rate < \_\_\_\_\_% (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement

## CHARACTERIZATION OF THE NASOPHARYNGEAL MICROBIOTA IN HEALTH AND DURING RHINOVIRUS CHALLENGE Allen et al

### Selection

- 1) Representativeness of the exposed cohort
  - a) truly representative of the average \_\_\_\_\_ (describe) in the community ★
  - b) somewhat representative of the average \_\_\_\_\_ in the community ★
  - c) **selected group of users eg nurses, volunteers** *Los participantes son voluntarios sanos*
  - d) no description of the derivation of the cohort
- 2) Selection of the non exposed cohort
  - a) **drawn from the same community as the exposed cohort** ★
  - b) drawn from a different source
  - c) no description of the derivation of the non exposed cohort
- 3) Ascertainment of exposure
  - a) **secure record (eg surgical records)** ★ *pirosecuenciación del gen ARNr 16S*
  - b) structured interview ★
  - c) written self report
  - d) no description
- 4) Demonstration that outcome of interest was not present at start of study
  - a) **yes** *Los participantes estaban sanos antes del estudio.* ★
  - b) no

### Comparability

- 1) Comparability of cohorts on the basis of the design or analysis
  - a) **study controls for \_\_\_\_\_ (select the most important factor)** ★
  - b) study controls for any additional factor ★ (This criteria could be modified to indicate specific control for a second important factor.) *Análisis univariable.*

### Outcome

- 1) Assessment of outcome
  - a) independent blind assessment ★
  - b) **record linkage** ★ *Detección de rinovirus en lavados nasales o incremento del título de anticuerpos*
  - c) self report
  - d) no description
- 2) Was follow-up long enough for outcomes to occur
  - a) **yes (select an adequate follow up period for outcome of interest)** ★ 5 días
  - b) No

3) Adequacy of follow up of cohorts

- a) **complete follow up - all subjects accounted for** ★ *Sin pérdidas de participantes*
- b) subjects lost to follow up unlikely to introduce bias - small number lost - > \_\_\_\_ % (select an adequate %) follow up, or description provided of those lost) ★
- c) follow up rate < \_\_\_\_% (select an adequate %) and no description of those lost
- d) no statement