



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química

**“Cuantificación de la microbiota bacteriana oronasofaríngea,  
*Streptococcaceae* y *Prevotellaceae*, asociada a pacientes positivos y  
negativos a SARS-CoV-2”**

Protocolo de tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro en  
Química Clínica Diagnóstica

Presenta:

Lic. en B.M. Jorge Antonio Galván González

Dirigido por:

M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez

Querétaro, Qro. 30 de Enero de 2026

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro  
Facultad de Química  
Maestría en Química Clínica Diagnóstica

**“Cuantificación de la microbiota bacteriana oronasofaríngea,  
*Streptococcaceae* y *Prevotellaceae* , asociada a pacientes positivos y  
negativos a SARS-CoV-2”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Maestro en  
Química Clínica Diagnóstica

Presenta:

Lic. en B.M. Jorge Antonio Galván González

Dirigido por:

M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez

Presidente: M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez.

Secretario: Dr. Gerardo Manuel Nava Morales.

Vocal: Dr. José Antonio Enciso Moreno.

Suplente: Dr. Marcos De Donato Capote.

Suplente: Dr. Cuauhtémoc Licona Cassani.

Centro Universitario, Querétaro, Qro.  
30 de Enero de 2026  
México

## AGRADECIMIENTOS

Un sincero agradecimiento a la institución SECIHTI por otorgarme la beca mensual que, me brindó la oportunidad de enfocarme en mi proyecto de investigación.

Asimismo, quiero dar un profundo agradecimiento a la Universidad Autónoma de Querétaro, especialmente a la Facultad de Química, por proporcionarme recursos durante este proceso.

Al M. I. M. David Gustavo García Gutiérrez, por brindarme su tiempo, confianza y la oportunidad de realizar este proyecto de investigación; muchas gracias por toda la paciencia y aventuras inolvidables que obtuvimos debido a este proyecto.

A la M.C.B. Brenda Ugalde Villanueva, por el prestarme su tiempo y sabiduría en las técnicas moleculares del laboratorio, este proyecto no hubiera culminado sin ella.

La Dra. Karla Isabel Lira De León, muchas gracias por no soltarme en esta aventura y guiarme para poder llegar al final.

Al Dr. Gerardo Manuel Nava Morales, por apoyarme con el uso de sus reactivos y laboratorio.

A mi madre y padre, Nadia y Jorge por apoyarme en todo el proceso que conllevo iniciar y finalizar la maestría.

A mi compa Jenny, por estar ahí en el laboratorio, en mis prácticas de presentación y por el a ver marchado por nuestros derechos.

A mi amiga Itza, por siempre estar con interés respecto a mi desarrollo en la maestría.

A Jean, por escuchar todos los inconvenientes que viví realizando esta investigación.

A Mar, por apoyarme en lo que podía.

A Edwin, por aligerar esos momentos de estrés.

A la maeta Amanda, por compartir su tiempo en el laboratorio y siempre el dejarme hacer las cosas yo solo para mejorar mis habilidades.

| ÍNDICE                                               | PÁGINAS |
|------------------------------------------------------|---------|
| ÍNDICE .....                                         | 1       |
| ÍNDICE DE TABLAS .....                               | 4       |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                              | 5       |
| ABREVIATURAS .....                                   | 6       |
| RESUMEN.....                                         | 8       |
| SUMMARY.....                                         | 9       |
| 1. INTRODUCCIÓN.....                                 | 10      |
| 2. ANTECEDENTES .....                                | 13      |
| 2.1 Microbiota.....                                  | 13      |
| 2.2 Microbiota como efecto barrera.....              | 13      |
| 2.3 Microbiota y su efecto metabólico .....          | 15      |
| 2.4 Microbiota y su efecto en el sistema inmune..... | 16      |
| 2.5 Microbiota oro-nasofaríngea.....                 | 17      |
| 2.6 <i>Streptococcaceae</i> .....                    | 18      |
| 2.6.1 Relevancia Clínica.....                        | 19      |
| 2.6.2 Mecanismos de patogenicidad .....              | 21      |
| 2.7 <i>Prevotellaceae</i> .....                      | 22      |
| 2.7.1 Relevancia clínica.....                        | 22      |

|           |                                                                               |           |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.7.2     | Mecanismos de patogenicidad .....                                             | 23        |
| 2.8       | Alteración de la microbiota por enfermedades o condiciones fisiológicas ..... | 24        |
| 2.9       | COVID-19 .....                                                                | 25        |
| 2.1       | Epidemiología de COVID-19 .....                                               | 27        |
| 2.2       | Patogénesis de la COVID-19 .....                                              | 28        |
| 2.3       | La microbiota y SARS-CoV-2.....                                               | 31        |
| 2.3.1     | Predominancia de bacterias orofaríngea en pacientes COVID-19 positivos.....   | 31        |
| 2.3.1     | Predominancia de bacterias nasofaríngea en pacientes COVID-19 positivos.....  | 32        |
| 2.3.2     | <i>Streptococcaceae</i> y la zona oronasofaríngea .....                       | 34        |
| 2.3.1     | <i>Prevotellaceae</i> y la zona oronasofaríngea .....                         | 35        |
| <b>3.</b> | <b>OBJETIVOS.....</b>                                                         | <b>37</b> |
| 3.1       | General: .....                                                                | 37        |
| 3.2       | Particulares: .....                                                           | 37        |
| 3.3       | Objetivos Profesionalizantes:.....                                            | 37        |
| <b>4.</b> | <b>METODOLOGÍA .....</b>                                                      | <b>38</b> |
| 4.1       | Diseño experimental.....                                                      | 38        |
| 4.1.1     | Procedimiento de recolección de muestras .....                                | 38        |
| 4.1.2     | Aspectos bioéticos.....                                                       | 39        |
| 4.1.3     | Manejo de los datos obtenidos del formulario epidemiológico .....             | 39        |
| 4.1.4     | Extracción de ARN: .....                                                      | 39        |
| 4.1.5     | Características para la selección de muestra.....                             | 40        |
| <b>5.</b> | <b>RESULTADOS .....</b>                                                       | <b>45</b> |

|           |                                                                                                                |           |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.1       | Características generales de la población de estudio .....                                                     | 45        |
| 5.2       | Abundancia Absoluta Bacteriana .....                                                                           | 47        |
| 5.3       | Abundancia Relativa Bacteriana .....                                                                           | 48        |
| 5.4       | Correlación de la abundancia relativa bacteriana (Log10) y carga viral (Ct) de SARS-Cov-2                      | 49        |
| 5.5       | Asociación de la presencia de las familias bacterianas de interés y el estado de infección por SARS-CoV-2..... | 50        |
| <b>6.</b> | <b>DISCUSIÓN .....</b>                                                                                         | <b>52</b> |
| <b>7.</b> | <b>CONCLUSIÓN .....</b>                                                                                        | <b>63</b> |
|           | <b>REFERENCIAS.....</b>                                                                                        | <b>64</b> |

| <b>ÍNDICE DE TABLAS</b>                                                     | <b>PÁGINAS</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------|
| Tabla 1. Clasificación clínica del género <i>Streptococcus</i> .....        | 19             |
| Tabla 2. Especies más abundantes del género <i>Streptococcus</i> .....      | 34             |
| Tabla 3. Valores de referencia para la pureza del ADN. ....                 | 43             |
| Tabla 4. Descripción general de las variables de interés. ....              | 46             |
| Tabla 5. Tabla de contingencia de la familia <i>Prevotellaceae</i> .....    | 50             |
| Tabla 6. Tabla de contingencia de la familia <i>Streptococcaceae</i> . .... | 51             |



| ÍNDICE DE FIGURAS                                                                                                                         | PÁGINAS |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Figura 1. Simbiosis y disbiosis.....                                                                                                      | 15      |
| Figura 2. Regiones de la faringe.....                                                                                                     | 17      |
| Figura 3. Filogenia de la familia <i>Streptococcaceae</i> , representación de algunos géneros de la familia <i>Streptococcaceae</i> ..... | 19      |
| Figura 4. Filogenia de la familia <i>Prevotellaceae</i> .....                                                                             | 22      |
| Figura 5. Clasificación de los coronavirus humanos .....                                                                                  | 26      |
| Figura 6. Casos acumulados desde el inicio de la pandemia a la actualidad .....                                                           | 27      |
| Figura 7. Perfil microbiológico por Abundancia Absoluta. ....                                                                             | 47      |
| Figura 8. Abundancia relativa de <i>Prevotellaceae</i> vs <i>Streptococcaceae</i> . ....                                                  | 48      |
| Figura 9. Correlación entre la abundancia bacteriana y concentración viral .....                                                          | 49      |

## ABREVIATURAS

|                                                         |               |
|---------------------------------------------------------|---------------|
| Síndrome Respiratorio Agudo Severo por Coronavirus      | SARS-CoV      |
| Síndrome Respiratorio Agudo Severo por Coronavirus 2    | SARS-CoV-2    |
| Organización Mundial de la Salud                        | OMS           |
| Coronavirus                                             | CoVs          |
| Nanómetros                                              | nm            |
| Kilobases                                               | kb            |
| Alfa coronavirus                                        | $\alpha$ -CoV |
| Beta coronavirus                                        | $\beta$ -CoV  |
| Gamma coronavirus                                       | $\gamma$ -CoV |
| Delta coronavirus                                       | $\delta$ -CoV |
| Pares de Bases                                          | pb            |
| Receptor de la Enzima Convertidora de la Angiotensina 2 | ECA2          |
| Proteínas No Estructurales                              | nsps          |
| Dominio de Unión al Receptor                            | RBD           |
| Kilo Dalton                                             | kDa           |
| Ácido Ribonucleico                                      | ARN           |
| Ácido Desoxirribonucleico                               | ADN           |
| Ácido Ribonucleico Mensajero                            | ARNm          |
| Aminoácidos                                             | aa            |
| ARN monocatenaria con carga positiva                    | +ssARN        |
| Serina Transmembrana 2                                  | TMPRSS2       |
| Complejo Replicasa Transcriptasa                        | RTC           |
| Retículo Endoplasmático                                 | RE            |
| ARN Polimerasa Dependiente de ARN                       | RdRp          |
| Proteína de Envoltura                                   | (E)           |
| Proteína de Membrana                                    | (M)           |
| Proteína de Nucleocápside                               | (N)           |
| Proteína <i>Spike</i>                                   | (S)           |

|                                                      |        |
|------------------------------------------------------|--------|
| ARN subgenómicos                                     | ARNsg  |
| Sistema Renina Angiotensina                          | SRA    |
| Reacción en Cadena de la Polimerasa                  | PCR    |
| Unidad de Servicios Clínicos y Diagnóstico Molecular | USC-DM |
| Varias Especies                                      | Spp    |

## RESUMEN

Durante la pandemia del 2020 ocasionada por el virus SARS-CoV-2, demostró una variabilidad clínica notoria, donde la microbiota oronasofaríngea pudo influir en la respuesta del huésped ante el virus. Entra las bacterias más relevantes se encuentran la familia *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae*, teniendo una asociación a un estado inflamatorio vinculado con mayor gravedad en COVID-19. Sin embargo, aún no está claro si su abundancia difiere entre pacientes positivos y negativos al virus. Este estudio tuvo como objetivo comparar la abundancia de las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* en muestras oronasofaríngeas de 62 individuos (27 negativos y 35 positivos para SARS-CoV-2), mediante qPCR del gen 16S y posteriormente se cuantificaron ambas familias bacterianas con la misma técnica molecular. Tras confirmar la no normalidad de los datos, se aplicaron pruebas no paramétricas para comparar la abundancia absoluta, relativa y transformada logarítmicamente entre los grupos. Los resultados obtenidos fueron que el sexo mostró una diferencia estadísticamente significativa con el estado de infección ( $p = 0.0013$ ). El IMC presentó una diferencia altamente significativa entre los dos grupo ( $p < 0.001$ ), asimismo la cantidad de comorbilidades ( $p = 0.0057$ ), siendo la DMT2 ( $p = 0.003$ ) y obesidad ( $p = 0.0159$ ), las enfermedades más destables e incluso la ausencia de comorbilidades fue estadísticamente significativa siendo más frecuente en el gpo negativo ( $p = 0.0089$ ). La vacunación contra la influenza mostró una asociación significativa ( $p = 0.0038$ ). La abundancia relativa de estas familias presentó diferencias altamente significativas entre los gpos ( $p < 0.0001$ ). El análisis de asociación evidenció una relación significativa de la presencia de la familia *Prevotellaceae* ( $\chi^2 = 38.77$ ;  $gl = 1$ ;  $p < 0.0001$ ) y *Streptococcaceae* ( $\chi^2$  con corrección de Yates = 41.47;  $gl = 1$ ;  $p < 0.0001$ ) con el estado positivo a SARS-CoV-2. Este conjunto de resultados respalda que la interacción de las familias bacterianas de *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae* forman parte de un sistema complejo con la infección por SARS-CoV-2.

**Palabras clave:** Microbiota, SARS-CoV-2, *Prevotellaceae*, *Streptococcaceae*, Oro y Nasofaríngeo, qPCR.

## SUMMARY

During the 2020 SARS-CoV-2 pandemic, a marked clinical variability was observed, where the oropharyngeal microbiota may have influenced the host's response to the virus. Among the most relevant bacteria are the Prevotellaceae and Streptococcaceae families, which have been associated with an inflammatory state linked to greater severity in COVID-19. However, it is still unclear whether their abundance differs between patients who are positive and negative for the virus. This study aimed to compare the abundance of the Prevotellaceae and Streptococcaceae families in oropharyngeal samples from 62 individuals (27 negative and 35 positive for SARS-CoV-2) using qPCR of the 16S gene. Subsequently, both bacterial families were quantified using the same molecular technique. After confirming the non-normality of the data, non-parametric tests were applied to compare the absolute, relative, and logarithmically transformed abundance between the groups. The results showed that sex was statistically significantly different from infection status ( $p = 0.0013$ ). BMI showed a highly significant difference between the two groups ( $p < 0.001$ ), as did the number of comorbidities ( $p = 0.0057$ ), with type 2 diabetes ( $p = 0.003$ ) and obesity ( $p = 0.0159$ ) being the most prominent conditions. The absence of comorbidities was also statistically significant and more frequent in the negative group ( $p = 0.0089$ ). Influenza vaccination showed a significant association ( $p = 0.0038$ ). The relative abundance of these families showed highly significant differences between the groups ( $p < 0.0001$ ). The association analysis revealed a significant relationship between the presence of the Prevotellaceae ( $\chi^2 = 38.77$ ;  $df = 1$ ;  $p < 0.0001$ ) and Streptococcaceae ( $\chi^2$  with Yates correction = 41.47;  $df = 1$ ;  $p < 0.0001$ ) families and a positive SARS-CoV-2 status. This set of results supports the idea that the interaction of the Streptococcaceae and Prevotellaceae bacterial families is part of a complex system with SARS-CoV-2 infection.

**Keywords:** Microbiota, SARS-CoV-2, *Prevotellaceae* , *Streptococcaceae*, Oro and Nasopharyngeal, qPCR.

## 1. INTRODUCCIÓN

La microbiota humana juega un papel esencial para una homeostasis en nuestro cuerpo, ya que esta ayuda a mantener un funcionamiento eficiente de nuestro sistema inmunológico y metabólico. Por ejemplo, en las vías respiratorias superiores, principalmente la zona oronasofaríngea, esta comunidad de organismos actúan como una barrera contra agentes externos, ayudando a la respuesta inmune, compitiendo por nutrientes y participando en procesos inflamatorios (Braun et al., 2021; De Maio et al., 2020; Hernández-Ruiz et al., 2022). Cuando todo este conjunto de microorganismos se encuentran en equilibrio, se le denomina como eubiosis, siendo de vital importancia para la salud, mientras que haya una ruptura de este equilibrio se le denomina como disbiosis y puede favorecer a la susceptibilidad a colonización de organismos de importancia clínica y ocasionar en este caso infecciones respiratorias (Hernández-Ruiz et al., 2022).

Diversos estudios sobre la microbiota respiratoria han descrito que puede influir en la colonización y replicación de virus respiratorios como el SARS-CoV-2, tan como la activación de mecanismos inmunológicos innatos y adaptativos (Ren et al., 2021). También contribuyen a la regulación de citocinas, quimiocinas y otras moléculas (Haran et al., 2021; Ren et al., 2021).

En la región oronasofaríngea hay una gran diversidad bacteriana, sin embargo, entre las familias bacterianas más relevantes son *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae* (Giugliano et al., 2022; Retchless et al., 2020; Tranberg et al., 2021). La primera familia se caracteriza por colonizar las vías respiratorias superiores y destaca por ser parte de estados de equilibrio microbiano como en procesos patológicos (Anton-Vazquez y Clivillé, 2021; Rocha et al., 2017). Por otra parte, la familia *Prevotellaceae* se ha asociado con procesos inflamatorios y con alteraciones en la composición de la microbiota, sugiriendo una posible relación en la modulación del sistema inmune (Lloréns-Rico et al., 2021; Rattanaburi et al., 2022).

La forma de respuesta del organismo ante infecciones virales respiratorias puede estar asociado a la presencia y abundancia de las familias *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae*, siendo esta información relevante en el contexto de la COVID-19, donde la respuesta del organismo frente al SARS-CoV-2 presenta una variabilidad de síntomas entre los individuos (Zhou et al., 2023).

Además de que el virus ocasiono un gran impacto global, la variación de los síntomas se debe a varios factores, como la genética, comorbilidades y tratamientos médicos, influyendo en la severidad de la infección, tomando una alta relevancia la microbiota oronasofaríngea contra la respuesta de este virus (Aljabr et al., 2024). Sin embargo, a pesar de la creciente evidencia de la relación entre la microbiota y la susceptibilidad de la enfermedad de la COVID-19, las investigaciones sobre estas familias específicas son limitadas y se desconoce como las variaciones en su abundancia podrían repercutir en la respuesta inmunológica frente al virus (Aljabr et al., 2024; Anton-Vazquez y Clivillé, 2021; Avire et al., 2021; Callahan et al., 2022; Cui et al., 2024; Larsen, 2017; Webb et al., 2022).

Los estudios previos sobre la relación entre la microbiota y la COVID-19 proceden principalmente de las regiones asiáticas, europeas y estados unidos, lo que sugiere que las características de la microbiota pueden variar según sus factores geográficos y poblacionales, adicionalmente, los factores de confusión como la obesidad, factores metabólicos, el uso de antibióticos, tabaquismo y comorbilidades, podrían ocasionar una disbiosis y, por consiguiente, la respuesta inmunológica del huésped hacia el virus (Aljabr et al., 2024).

Por esa razón, a pesar de las investigaciones, persiste la falta de datos específicos de estas familias que analicen sin factores de ruido, lo que resalta la necesidad de realizar investigaciones más controladas para esclarecer la relevancia de la microbiota contra la COVID-19.

Por este motivo, el presente estudio propone comparar las familias bacterianas *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae* de muestras de oronasofaríngeas de pacientes positivos y negativos a SARS-CoV-2 de la primera ola de la pandemia, etapa en la cual la vacuna contra el virus no existía, a su vez son muestras que provienen de Santiago de Querétaro, Querétaro,

México, aportando una dimensión geográfica única al estudio y a. Asimismo, se trató de controlar los factores de ruido lo más posible con, adultos jóvenes (19-40 años), sin administración de antibióticos, no embarazadas y sin condiciones que alteran directamente la microbiota oronasofaríngea (enfermedades orales) y así podríamos apreciar alteraciones de las familias bacterias en relación con el virus y no por variables externas. Este estudio contribuye a llenar un vacío de conocimiento sobre la influencia de estas familias con la enfermedad en México.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Microbiota

La microbiota es el conjunto de microorganismos vivos (bacterias, archaea, protistas y hongos) que residen en entornos específicos como la piel. Boca, nariz, pulmones, tracto vaginal, intestino, etc. en nuestro cuerpo (Dominguez-Bello et al., 2019). La importancia del equilibrio de estas bacterias o mejor conocido como eubiosis, es de vital importancia para llevar a cabo su papel en la salud humana, y estas son (Álvarez-Calatayud et al., 2018; Kundra et al., 2022):

- Efecto barrera.
- Efectos metabólicos.
- Efecto en el sistema inmunológico.

### 2.2 Microbiota como efecto barrera

Las bacterias que se alojan en nuestro cuerpo, principalmente en el intestino, piel y tracto respiratorio, etc. Realizan una función protectora frente a microorganismos patógenos, siendo este un mecanismo de defensa no inmunológico, sin embargo, sí interactúa con el sistema inmunológico (Álvarez-Calatayud et al., 2018; Kundra et al., 2022)..

De hecho la microbiota bacteriana tiene una capacidad para impedir que patógenos colonicen su entorno, a esto se le conoce como resistencia a la colonización, esta resistencia se puede llevar a cabo por dos mecanismos, directo (competencias por nutrientes, metabolitos inhibidores o bacteriocinas) e indirectos (interacción con el sistema inmune o modificación del pH) (Caballero-Flores et al., 2023). Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) son un gran ejemplo de metabolitos producidos a partir de la degradación de las fibras, fortalecen la barrera intestinal, por ejemplo la especie bacteriana *Bifidobacterium longum* siendo una bacteria comensal común, impide o desplaza a bacterias patógenas como *Clostridium difficile* puede causar diarrea y afecciones más serias como la colitis (Horrocks et al., 2023). Por otro lado, tenemos los metabolitos derivado de bacterias ácido lácticas, como el ácido láctico, acético, estos metabolitos pueden acidificar el pH, el metabolito más destaque es la bacteriocinas, provoca la formación de poros en la membrana celular de las bacterias,

provocando su lisis, la especie *Lactobacillus plantarum* y *L. lactis* son de las más famosas (Dogan et al., 2023).

La mucosa y la microbiota de nuestro cuerpo están en constante interacción en la salud y la enfermedad, la mucosa está compuesta por moco y el epitelio subyacente, forma una barrera protectora que separa al huésped de la microbiota (König et al., 2016). En individuos sanos, con una dieta variable y nutritiva, una microbiota diversa y otros factores modificables y no modificables que conducen a respuestas tolerogénicas de células dendríticas y células T reguladoras, suprimen las respuestas Th17 (linfocitos) y reducen la permeabilidad intestinal, manteniendo así la función de barrera, la renovación del moco, el crecimiento de patógenos y la tolerancia inmunológica, este tipo de interacciones se le conoce como, simbiosis, que es la agrupación íntima de organismos de especies diferentes para beneficiarse mutuamente (Chairatana y Nolan, 2017). Sin embargo, cuando existen factores como, enfermedades crónicas, la vejez, una mala dieta, y exposiciones exógenas resultan en una mala función de barrera y renovación del moco, esto puede ocasionar una disbiosis en la microbiota, ocasionando que haya una predominancia de patógenos mal adaptados que reducen la diversidad en la microbiota, aumentando la producción de linfocitos tipo Th2, Th17 y citocinas proinflamatorias, estos cambios contribuyen a la inflamación crónica y al desarrollo y progresión de la enfermedad, por ejemplo, Interleucina-1 (IL-1), aumenta la actividad inflamatoria y la respuesta inmune, y está involucrada en la fiebre, Interleucina-8 (IL-8), actúa como quimiocina, atrayendo neutrófilos al sitio de inflamación, Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), induce la inflamación y juega un papel crucial en la respuesta inmune a infecciones (Figura 5) (Alemao et al., 2021; Josenhans et al., 2020).

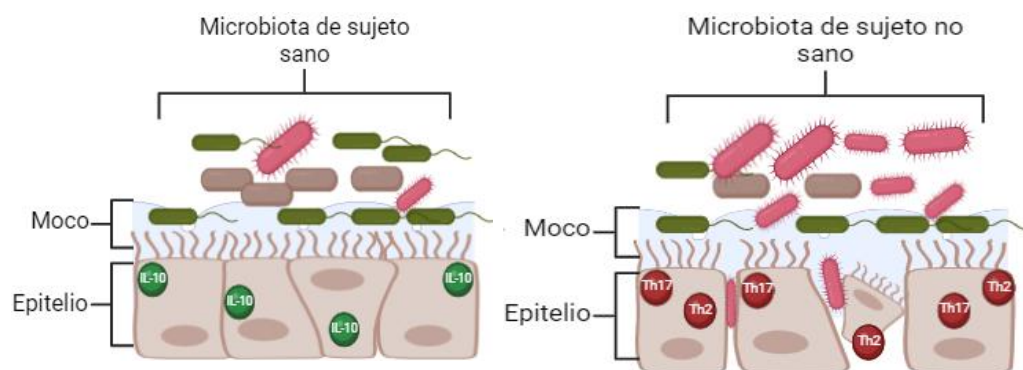


Figura 1. Simbiosis y disbiosis: La IL-10 es una citocina inmunomoduladora su principal función es limitar y regular la respuesta inflamatoria, por otro lado, los linfocitos Th2 (secretan citocinas como IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) y Th17 (producen citocinas proinflamatorias como IL-17A, IL-17F, IL-21, e IL-22), están asociados a las respuestas desreguladas a inflamación que pueden causar daño tisular persistente. (creación propia: Galván-González, 2024).

### 2.3 Microbiota y su efecto metabólico

Una de las actividades más importantes de la microbiota intestinal es su habilidad para degradar sustratos dietéticos que el ser humano no puede procesar por sí solo, como fibras resistentes, almidón, inulina y pectina. Hay unas enzimas especializadas que pueden descomponer estos compuestos en azúcares simples, promoviendo la generación de metabolitos esenciales llamados AGCC estos son ácidos orgánicos de seis carbonos y los más abundantes son el acetato, propionato y butirato, estos interactúan con los receptores FFAR2 y FFAR3, activando células como colonocitos y células del sistema inmune, modulando de esta manera la inflamación (reduciendo ROS y aumento IL-10), mejora la integridad intestinal, regulan el apetito, glucosa y reducen la esteatosis hepática, modulan la neuroinflamación, la serotonina y hay una reducción de Inhibidor del Activador del Plasminógeno tipo 1 (PAI-1), es una proteína que juega un papel fundamental en la regulación de la fibrinólisis, el proceso que descompone los coágulos sanguíneos (Fusco et al., 2023).

Se ha demostrado que la microbiota ayuda en los procesos metabólicos como; control de la glucosa, metabolismo de lípidos, síntesis de vitaminas (K y B12), etc (Álvarez-Calatayud et al., 2018; Kundra et al., 2022).

## 2.4 Microbiota y su efecto en el sistema inmune

La microbiota es esencial para la maduración y regulación del sistema inmunológico, la cual es una cooperadora clave para mantener el equilibrio inmunológico y metabólico del organismo (Álvarez-Calatayud et al., 2018; Kundra et al., 2022). Esta interacción equilibrada promueve un estado de salud adecuado, sin embargo, en condiciones de disbiosis, puede contribuir a una respuesta inflamatoria más agresiva.

En este sentido, se ha podido observar que ciertas bacterias cuentan con un impacto directo sobre la modulación de citocinas inflamatorias. Por ejemplo, Lee y compañía (2022) reportaron que a mayor abundancia de la familia *Porphyromonadaceae* en el colon se asocia con la sobreexpresión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y de la interleucina-6 (IL-6), lo que provoca un estado inflamatorio crónico que afecta negativamente el sistema inmunológico del paciente. Este resultado corresponde con la secreción de lipopolisacáridos (LPS), moléculas que constituyen el principal componente de la membrana externa de bacterias Gram negativas, cuyos niveles elevados inducen a una respuesta inflamatoria excesiva. En concordancia Li y compañía (2021), demostraron que los LPS procedentes de *Porphyromonadaceae* inducen piroptosis (un tipo inflamatorio de muerte celular) en fibroblastos gingivales, acompañada por el incremento de la expresión del receptor NLRP3, así como de caspasas-5, IL-1 $\beta$  e IL-18, reforzando su papel en la inflamación aguda.

Por otro lado, Buttenschön y compañía (2022), descubrieron que *Corynebacterium* se correlacionó con la disminución de las citocinas IL-33, IFN- $\lambda$ 3, IFN- $\gamma$ , y EGF, lo que sugiere que cuenta con un papel inmunomodulador. Además, este género mostró una correlación negativa con la quimiocina CCL2, una quimiocina clave para el reclutamiento de los monocitos, implicando una menor activación de células inmunes específicas. En contraste, la mayor abundancia de *Staphylococcus* se asoció con una mayor carga viral nasofaríngea, mientras que los géneros *Prevotella*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus* y *Clostridia* se correlacionó con citocinas vinculadas a COVID-19 grave, evidenciando que ciertos taxones pueden contribuir a una respuesta inflamatoria más intensa.

Un análisis de 78 muestras orales descubrieron que los pacientes positivos a SARS-CoV-2 eran de mayor edad y presentaban más comorbilidades y una mayor hospitalización. En

ambos grupos, los filos predominantes fueron *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Fusobacteria*, aunque en los positivos se observó una reducción significativa de *Proteobacteria* y *Fusobacteria*. Asimismo, la mayor abundancia de *Bifidobacterium* en pacientes positivos se asoció con niveles bajos de IL-17F y de MCP-1, sugiriendo una posible asociación a la modulación de las respuestas inflamatorias asociadas a la infección viral (Kim et al., 2023).

## 2.5 Microbiota oro-nasofaríngea

La colonización del cuerpo por bacterias empieza desde el nacimiento, además estamos expuestos a una diversa variedad de microorganismos del entorno y de otras personas, por lo que no todos los microorganismos pueden colonizar todas las zonas de nuestro cuerpo (piel, intestinos, boca, tracto urogenital, nasofaríngea, etc) por lo que solo los organismos aptos, pueden proliferar en zonas específicas (Coelho et al., 2021; Di Simone et al., 2020). En el caso de la faringe, siendo esta una estructura con forma de tubo que se ubica en el cuello teniendo la función como vía para el pasaje del aire y los alimentos, y se divide en tres regiones anatómicas: la nasofaríngea, la orofaríngea y laringofaríngea (Tortora y Derrickson, 2013b).

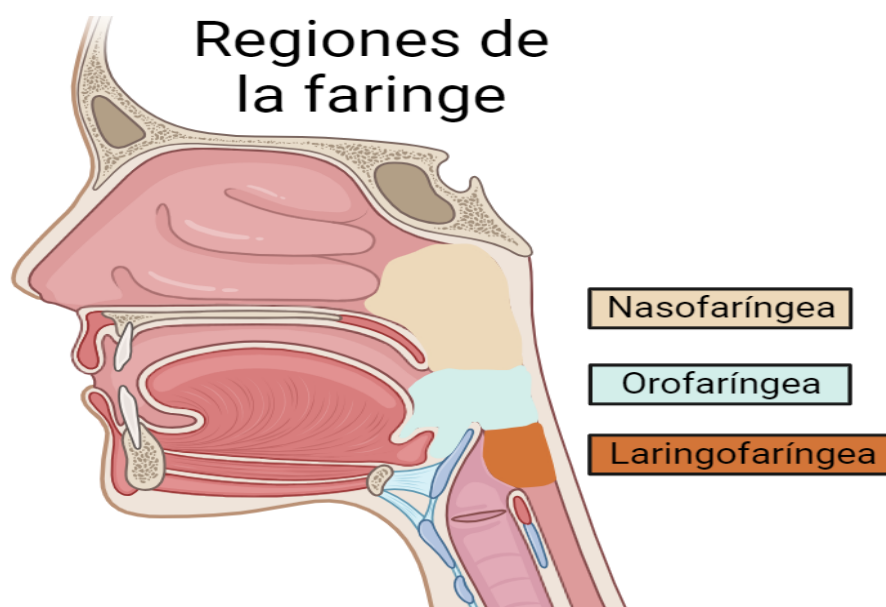


Figura 2. Regiones de la faringe (creación propia: Galván-González, 2023).

La composición de la microbiota bacteriana oro y nasofaríngea puede variar, pero los géneros más comunes en la zona nasofaríngea son: *Streptococcus*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Haemophilus* (Dubourg et al., 2019; Gao et al., 2014; Giugliano et al., 2022; L. Li et al., 2021; «Marsh and Martin's Oral Microbiology», 2016). Por el otro lado, los géneros más comunes en la zona orofaríngea se encuentran las bacterias: *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Prevotella*, *Fusobacterium* y *Porphyromonas* (Dubourg et al., 2019; Gao et al., 2014; «Marsh and Martin's Oral Microbiology», 2016; Retchless et al., 2020; Tranberg et al., 2021)

## 2.6 Streptococcaceae

Es una familia de bacterias que se caracteriza por tener forma de una cadena de “esferas dobladas”, de ahí proviene su nombre del griego “streptos” (torcido/flexible) y “kokkos” (esfera/grano). Las cuales se comprende por grupos de géneros bastante amplios, siendo *Streptococcus* el más famoso (Figura 12) («Marsh and Martin's Oral Microbiology», 2016; Patterson, 1996; Toit et al., 2014).

Los *Streptococcus* son bacterias Gram-Positivas y anaerobias facultativas, que cuentan con una morfología esférica o cocos, usualmente está en pares o cadenas, con un diámetro menor a 2  $\mu\text{m}$ , su temperatura óptima de crecimiento es aproximadamente 37°C. Son no móviles ni esporuladas, cuentan con un metabolismo de fermentación de glucosa obteniendo como principal producto final el ácido láctico y no produce CO<sub>2</sub> durante dicha fermentación, son anaerobios facultativos y se encuentran comúnmente en mucosa humana. Su diferenciación con otros géneros como *Enterococcus* o *Lactococcus* es complicada por lo que se recomiendan técnicas moleculares para su identificación precisa («Marsh and Martin's Oral Microbiology», 2016; Patterson, 1996; Toit et al., 2014).

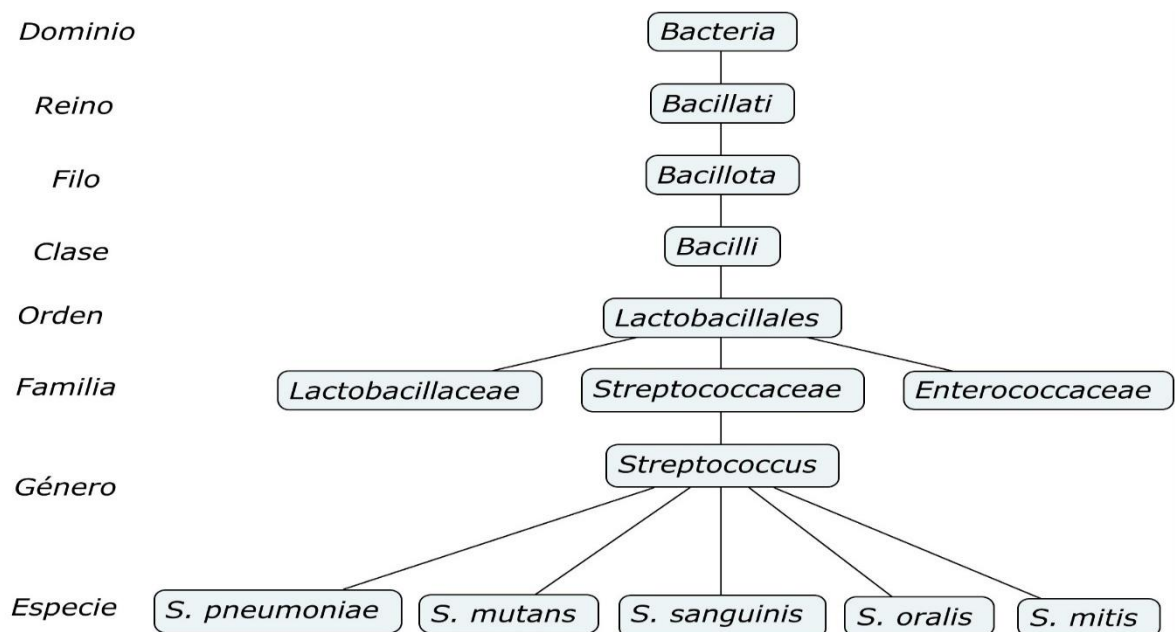


Figura 3. Filogenia de la familia *Streptococcaceae*, representación de algunos géneros de la familia *Streptococcaceae* (Sneath et al., 1980)

### 2.6.1 Relevancia Clínica

Hay diversas formas de diferenciar las especies que componen el género *Streptococcus*, sin embargo, los tres sistemas más utilizados son: Grupo de Lancefield, Patrones hemolíticos y Propiedades bioquímicas (Toit et al., 2014). La primera clasificación se basa en la identificación de antígenos específicos, siendo los carbohidratos de la pared celular el que mayormente se identifica, el segundo estudia el efecto que tiene la bacteria sobre los glóbulos rojos, específicamente en agar sangre y el tercero se refiere a las características metabólicas y enzimáticas (Patterson, 1996). Estos tipos de clasificaciones ayudan a los laboratorios a identificar de manera rápida y barata especies de este género y decidir que tratamiento aplicar, sin embargo, cada vez se están utilizando menos por metodologías más precisas y detalladas, como la secuenciación y la PCR (Tabla 3).

Tabla 1. Clasificación clínica del género *Streptococcus*. Esta Tabla proyecta algunas de las especies más relevantes, GABHS=*Streptococcus*  $\beta$ -hemolíticos del grupo A (modificado de: MSD Manual Professional Edition, 2025).

| Grupo Lancefield | Especies                                                                                               | Hemolisis    | Enfermedad                                                                                                                         | Tratamiento                                                                                                                |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A                | <i>Streptococcus pyogenes</i>                                                                          | Beta         | Faringitis, amigdalitis, infecciones de heridas y la piel, septicemia, escarlatina, neumonía, fiebre reumática, glomerulonefritis. | Penicilina, eritromicina, clindamicina.                                                                                    |
|                  |                                                                                                        |              | Fascitis necrotizante                                                                                                              | Manejo quirúrgico inmediato; betalactámicos; si se confirma GABHS, penicilina o cefazolina pueden usarse, más clindamicina |
| B                | <i>Streptococcus agalactiae</i>                                                                        | Beta         | Endocarditis, sepsis, infección urinaria, meningitis.                                                                              | Penicilina o ampicilina, cefalosporinas, vancomicina.                                                                      |
| C & G            | <i>S. equi</i> ,<br><i>S. equisimilis</i> ,<br><i>Streptococcus zooepidemicus</i> ,<br><i>S. canis</i> | Beta         | Neumonía, erisipela, sepsis, infecciones de herida, faringitis y artritis séptica.                                                 | Penicilina, vancomicina, cefalosporinas, macrólidos.                                                                       |
| D                | <i>S. gallolyticus</i> ,<br><i>S. equinus</i>                                                          | Alfa o Gamma | Endocarditis, infecciones urinarias, celulitis, infección de heridas.                                                              | Penicilina, ampicilina, vancomicina.                                                                                       |

Por ejemplo *S. pyogenes* es un patógeno que cuenta con un gran impacto en la salud pública de manera negativa, infecta a nivel mundial cerca de 18.1 millones de personas y causa aproximadamente 500,000 muertes al año, su prevalencia es mayor en países en vías de desarrollo, se transmite principalmente por gotas respiratorias o por tener contacto con lesiones cutáneas, puede generar diversas patologías enlistadas en la Tabla 3, las que pueden ocasionar daño cardíaco, renal y sistémico, la población de riesgo son niños menores a los 15 años (más propensos a faringitis), adultos mayores (mayor riesgo de infecciones invasivas) y pacientes inmunocomprometidos, una infección no tratada por este organismo puede ocasionar complicaciones severas o la muerte (Avire et al., 2021).

Por otro lado, *S. mutans* es un género reconocido por ser el principal agente que origina la caries dental, esto es debido a su capacidad de producir ácido, tolera ambientes acidificados y forma biopelículas. La proteína Cnm, presente en algunas cepas, les ayuda a adherirse al colágeno vascular y endotelial, de esta manera entra al torrente sanguíneo, originando enfermedades como endocarditis infecciosa, hemorragia cerebral, produce una respuesta proinflamatoria, esto ocasiona que las citocinas se eleven, contribuyendo a un daño vascular,



provocando inflamación intestinal, siendo así un agente con impacto multisistémico (Fang et al., 2024).

### 2.6.2 Mecanismos de patogenicidad

Uno de los mecanismos que resaltan en esta familia bacteriana son las biopelículas, que se activan por factores como el cambio del pH, estrés oxidativo, la disponibilidad de nutrientes, entre otros. Estos estímulos liberan señales que activan sistemas como el VicRK, el cual ordena a la bacteria a sintetizar glucanos adhesivos, estos protegen a la bacteria fijándola en las superficies dentales o mucosas e incluso les otorgan una resistencia a antibióticos y a la respuesta inmune del huésped, lo que favorece a una infección y sirve como un depósito para la diseminación de esta familia (Bowen y Koo, 2011; Domenech et al., 2012; Zhang et al., 2021). Por otro lado, la transferencia horizontal de genes en la familia *Streptococcaceae* ocurre principalmente cuando entran en un estado de competencia, este mecanismo promueve que la bacteria capte ADN libre en su entorno, para que lo integre en su propio genoma, este proceso se activa cuando la densidad bacteriana alcanza un nivel alto, indicando que estas condiciones son aptas para el intercambio genético (Mårli et al., 2024). La funcionalidad de esta función es crear una diversidad genética de forma más acelerada, otorgando ventajas adaptativas a estas bacterias frente a cambios ambientales, sistema inmune o antibióticos (Kwun et al., 2022). Para el humano, este mecanismo es muy peligroso ya que la adquisición de genes de resistencia a antibióticos podrían determinar la virulencia de las especies ya sea comensales o patógenas, ocasionando que cepas poco agresivas puedan transformarse en variantes multirresistentes, creando un impacto clínico y epidemiológico (Egea et al., 2025; Khan et al., 2024; Razeghi et al., 2023). Así mismo, se ha podido identificar que ciertas especies cuentan con cápsulas polisacáridas que impiden la eliminación bacteriana por el sistema inmune (Ganaie et al., 2025).

## 2.7 Prevotellaceae

La familia *Prevotellaceae* proveniente del orden *Bacteroidales* se encuentra comúnmente en la microbiota oro-nasofaríngea humanos, junto con otras especies participa en el metabolismo de carbohidratos y la inmunidad de las mucosas (Tett et al., 2021). En adultos sanos la familia *Prevotellaceae* suele ser dominante o co-dominante en la saliva y dorso de la lengua, su abundancia varía con la edad, dieta y salud periodontal (Könönen y Gursoy, 2022) (Figura 12).

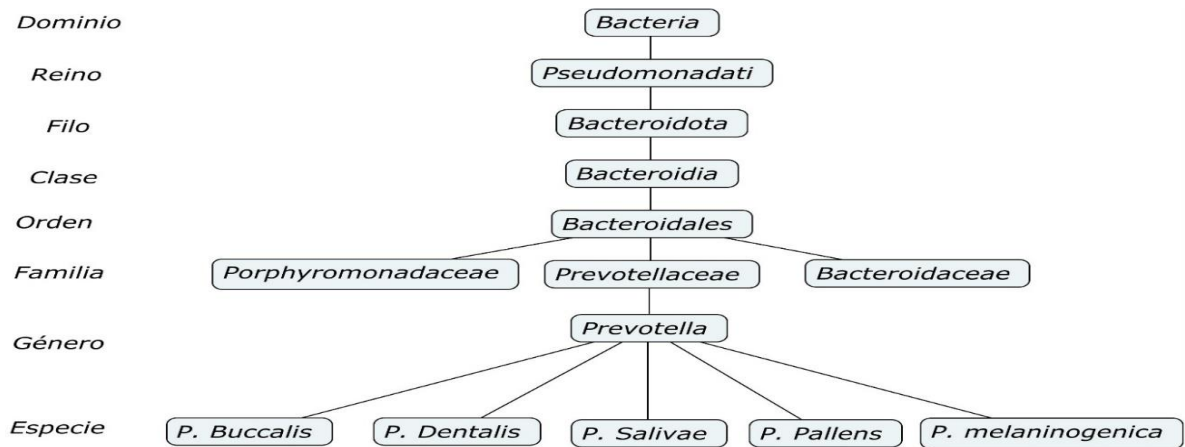


Figura 4. Filogenia de la familia *Prevotellaceae* (Sneath et al., 1980)

### 2.7.1 Relevancia clínica

La familia *Prevotellaceae* comúnmente encontrados en las mucosas humanas, oral, intestinal, genital y respiratoria actuando como comensales dominantes, aunque también se reconocen su rol de patobionte (microorganismos que bajo ciertas condiciones pueden contribuir a procesos patológicos) participando en biofilms periodontales, gingivitis, periodontitis y otras infecciones anaeróbicas de la cavidad bucal (König et al., 2016; Könönen et al., 2022; Larsen, 2017).

En el tracto genital femenino *P. bivia* y *P. timonensis* están ligadas a vaginosis bacteriana y a procesos inflamatorios pélvicos, donde modulan la respuesta inmune a través de lipopolisacáridos y enzimas proteolíticas (George et al., 2024; Segui-Perez et al., 2025).

En el intestino otras especies de la *Prevotella* participan en la fermentación de polisacáridos y en la producción de ácidos grasos de cadena corta, aunque su sobreabundancia se ha

asociado a la inflamación intestinal, artritis reumatoide y resistencia a la insulina por lo que se propone una relación entre *Prevotella* y trastornos metabólicos o autoinmunes (Scher et al., 2013; Trautmann et al., 2020).

#### 2.7.2 Mecanismos de patogenicidad

La familia *Prevotellaceae* han pertenecido a la microbiota humana desde inicios de la humanidad, ciertas especies como *P. Copri*, han co-evolucionado con el ser humano, ya que estas cepas se transmiten de manera vertical de madre a hijo y horizontalmente entre sujetos que comparten su hábitat y dieta (Li et al., 2022). Gracias a esta co-adaptación se formó una optimización para la degradación de fibra vegetal compleja, siendo este un impacto metabólicamente positivo en los humanos, no obstante, si ocurre una alteración en la composición bacteriana puede alterar los beneficios obtenidos (Larzul et al., 2024). Por otra parte, esta cepa produce succinato, siendo este un metabolito que cruza la placenta y ayuda a programar la generación de precursores de células dendríticas, lo que ayuda de manera prenatal la maduración inmunológica y favoreciendo la reducción de alergias y asma (Gao et al., 2021). En contraste, otras cepas de *Prevotella Copri* se encuentran dispersas en pacientes con artritis reumatoide, estas pueden ocasionar una respuesta proinflamatoria que se puede extender a la membrana sinovial, ya que potencian la diferenciación de los linfocitos T colaboradores Th17 en el intestino (Liang et al., 2026). Este comportamiento bacteriano contribuye a la inflamación articular y erosión ósea, lo que conlleva a complicaciones en el estilo de vida del paciente (Maeda et al., 2026). Esta dualidad tanto de modulación como proinflamación, se puede explicar por la diversidad genómica entre especies, que determinan la producción de metabolitos inmunomoduladores o activación de moléculas proinflamatorias, esta dualidad permite el tener una adaptación en el ambiente en el cual se encuentra la especie y de esta manera puede beneficiar o perjudicar al hospedero (Şahin y Salbaş, 2025; Xiao et al., 2024).

## 2.8 Alteración de la microbiota por enfermedades o condiciones fisiológicas

La predominancia de ciertos patógenos genera una endotoxemia leve (afección caracterizada por la presencia de endotoxinas en la sangre) y persistente, estas moléculas cuentan con la capacidad de entrar al torrente sanguíneo y generar una respuesta inflamatoria sistemática, que promueve una disbiosis (Hernández-Ruiz et al., 2022). Existen múltiples factores que pueden ocasionar una disbiosis en el huésped. Entre los factores fisiológicos la edad es un factor determinante (Badal et al., 2020). Tanto el envejecimiento y los primeros años de vida se asocia con una composición bacteriana poco diversa, lo que puede tener implicaciones importantes para la salud del individuo (Coelho et al., 2021; Hägg et al., 2020). Asimismo, en el embarazo existen cambios metabólicos característicos que son similares a los del síndrome metabólico, presentando aumento de peso, niveles elevados de azúcar en sangre en ayunas, insulina resistente, intolerancia a la glucosa, inflamación crónica de bajo grado y cambios en los niveles de hormonas relacionadas al metabolismo, de esta manera ocurre una disbiosis en la microbiota de las mujeres embarazadas (Girardelli et al., 2021). En relación a enfermedades crónicas, la diabetes, la hipertensión, enfermedades orales y el tabaquismo, pueden alterar el ecosistema de la microbiota, caracterizada por una disminución de la diversidad microbiana y cambios en la abundancia relativa de ciertas bacterias, pudiendo desencadenar respuestas inflamatorias (Cook y Chappell, 2021; Sharma y Tripathi, 2019). A su vez, las enfermedades respiratorias como la COVID19 pueden provocar una disbiosis en la microbiota de la faringe siendo de las primeras barreras contra patógenos (Aparicio de Santos, 2024).

## 2.9 COVID-19

A finales de 2019 una misteriosa neumonía con una etiología desconocida empezaba a esparcirse, siendo Wuhan, China la primera ciudad que registro dicho agente anónimo, el científico Chen y compañía (2020) obtuvieron el código genético de este microorganismo desconocido causante de la enfermedad misteriosa, identificando a un nuevo integrante de la familia coronavirus. Subsiguientemente, el 11 de febrero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) denominó a esta nueva enfermedad como COVID-19 (Organización Mundial de la Salud, 2023).

Por otra parte, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, realizó análisis filogenéticos y taxonómicos, reconociendo que el virus está asociado al Síndrome Respiratorio Agudo Severo por Coronavirus (SARS-CoV) humano y de murciélago, proponiendo el nombre del nuevo coronavirus como “Síndrome Respiratorio Agudo Severo por Coronavirus 2” (SARS-CoV-2) (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses et al., 2020).

El 11 de marzo de 2020, COVID-19 fue declarada pandemia por la OMS (Organización Mundial de la Salud, 2023). La COVID-19 es una enfermedad infecciosa causada por el virus SARS-CoV-2, actualmente, existen cuatro géneros reconocidos mediante su genética, alfa coronavirus ( $\alpha$ -CoV), delta coronavirus ( $\delta$ -CoV), gamma coronavirus ( $\gamma$ -CoV) y beta coronavirus ( $\beta$ -CoV), estos últimos infectan principalmente al sistema nervioso central, respiratorio y gastrointestinal de humanos y mamíferos (Figura 1) (Malik, 2020).

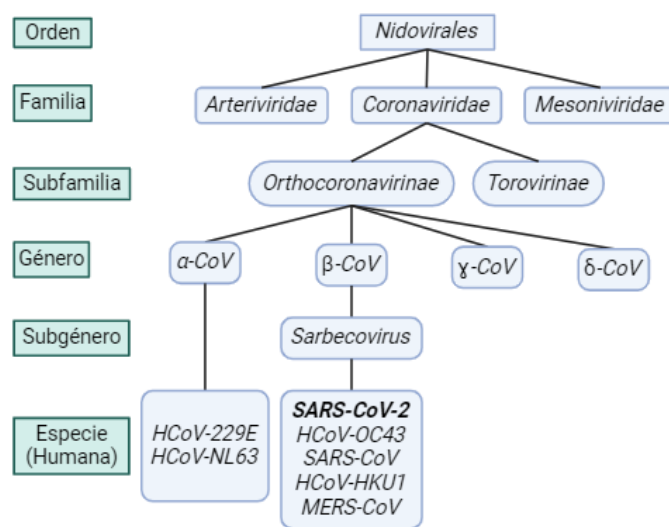


Figura 5. Clasificación de los coronavirus humanos (modificado de: Malik, 2020).

Cualquier persona, de cualquier edad, puede contraer la COVID-19 y enfermar gravemente o morir, las patologías más comunes son las siguientes: Fiebre, tos, cansancio, pérdida del gusto o el olfato. Los síntomas menos frecuentes incluyen: Dolor de garganta, cabeza, diarrea, erupción en la piel. Los síntomas graves pueden ser; dificultad para respirar o falta de aire, pérdida del habla o la movilidad, dolor en el pecho, y tardan aproximadamente entre 5 o 6 días en remitir desde que una persona se infecta con el virus, pero pueden tardar hasta 14 días, a su vez se propuso varias indicaciones para evitar la propagación del virus, por ejemplo; mantener una distancia mínima de un metro y medio, portar cubrebocas (cubriendo adecuadamente la zona de la boca y nariz), lavarse las manos o utilizar desinfectante de base alcohólica con frecuencia, vacunarse, estornudo de etiqueta y espacios ventilados. Algunos de los factores que influyen a que esta enfermedad sea tan variable son, personas de la tercera edad, pacientes que padezcan enfermedades vinculadas al sistema respiratorio, comorbilidades (enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer). (Marín, 2021; Organización Mundial de la Salud, 2023):

El 5 de mayo de 2023 la OMS, finalmente declaró que la emergencia sanitaria internacional por COVID-19, finalizó (Organización Mundial de la Salud, 2023).

## 2.1 Epidemiología de COVID-19

Al 28 de diciembre de 2025, se registraron a nivel mundial aproximadamente, 779 051 482 casos confirmados de COVID-19, Europa cuenta con 281 682 407 casos, es la región con mayores números confirmados, en la posición dos se encuentra la región del Pacífico Occidental con 215 441 060 casos y en tercer lugar se encuentra la región de las Américas con 193 797 974 casos y el número de defunciones a nivel mundial es de 7,108,060 , siendo las Américas la región con mayor número de defunciones con 3 067 422, en segunda posición Europa con 2 282 092 y tercer lugar el Sudeste Asiático con 647 281 defunciones (World Health Organization, 2025).

En México hasta el 25 de junio de 2023 se han confirmado 7 633 355 casos de COVID-19, con 334 336 casos de defunciones, dónde el género más afectado es el femenino con un 53.66% y el masculino con 46.34%. Las principales comorbilidades presentes en los pacientes confirmados son; hipertensión con 11.90%, obesidad con 9.59%, diabetes con 8.74% y tabaquismo con 5.41% (*COVID-19 Tablero México*, 2023). Los tres estados con mayor prevalencia de infecciones por COVID-19 son, CDMX con 1 902 003 casos, continuamos con el Estado de México con 760 699 casos, en tercer lugar Nuevo León con 430 451 casos y Querétaro en doceavo lugar cuenta con 189 851 casos registrados hasta el 24 de junio de 2023 (Figura 2) (*COVID-19 Tablero México*, 2023).

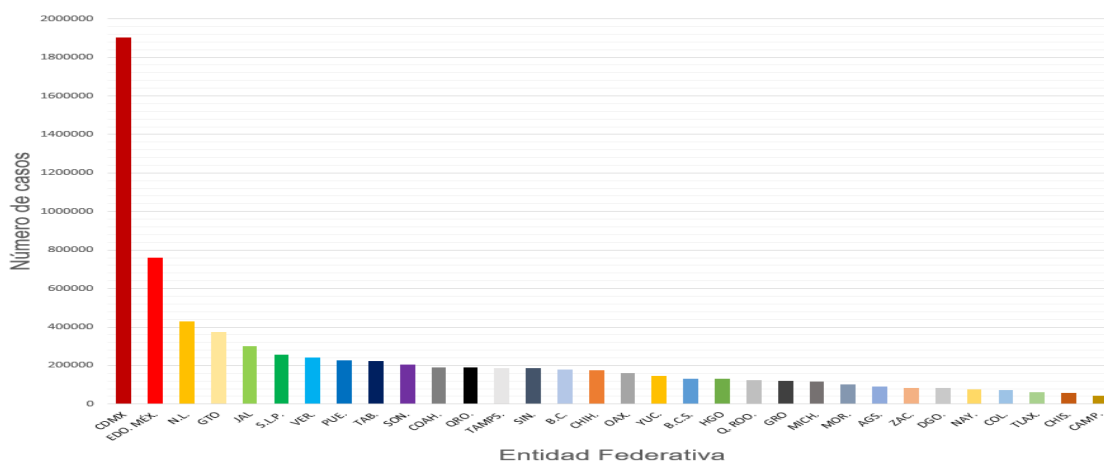


Figura 6. Casos acumulados desde el inicio de la pandemia a la actualidad del 02/02/20 al 24/06/23 (*COVID-19 Tablero México*, 2023).

## 2.2 Patogénesis de la COVID-19

El Sistema Renina-Angiotensina (SRA) es de vital importancia en el sistema homeostático ya que involucra un equilibrio del volumen transeúnte del aparato circulatorio para su funcionamiento ayudando en la regulación del gasto cardíaco, presión arterial e incluso los niveles electrolíticos (Tortora y Derrickson, 2013a). Dado que el receptor de Enzima Convertidora de Angiotensina 2 tiene un rol muy importante en el SRA, la infección por SARS-CoV-2 altera las funciones de este sistema puesto que el virus tiene un tropismo por tejidos de la cavidad nasofaríngea y las vías respiratorias, tejidos que expresan en gran cantidad dicho receptor (Manta et al., 2022).

La afinidad del virus por las células epiteliales nasales, pulmonares y ramas bronquiales, se puede explicar ya que su proteína S necesita un procesamiento proteolítico para activar la vía endocítica, la TMPRSS2 (proteasa de membrana que activa proteínas de superficie) se coexpresa altamente en tejidos abundantes de ECA2, una vez que el virus SARS-CoV-2 se adhiere a los receptores ECA2, lo degrada, impidiendo la regulación de angiotensina II (molécula vasoconstrictora, inflamatoria y pro-fibroítica) ocasionando daño en una gran variedad de células que presentan dicho receptor (Pastrian-Soto, 2020).

Los pacientes infectados por SARS-CoV-2 presentan cambios histopatológicos principalmente en los pulmones, como daño alveolar difuso, descamación de neumocitos y depósitos de fibrina en los pulmones, estos daños son ocasionados por la invasión en los neumocitos encargados del intercambio de gases y mantenimiento del tejido alveolar (Manta et al., 2022).

La infección en el sistema respiratorio se divide en tres fases:

1. Primera fase: Inicia en la zona nasofaríngea, infecta algunas células del huésped, sin embargo, no hay una respuesta agresiva ante ese estímulo y cabe destacar que es el cuadro de infección que generalmente cursan los pacientes asintomáticos (Mason, 2020).



2. Segunda fase: Inicio de los síntomas de inflamación pulmonar, afectando de esta manera las vías respiratorias mayores, bronquios y bronquiolos, además el paciente puede o no cursar un cuadro de hipoxia (Mason, 2020).
3. La tercera fase: Conlleva la alteración en el intercambio gaseoso, ya que existe una infección en las células que conforman la pared del alvéolo llamadas neumocitos tipo I y II (Mason, 2020).

Los alveolos son donde se lleva a cabo el intercambio de gases entre el aparato circulatorio y el exterior, los neumocitos tipo I se encargan prácticamente del intercambio, y la función del tipo II es expandir y evitar el colapso de los alveolos secretando una sustancia llamada surfactante, esta se encarga de la disminución de la tensión superficial (Reina, 2020).

El SARS-CoV-2 infecta a los neumocitos de los dos tipos, la infección provoca la lisis de los neumocitos libera patrones moleculares asociados al daño (DAMP) y patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), provocando la activación de los macrófagos circundantes del tejido pulmonar (Sanz et al., 2021). Dichos macrófagos han sido implicados en el proceso de daño endotelial que inicia el síndrome de distrés agudo respiratorio (SDRA), como resultado, estas células secretarán quimiocinas y citocinas proinflamatorias, como la interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ), IL-6, IL-12, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), entre otras, para atraer macrófagos, monocitos y células T, continuando con el proceso inflamatorio. Cuando la respuesta inmune es adecuada, las células T CD8<sup>+</sup> (reconocen y destruyen las células infectadas por microorganismos), específicas para SARS-CoV-2, con la misión de eliminar las células infectadas para evitar la liberación de nuevas partículas virales (Sánchez Valverde et al., 2021; Sanz et al., 2021).

Además, se iniciará un proceso de síntesis de anticuerpos específicos (linfocitos T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, y linfocitos B) contra las proteínas del SARS-CoV-2, lo que evitará futuras infecciones virales con esta proteína o neutralizar al virus, mediante fagocitosis a las células infectadas, este proceso se le conoce como sistema de inmunidad adquirida o adaptativa (Suárez et al., 2020). Si la respuesta inmune no es capaz de controlar o inhibir la infección y remediar los tejidos afectados, el huésped puede desarrollar el síndrome de distrés respiratorio agudo, en el que clásicamente se observa dificultad para respirar y bajo nivel de

oxigenación sanguínea, comprometiendo la vida del paciente (María y Fuentes-Mascorro, 2020).

#### 2.2.1.1 Alteraciones en otros sistemas y aparatos

El receptor ECA2 tiene una presencia amplia en diversas células, es por eso que las personas infectadas por COVID-19 presentan alteraciones en diferentes sistemas y aparatos (Scialo et al., 2020).

Se ha reportado que existe una alteración del aparato digestivo en pacientes infectados por COVID-19, ocasionando síntomas como pérdida de apetito, diarrea, náuseas y vomito, esto es ocasionado por la invasión del receptor ECA2 en los enterocitos (células epiteliales del intestino encargadas de la absorción de nutrientes) (Galanopoulos et al., 2020).

Además de las alteraciones respiratorias y gastrointestinales, se pueden manifestar cambios en la percepción del gusto, presencia de cefaleas, anosmia y mareos frecuentes, siendo estas características neurológicas y su posible vía de conexión es el epitelio nasal debido a la expresión del receptor ECA2 que facilita acceso hacia el tejido nervioso al patógeno (Padrón-González y Dorta-Contreras, 2020).

Por otro lado, se ha podido identificar la presencia de ECA2 en los riñones, principalmente en las células tubulares proximales renales y podocitos, conjuntamente agregando los efectos de la tormenta de citoquinas, causa la necrosis tubular lo que a su vez produce proteinuria (presencia de proteínas en orina), hematuria (presencia de sangre en orina) (Moreno Madrigal y Lima, 2022).

Estas alteraciones multisistémicas presentan un estado inflamatorio crónico alterando de manera constante el estado basal fisiológico de los tejidos, especialmente la mucosa del intestino y tracto respiratorio, esta inflamación prolongada altera los factores como el pH, la disponibilidad de los nutrientes, la actividad del sistema inmune, etc. Estos cambios favorecen la proliferación de microorganismos oportunistas provocando una disbiosis (desequilibrio en la población de microorganismos) caracterizada por una disminución de especies reguladoras y un aumento de bacterias proinflamatorias (Hernández-Terán et al., 2021; Hoffmann et al., 2020; L. Li et al., 2021)

## 2.3 La microbiota y SARS-CoV-2

Las co-infecciones bacterianas son muy comunes en los pacientes con COVID-19, debido al daño de diversos tejidos, la sobre activación del sistema inmunológico (tormenta de citocinas), el estado inflamatorio excesivo, ocasiona una disminución en la respuesta ante cualquier otro patógeno, determinando alteraciones en la microbiota, siendo esta alteración una importante causa del aumento de la mortalidad en los pacientes con COVID-19, en el caso de algunas bacterias se benefician a partir del estado inflamatorio crónico provocado por la secreción de citocinas como defensa contra SARS-CoV-2 (Buttenschön et al., 2022; Solís y Aizpuru, 2022; Takahashi et al., 2021).

Por esta razón es de vital importancia entender las interacciones, perturbaciones y las consecuencias (benéficas o perjudiciales) que generan en la salud entre la microbiota de la zona oro-nasofaríngea y el huésped, y así el poder prevenir o tratar enfermedades.

### 2.3.1 Predominancia de bacterias orofaríngea en pacientes COVID-19 positivos

Se ha podido observar que la infección por SARS-CoV-2 puede alterar la composición de la microbiota bacteriana orofaríngea (Giovannini et al., 2025). Esta disbiosis, posiblemente este asociada con la gravedad de la enfermedad y a continuación, se presenta un enlistado de géneros bacterianos predominantes o que disminuyeron en pacientes COVID-19, según los estudios citados.

#### 2.3.1.1 Alteraciones bacterianas en la zona orofaríngea

Estos géneros son más abundantes en los pacientes COVID-19 positivos:

*Veillonella*: Se ha podido detectar que este género bacteriano es predominante en pacientes positivos, siendo un patógeno oportunista, aunque su disminución, junto a otras especies, se asocio a una necesidad de asistencia respiratoria (Bradley et al., 2022; Ma et al., 2021; Ren et al., 2021).

*Prevotella*: Un nivel alto de este género bacteriano fue detectado en pacientes positivos, fumadores, siendo las especies, *Prevotella salivae* y *Prevotella jejuni*, los dos diferenciales en pacientes COVID-19 (Callahan et al., 2022; Iebba et al., 2021).

Bacterias vinculadas a mortalidad: En pacientes fallecidos, se observó una predominancia de *Enterococcus* y el hongo *Candida*, y hubo una correlación de la abundancia de *Klebsiella pneumoniae* y *Candida Albicans* con el aumento de marcadores inflamatorios antes de la alta o la defunción (Ren et al., 2021).

Otros géneros enriquecidos: *Megasphaera*, *Actinomyces*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium* ((Bradley et al., 2022; Ma et al., 2021; Ren et al., 2021; Rodríguez-Cardona et al., 2021; Tan et al., 2023).

#### 2.3.1.2 Bacterias asociadas a protección

Estas bacterias son más predominantes en pacientes sanos o negativos.

*Streptococcus*: Se ha reportado que existe una disminución significativa en pacientes COVID-19 en comparación con controles sanos, también es una de las más abundantes en pacientes que se recuperan y se ha llegado a administrar como probiótico a *S. thermophilus*, reduciendo las infecciones respiratorias en el personal médico (Ma et al., 2021; Ren et al., 2021; Wang et al., 2021).

*Neisseria*: Este género es abundante en los pacientes sanos y también se ha detectado una disminución en pacientes positivos (Callahan et al., 2022; Iebba et al., 2021; Tan et al., 2023).

Otras bacterias: *Pseudopropionibacterium* y *Rothia*, disminuyeron en COVID-19 (Ma et al., 2021). Y *Haemophilus*, *Granulicatella*, *Escherichia* y *Cutibacterium*, son más abundantes en pacientes negativos (Ren et al., 2021).

#### 2.3.1 Predominancia de bacterias nasofaríngea en pacientes COVID-19 positivos

De igual manera se ha identificado que la microbiota nasofaríngea cambia durante la infección de SARS-CoV-2, pudiendo estar asociado a la gravedad de la enfermedad (Giovannini et al., 2025).

##### 2.3.1.1 Alteraciones bacterianas en la zona nasofaríngea

Los siguientes géneros son los más abundantes en los pacientes positivos:

Pacientes sintomáticos: Los géneros *Staphylococcus*, *Anhidrobacter*, *Thermus* y *Aerococcus* fueron más abundantes (Bose et al., 2023). Otro estudio detectaron las especies *Afipia*

*birgiae*, *Anaerobacillus alkalidiazotrophicus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* y *Streptococcus pneumoniae* en pacientes positivos (Tchoupou Saha et al., 2022).

Asociación con hospitalización y gravedad: En un estudio se descubrió que había una mayor abundancia de *Staphylococcus* y menor abundancia de *Dolosigranulum* en adultos hospitalizados (Rocafort et al., 2022). Por otro lado, un análisis en pacientes que no necesitaron asistencia oxígeno, se identificó que los géneros *Slenomonas*, *Filifactor*, *Actinobacillus* y *Chroococcidiopsis* fueron más abundantes en dichos pacientes (Ventero et al., 2022).

Asociación con mortalidad: En los pacientes fallecidos se pudo identificar una mayor abundancia de *Bacillus massiliamazoniensis*, *Corynebacterium accolens*, *Corynebacterium propinquum* y *Staphylococcus capitis* (Tchoupou Saha et al., 2022).

Otros hallazgos: Se descubrió que *Cutibacterium* y *Lentimonas* tuvieron mayor abundancia en pacientes sintomáticos (Kolhe et al., 2021), así como mayor abundancia de la familia *Propionibacteriaceae* en pacientes positivos (Mostafa et al., 2020).

#### 2.3.1.2 Bacterias asociadas a protección

En cambio, la presencia de ciertas bacterias se ha relacionado con una mayor resistencia o con una evolución de la enfermedad más favorable para el paciente.

Sintomatología leve: Un estudio realizado en infantes que presentaron infecciones asintomáticas o leves, revelaron que en su microbiota dominaba los géneros *Corynebacterium*, *Moraxella* y *Dolosigranulum*, presentando a la baja los géneros *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Staphylococcus* (Rocafort et al., 2022). Un estudio *in vitro* demostró que las especies *Dolosigranulum pigru*, y *Lactiplantibacillus plantarum*, mejoran la respuesta inmune y aumenta la resistencia a la infección por SARS-CoV-2 (Andrade et al., 2022).

Menor posibilidad de requerir asistencia de oxígeno: Los géneros detectados para estos casos fueron *Selenomonas*, *Filifactor*, *Actinobacillus* y *Chroococcidiopsis* (Ventero et al., 2022).

Predominancia en individuos sanos (negativos): La predominancia de las especies bacterianas para este grupo fueron las siguientes, *Finegoldia magna* *Gemella haemolyusans*, *Gemella Sanguinis*, *Methylobacterium brachiatum* y *Peptoniphilus gorbachii* (Tchoupou Saha et al., 2022).

Disminución en positivos: Las familias bacterianas que disminuyeron en pacientes COVID-19 positivos fueron *Rickettsiaceae* y *Prevotellaceae* (Bose et al., 2023; Kolhe et al., 2021). También se observó una menor abundancia de *Corynebacterium accolens* (Mostafa et al., 2020) y de pacientes sintomáticos en comparación con los asintomáticos fueron *Luminiphilus*, *Flectobacillus*, *Comamonas* y *Jannaschia* (Kolhe et al., 2021).

Se ha vinculado la evidencia científica que la infección por SARS-CoV-2 altera la eubiosis en la microbiota oronasofaríngea. Esta disbiosis nos da la oportunidad de entender la composición bacteriana de esta zona de nuestro cuerpo, sin embargo, se ha podido detectar comportamientos paradójicos durante la infección del virus, sobre todo de las familias *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae*, siendo esencial el analizar su abundancia y roles para comprender el impacto de la COVID-19.

### 2.3.2 *Streptococcaceae* y la zona oronasofaríngea

*Streptococcus spp.* Es de los principales géneros que se encuentran en la saliva y en la zona oronasofaríngea (Tabla 4), este constituye un porcentaje elevado en dicha región, a su vez, *streptococcus* ayudan a modular el pH, la disponibilidad de nutrientes, posibilita la adhesión y sucesión de otras especies, incluso estreptococos comensales (*S. salivarius*) producen bacteriocinas que limitan patógenos y contribuyen a la homeostasis (Rocha et al., 2017).

| Región            | Especies más abundantes                                        |
|-------------------|----------------------------------------------------------------|
| Periodontio       | <i>S. oralis</i> .                                             |
| Mejillas (mucosa) | <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. infantis</i> .      |
| Paladar duro      | <i>S. oralis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. infantis</i> . |
| Saliva            | <i>S. salivarius</i> , <i>S. oralis</i>                        |

Tabla 2. Especies más abundantes del género *Streptococcus* en la cavidad oronasofaríngea.

Durante la pandemia ocasionada por COVID-19, hubo medidas muy rigurosas para evitar la propagación del virus, a su vez, redujeron drásticamente las infecciones originadas por *Streptococcus pyogenes*. Sin embargo, una vez que se disminuyeron las medidas obligatorias, se pudo observar un repunte a nivel global de esta especie bacteriana en niños. El sistema inmune y coinfecciones post-COVID pueden explicar este rebrote de *S. pyogenes*. El manejo y administración rápida de penicilina y clindamicina son esenciales para controlar infecciones graves por este agente (Karapati et al., 2024).

A su vez, durante la COVID-19, se describió que vesículas extracelulares procedentes de células infectadas por *Streptococcus pneumoniae* podían modular la respuesta inmune. Cuando un neutrófilo es expuesto a la toxina de *S. pneumoniae* (neumolisina) liberan vesículas extracelulares que activan plaquetas, estas aumentan la respuesta inflamatoria del cuerpo. Además estas vesículas en células epiteliales pulmonares suprimen la producción de especies reactivas de oxígeno en los neutrófilos, lo que compromete aún más la defensa del huésped contra una coinfección bacteriana-viral (Hambo y Harb, 2023).

### 2.3.1 *Prevotellaceae* y la zona oronasofaríngea

Desde el comienzo de la pandemia, múltiples estudios 16S/shotgun han descrito alteraciones del microbiota en las vías superior asociadas a Covid-19. Las revisiones señalan patrones heterogéneos entre cohortes, pero convergen en cambios en la abundancia de comensales (incluso *Prevotella*) podrían modificar el curso clínico mediante vías inflamatorias y de coinfección bacteriana (Merenstein et al., 2022). Se ha destacado confusores metodológicos y clínicos como antibióticos, soporte respiratorio, tiempo de muestro) que pueden sesgar asociaciones entre COVID-19 y la micobiota (Lloréns-Rico et al., 2021).

Un estudio prospectivo (n=50) en orofaringe, demostró que baja abundancia en *Prevotella salivae* al ingreso hospitalario se asoció fuertemente con la necesidad de soporte respiratorio agudo, además, una menor representación de rutas LPS se vinculó a una peor evolución (Bradley et al., 2022)

En nasofaringe, estudios chortes han reportado resultados mixtos : algunas muestran una baja diversidad y cambios en la estructura comunitaria en positivos a SARS-CoV-2 y encontraron variaciones de *Prevotella* según la severidad y la ola epidémica (Bradley et al., 2022).

Otros estudios y análisis recientes informan que *Prevotella* y *Veillonella* son géneros frecuentes tanto en casos como en controles, y en ciertas series mayor *Prevotella* se asoció a mayor gravedad de la enfermedad (Atencio et al., 2024; Scholtz-Buchholzer et al., 2022), enfatizando la asociación protección de riesgo lo que podría depender de la especie/ cepa, el estado periodontal o en que contexto terapéutico se encuentra el sujeto (Scholtz-Buchholzer et al., 2022).

Por lo que la familia *Prevotellaceae* será una pieza clave para el ecosistema oro-nasofaríngeo y su variación en COVID-19, apunta a un contexto dependiente. La evidencia se dirige a dos marcos importantes no excluyentes, primero la perdida de *Prevotella* comensales asociada a un peor desenlace (p. ej., *P. salivae* baja en orofaringe) y en segunda la sobre presencia de ciertas especies de *Prevotella* en nasofaringe se vincula a la inflamación local o coinfecciones, especialmente cuando coexisten periodontitis, uso de antibióticos o hospitalización (Merenstein et al., 2022).

La literatura muestra una dualidad no resuelta: mientras algunos estudios asocian la presencia de Streptococcaceae y Prevotellaceae con mayor gravedad de COVID-19, otros relacionan su ausencia con mejor evolución clínica. Persiste la incógnita sobre si son un factor agravante activo o solo un marcador indirecto de disbiosis secundaria



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 General:

Cuantificar las familias Streptococcaceae y Prevotellaceae de las muestras oronasofaríngeas, asociadas a pacientes positivos y negativos a SARS-CoV-2, y determinar su posible asociación a protección o riesgo frente a infecciones a SARS-CoV-2.

#### 3.2 Particulares:

1. Cuantificar e identificar la proporción del gen 16S rRNA de poblaciones totales y de las familias Streptococcaceae y Prevotellaceae, en las muestras oronasofaríngeas de pacientes positivos y negativos a SARS-CoV-2.
2. Evaluar la asociación entre la abundancia de poblaciones totales, *Streptococcaceae*, *Prevotellaceae* y la carga viral, en pacientes positivos a la detección de SARS-CoV-2.
3. Determinar la posible asociación a protección o riesgo frente a la infección entre poblaciones totales, en pacientes positivos y negativos a SARS-CoV-2.

#### 3.3 Objetivos Profesionalizantes:

- Adquirir habilidades y conocimientos en la aplicación de técnicas moleculares para el diagnóstico de enfermedades a través de la implementación de las técnicas moleculares como qPCR.
- Ampliar y profundizar en el conocimiento de la fisiopatología de la COVID-19, con el fin de comprender mejor los mecanismos subyacentes y sus implicaciones en el tratamiento y diagnóstico, como la posible explicación de la función de inmunomodulación bacteriana de la microbiota contra la enfermedad COVID-19.
- Obtener competencias en áreas complementarias como el uso de software bioinformáticos para el análisis filogenético de las bacterias.

## **4. METODOLOGÍA**

### **4.1 Diseño experimental**

El diseño de este proyecto de investigación es de tipo descriptivo-comparativo y se presenta como una continuación del trabajo de tesis titulado “Asociación entre comorbilidades y umbral de ciclo de RT-qPCR de individuos positivos a SARS-CoV-2”. En este estudio anterior, se realizó la recolección de muestras de hisopado oro-nasofaríngeo de pacientes positivos y negativos a la prueba de RT-qPCR para la detección de SARS-CoV-2 en la Unidad de Servicios Clínicos y Diagnóstico Molecular (USC-DM) de la Universidad Autónoma de Querétaro, durante el período comprendido entre el 8 de mayo de 2020 y el 8 de febrero de 2021, con un total de 4050 muestras obtenidas. Para esto se consideraron los siguientes criterios:

- Formularios epidemiológicos de pacientes que se realizaron la prueba de RTqPCR en la USC-DM entre el 8 de mayo del 2020 y el 8 de febrero del 2021.
- Muestras oro-nasofaríngeas de pacientes que se realizaron la prueba de RTqPCR en la USC-DM entre el 8 de mayo del 2020 y el 8 de febrero del 2021.

Criterios de eliminación:

- Menores de edad.
- Formularios incompletos.
- Formularios sin consentimiento informado.
- Formularios de pacientes con registro de tratamiento antibiótico y/o antiviral.

#### **4.1.1 Procedimiento de recolección de muestras**

Los hisopados se obtuvieron de las pruebas que se realizaron en la USC-DM, para la detección de SARS-CoV-2, por el personal técnico de laboratorio de la USC. Los hisopos son colocados en un mismo medio de transporte viral que vienen incluidos en el kit viral Quick- ARN<sup>TM</sup> de ZYMO RESEARCH, no. de catálogo R1034 & R1035. Previo a la toma de muestra, el paciente completó el formulario epidemiológico en línea establecido por la Secretaría de Salud para la pandemia de COVID-19. Al mismo tiempo, se presentó al

paciente un consentimiento informado, en donde el paciente decide si los datos y la muestra obtenida pueden ser utilizados con fines de investigación.

#### 4.1.2 Aspectos bioéticos

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki, una declaración de principios éticos para proporcionar orientación a los médicos y otros participantes en la investigación médica con seres humanos. Durante todo el estudio, se mantuvo la integridad y confidencialidad de los datos de identificación de la muestra, a través de la recopilación de los datos necesarios sin utilizar la información de identificación personal, retirando esta de la base de datos que se trabajó.

#### 4.1.3 Manejo de los datos obtenidos del formulario epidemiológico

Con base en las respuestas del formulario epidemiológico aplicado a los pacientes, crearon una base de datos en el programa Excel con los datos obtenidos y el resultado correspondiente a la prueba de detección de SARS-CoV-2 (resultado positivo con el valor de CT o negativo) para facilitar el acceso a la información. Se empleó un filtrado de la base de datos aplicando los criterios de inclusión y eliminación.

#### 4.1.4 Extracción de ARN:

Se utilizó el Quick-ARN™ viral kit de ZYMO RESEARCH número de catálogo R1034 & R1035, para la detección de la presencia del virus SARS-CoV-2.

##### 4.1.4.1 Cebadores y sondas para la PCR cuantitativa con transcripción inversa de un solo paso (RT-qPCR):

La identificación del SARS-CoV-2 en las muestras oro-nasofaríngeas mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-qPCR) utilizando el sistema *LightCycler*® de Roche. Para la amplificación se emplearon cebadores y sondas específicas dirigidas a las regiones N1 y N2 del gen N del virus, así como al gen de la ARNasa P como control endógeno. Las secuencias utilizadas fueron: para la región 2019-nCoV\_N1, cebador sentido 5'→3' GAC CCC AAA ATC AGC GAA AT, cebador anti sentido 3'→5' TCT GGT TAC TGC CAG TTG AAT CTG y sonda FAM-ACC CCG CAT /ZEN/ TAC GTT TGG TGG ACC-3IABkFQ; para la región 2019-nCoV\_N2, cebador sentido 5'→3'

TTA CAA ACA TTG GCC GCA AA, cebador anti sentido 5'→3' GCG CGA CAT TCC GAA GAA y sonda FAM-ACA ATT TGC /ZEN/ CCC CAG CGC TTC AG-3IABkFQ; y para la ARNasa P, cebador sentido 5'→3' AGA TTT GGA CCT GCG AGC G, cebador anti sentido 5'→3' GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT y sonda FAM-TTC TGA CCT /ZEN/ GAA GGC TCT GCG CG-3IABkFQ. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 20 µL, con las siguientes condiciones: transcripción inversa a 45 °C durante 900 s, desnaturalización inicial a 95 °C durante 120 s y finalmente 45 ciclos de amplificación consistentes en desnaturalización a 95 °C durante 3 s y alineamiento-extensión a 55 °C durante 30 s.

#### 4.1.4.2 Conservación de muestras

Las muestras de hisopado oro-nasofaríngeo en el medio de conservación de ácidos nucleicos fueron almacenados a -20°C hasta su proceso de extracción de ADN.

#### 4.1.5 Características para la selección de muestra

##### 4.1.5.1 Criterios de inclusión

- Sujetos  $\geq 18$  años.  $\leq 40$  años.
- No embarazo.
- IMC normal y anormal.
- Pacientes sintomáticos y asintomáticos.
- Sin comorbilidades y con obesidad y sobrepeso.
- Sin y con vacuna contra la influenza.
- Sin tratamiento antibiótico.

##### 4.1.5.2 Criterios de eliminación

- Fumadores.
- Embarazadas.
- Tratamiento médico.
- Pacientes con enfermedades orales.
- Muestras no viables para su análisis.

#### 4.1.5.3 Tamaño de la muestra

Una vez aplicado los criterios de inclusión y eliminación a las 4050 muestras para determinar si eran viables para la investigación, se obtuvo un tamaño de muestra de 69 muestras, sin embargo, se excluyeron las muestras que no cumplían la mínima concentración de DNA para proseguir con su análisis, dando un total de 62 muestras viables, las cuales se mantuvieron almacenadas en el congelador durante cuatro años a -80 °C.

#### 4.1.5.4 Grupos de estudio

Esta investigación se divide en dos grupos de estudio:

- Grupo control (SARS-CoV-2 negativos): 28 individuos.
- Grupo positivo a SARS-CoV-2: 35 individuos

#### 4.1.5.5 Objetivo particular 1

Para realizar el objetivo 1: Identificar y caracterizar la composición bacteriana en las muestras oro-nasofaríngeas de pacientes positivos y negativos a SARS-CoV-2 mediante la amplificación y cuantificación del gen 16S rRNA de poblaciones totales, *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae*.

##### 4.1.5.5.1 Extracción de ADN:

Se utilizó el Kit Quick DNA Miniprep (Catálogo D3024):

1. Centrifugar suspensión bacteriana 13 000 RPM durante 3 min.
  2. Remover el sobrenadante.
  3. Agregar 500 µL de Genomic Lysis Buffer
  4. Disolver completamente el pellet e incubar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- PASO CRÍTICO
5. Transferir la mezcla a una columna Zymo-Spin IIC Cluumn en un tubo de colección. Centrifugar a 11 000 RPM por 1 minuto.
  6. Desechar el sobrenadante del tubo de colección y agregar a la columna 200 µL de DNA Pre-Wash Buffer a la columna. Centrifugar 11 000 rpm por 1 minuto.

7. Agregar 500  $\mu$ L del g-DNA Wash Buffer a la columna. Centrifugar 11 000 RPM durante 1 minuto.
8. Se transferir la columna a un microtubo de 1.5 ml. Agregar 50  $\mu$ L de DNA Elution Buffer directamente a la columna (PASO CRÍTICO).
9. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
10. Centrifugar 13 000 RPM por 30 segundos para eluir el DNA.
11. Se almacenó el ADN extraído y se mantuvo en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.1.5.5.2 Evaluación de la calidad e integridad de ADNc

Se midió la pureza por espectrofotometría en el Multiskan GO a 260, 280 y 230nm, se calcularon los ratios 260/280 y 260/230 (Programa de control de calidad de ácidos nucleicos. Banco Nacional de ADN y Carlos III (Universidad de Salamanca), 2024) (Tabla 4).

Tabla 3. Valores de referencia para la pureza del ADN.

| Ratio   | Valor     | Pureza ADN                                                      |
|---------|-----------|-----------------------------------------------------------------|
| 260/280 | ~1.8      | Óptima                                                          |
|         | > 1.7     | Aceptable                                                       |
|         | < 1.7     | Contaminado con compuestos aromáticos como fenoles y proteínas. |
| 260/230 | 1.8 - 2.2 | Pureza óptima                                                   |
|         | < 1.8     | Contaminado con sales, carbohidratos                            |
|         | < 1.5     | Altamente contaminado con sales, carbohidratos                  |

#### 4.1.5.5.3 Amplificación del gen 16S ARNr

La amplificación del gen 16S ribosomal se realizó mediante una reacción de PCR de punto final en el equipo termociclador BIORAD T100™ Thermal Cycler. Para su amplificación se utilizaron los cebadores específicos dirigidos a la región conservada del gen 16S: cebador en sentido (5'→3') AGAGTTTGATCCTGGCTCAG, con una longitud de 20 pares de bases, y cebador en antisentido (5'→3') GCCTTGCCAGCCCGCTCAGCCTTCYGCAGGTTCACCTAC, con una longitud de 39 pares de bases. Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94 °C durante 180 s, seguida de 35 ciclos consistentes en desnaturalización a 94 °C durante 45 s, alineamiento a 55.3 °C durante 30 s y elongación a 72 °C durante 30 s; finalmente, se realizó una etapa de elongación final a 72 °C durante 300 s para completar la extensión de los productos amplificados.

#### 4.1.5.5.1 Amplificación de los primer para bacterias.

La amplificación de las familias bacterianas se realizó mediante PCR de punto final utilizando el termociclador BIORAD T100™ Thermal Cycler. Las condiciones fueron: desnaturalización inicial a 94 °C durante 180 s, seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 45 s, alineamiento a 55.3 °C durante 30 s y elongación a 72 °C durante 30 s, con una elongación final a 72 °C durante 300 s; la integridad del ADN se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %. La detección de *Prevotellaceae* (*P. dentalis*, *P. ihumii*, *P. herbatica*, *P. disiens*, *Segatella oulorum* y *Segatella salivae*) se realizó empleando el cebador en sentido 5'→3' TTCGTCGTGTAGCGGTGAAA y el cebador en antisentido 5'→3' ATCCTGTTTCGATACCCGCAC, obteniéndose un amplicón de 112 pb; mientras que *Streptococcaceae* (*S. gingivalis*, *S. wuxiensis*, *S. fermentans* y *S. oralis*) se amplificó con el cebador en sentido 5'→3' GGGGCTACACACGTGTTACA y el cebador en antisentido 5'→3' CATGGCTGATGCGCGATTAC, generando un amplicón de 148 pb. Las condiciones de la PCR punto final para el cebador de *Prevotellaceae* se amplificó con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 120 s seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 s, alineamiento a 60 °C durante 30 s y elongación a 72 °C durante 30 s, con una elongación final a 72 °C durante 180 s; mientras que *Streptococcaceae* se amplificó con desnaturalización inicial a 50 °C durante 120 s, seguida de 34 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 120 s, alineamiento a 58 °C durante 30 s, elongación a 60 °C durante 30 s y una elongación final a 72 °C durante 30 s.

#### 4.1.5.6 Objetivo particular 2: Evaluar la asociación entre la abundancia de poblaciones totales, *Streptococcaceae*, *Prevotellaceae* y la carga viral, en pacientes negativos y positivos a la detección de SARS-CoV-2.

La evaluación de la abundancia bacteriana y su análisis estadístico se realizaron con el software GraphPad Prism 8, con el cual se logró determinar la distribución de los datos, llevar a cabo las comparaciones necesarias entre los grupos de interés y calcular sus correlaciones.



## 5. RESULTADOS

### 5.1 Características generales de la población de estudio

Las variables de la población de estudio se determinaron de la siguiente manera, demográficas, antropométricas y clínicas.

Primero se determinó que tipo de distribución presentan nuestros datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables que presentaron una distribución normal se le aplicó la prueba de t de Student no pareada, al contrario, las variables que no presentan una distribución normal se le aplicaron la prueba U de Mann-Whitney.

Esta población está conformada por 62 sujetos, de los cuales 27 son negativos y 35 positivos a SARS-CoV-2.

Las variables demográficas mostraron que el sexo presentó una diferencia estadísticamente significativa  $p = 0.0013$  entre los grupos de interés, destacando que en el grupo positivo se observa una mayor proporción de hombres. Por otra parte, el índice de masa corporal fue significativamente mayor en el grupo positivo en comparación del negativo ( $p < 0.0001$ ).

La cantidad de comorbilidades reveló tener una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio de  $p = 0.0057$ , todo a partir de la prueba U de Mann-Whitney.

En cuanto al tipo de comorbilidades, se utilizó la prueba chi-cuadrada demostrando asociaciones estadísticamente significativas entre el grupo positivo a SARS-CoV-2 y la presencia de diabetes mellitus ( $p = 0.0003$ ) y obesidad ( $p = 0.0159$ ). A su vez, la categoría sin comorbilidades mostró una diferencia significativa entre los dos grupos de interés ( $p = 0.0089$ ) destacando una mayor proporción en los sujetos sin comorbilidades en el grupo negativo.

En el caso al tratamiento médico, el análisis probó que existe una asociación estadísticamente significativa con la vacunación contra la influenza ( $p = 0.0038$ ). Ninguno de los pacientes recibió tratamiento antibiótico al momento del muestreo (Tabla 4).

Tabla 4. Descripción general de las variables de interés. El grupo total se utilizó únicamente con fines descriptivos.

| Características                              | Todos<br>n=62       | Negativo<br>n=27    | Positivo<br>n=35  | Valor de P            |
|----------------------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-----------------------|
| <b>Demográfica</b>                           |                     |                     |                   |                       |
| Masculino                                    | 19 (30.64%)         | 2 (7.40%)           | 17 (48.57%)       | <b>0.0013**</b>       |
| Femenino                                     | 43 (69.35%)         | 25 (95.59%)         | 18 (51.42%)       |                       |
| <b>Edad</b>                                  |                     |                     |                   |                       |
| Media $\pm$ DE                               | 29.37 $\pm$ 5.24    | 28.59 $\pm$ 5.30    | 30.38 $\pm$ 4.94  | 0.3087                |
| <b>IMC</b>                                   |                     |                     |                   |                       |
| Mediana (rango) y Media $\pm$ DE             | 24.65 (18.94-42.28) | 22.58 (18.94-33.22) | 28.55 $\pm$ 5.43  | <b>&lt;0.0001****</b> |
| <b>CT</b>                                    |                     |                     |                   |                       |
| Mediana (rango)                              |                     | 0                   | 25.75(9.73-38.91) |                       |
| <b>Cantidad de comorbilidades</b>            |                     |                     |                   |                       |
| 0                                            | 46 (74.19%)         | 25 (92.59%)         | 21 (60%)          | <b>0.0057**</b>       |
| 1                                            | 11 (17.74%)         | 1 (3.70%)           | 10 (28.57%)       |                       |
| 2                                            | 5 (8.06%)           | 1 (3.70%)           | 4 (11.42%)        |                       |
| <b>Tipo de Comorbilidades</b>                |                     |                     |                   |                       |
| Asma                                         | 1 (1.61%)           | 0                   | 1 (2.85%)         | 0.8956                |
| Depresión                                    | 1 (1.61%)           | 0                   | 1 (2.85%)         | 0.8956                |
| Diabetes                                     | 15                  | 0                   | 15 (42.85%)       | <b>0.0003***</b>      |
| Enfermedad crónica respiratoria              | 1 (1.61%)           | 0                   | 1 (2.85%)         | 0.8956                |
| Hipertensión                                 | 1 (1.61%)           | 0                   | 1 (2.85%)         | >0.9999               |
| Ninguna                                      | 46 (74.19%)         | 25 (92.59%)         | 21 (60%)          | <b>0.0089**</b>       |
| Obesidad                                     | 15 (24.19%)         | 2 (7.40%)           | 13 (37.14%)       | <b>0.0159*</b>        |
| Tabaquismo                                   | 1 (1.61%)           | 1 (3.70%)           | 0                 | 0.8956                |
| <b>Tratamiento médico</b>                    |                     |                     |                   |                       |
| Vacuna contra la influenza                   | 21 (33.87%)         | 15 (55.55%)         | 6 (17.14%)        | <b>0.0038**</b>       |
| Tratamiento antiviral en los últimos 14 días | 4 (6.45%)           | 0                   | 4 (11.42%)        | 0.1954                |
| Tratamiento antibiótico                      | 0                   | 0                   | 0                 | >0.9999               |

## 5.2 Abundancia Absoluta Bacteriana

El análisis de la abundancia absoluta de la carga bacteriana total (gen 16S) y de las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* reveló una distribución no normal en todos los grupos de estudio. Para los grupos negativos (n=27) y positivos (n=35) se empleó la prueba de Shapiro-Wilk, confirmándose en todos los casos la no normalidad ( $p < 0.05$ ).

Dado este resultado, se aplicó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney para comparar las abundancias absolutas entre los grupos. El análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los análisis: Abundancia Absoluta gen 16s ( $p = 0.4356$ ), *Prevotellaceae* ( $p = 0.4130$ ) y *Streptococcaceae* ( $p = 0.3970$ ). Los datos se presentan en la Figura 7 observando una distribución similar en los tres paneles. Este hallazgo sugiere que la abundancia absoluta de interés no varía significativamente entre la población de estudio.

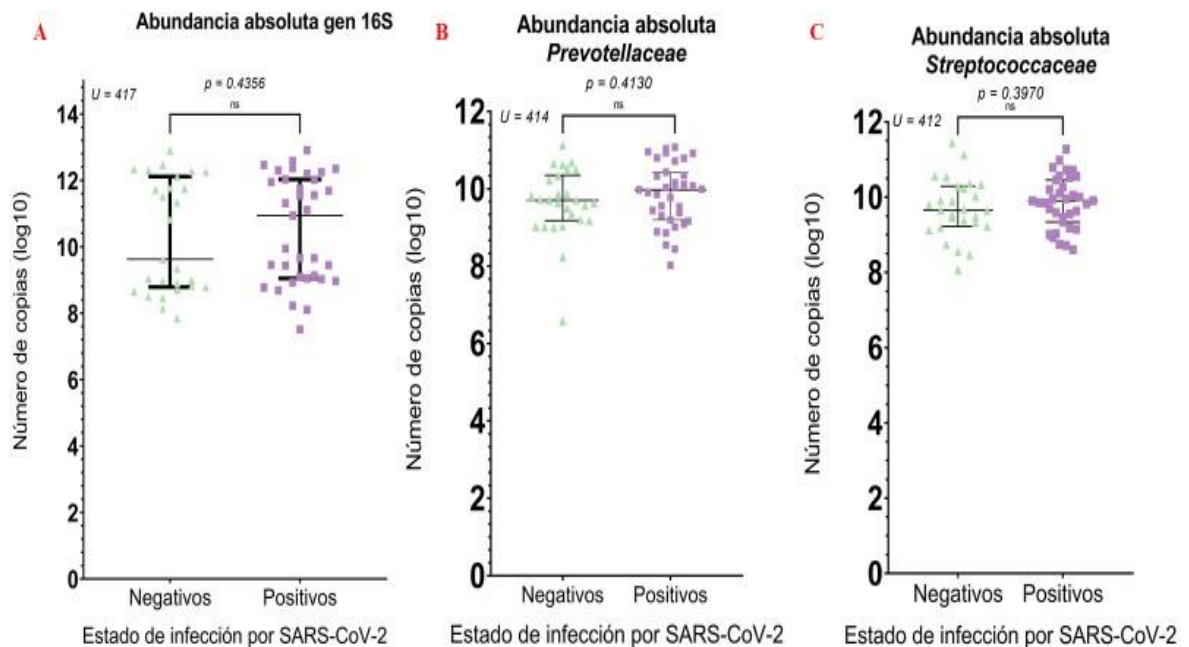


Figura 7. Perfil microbiológico por Abundancia Absoluta.

### 5.3 Abundancia Relativa Bacteriana

El análisis de la abundancia relativa de las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* mostró una distribución no normal en todos los grupos, confirmada mediante pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk para los subgrupos,  $p < 0.05$ ). Dado que nuestras son no paramétricas, se aplicó la prueba de Mann-Whitney.

El análisis mostró diferencias estadísticamente significativas la abundancia relativa de las familias bacterianas de interés al comparar los grupos negativos y positivos a SARS-CoV-2. En ambos grupos se observó una  $p < 0.0001$ . Este hallazgo sugiere que la proporción relativa entre *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* cuentan con una separación marcada entre los grupos analizados (Figura 8).

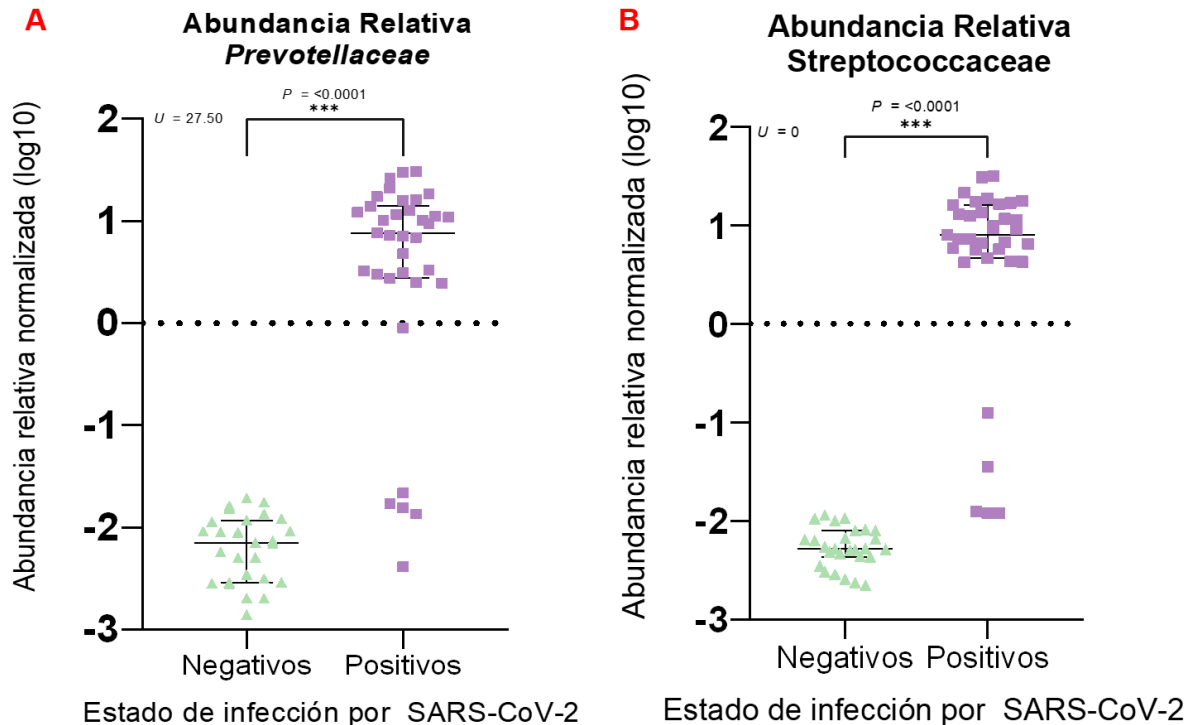


Figura 8. Abundancia relativa de *Prevotellaceae* vs *Streptococcaceae*. Esta se calculó mediante el número de copias del gen específico de cada familia bacteriana y el número de copias del gen de referencia (16S), de acuerdo con la fórmula: abundancia relativa = (copias del gen de interés \* 1) / copias del gen 16S rRNA.

#### 5.4 Correlación de la abundancia relativa bacteriana (Log10) y carga viral (Ct) de SARS-Cov-2

Con el objetivo de evaluar si la abundancia de las familias bacterianas *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* se relacionan con las variables de interés de los participantes, se realizó análisis de correlación utilizando el valor de abundancia relativa transformados a log10 y los parámetros de carga viral de SARS-CoV-2, expresados como valores de Ct. Los resultados mostraron que ninguna de las familias bacterianas evaluadas presentó una correlación estadísticamente significativa con los valores de Ct ( $p > 0.05$ ) (Figura 9).

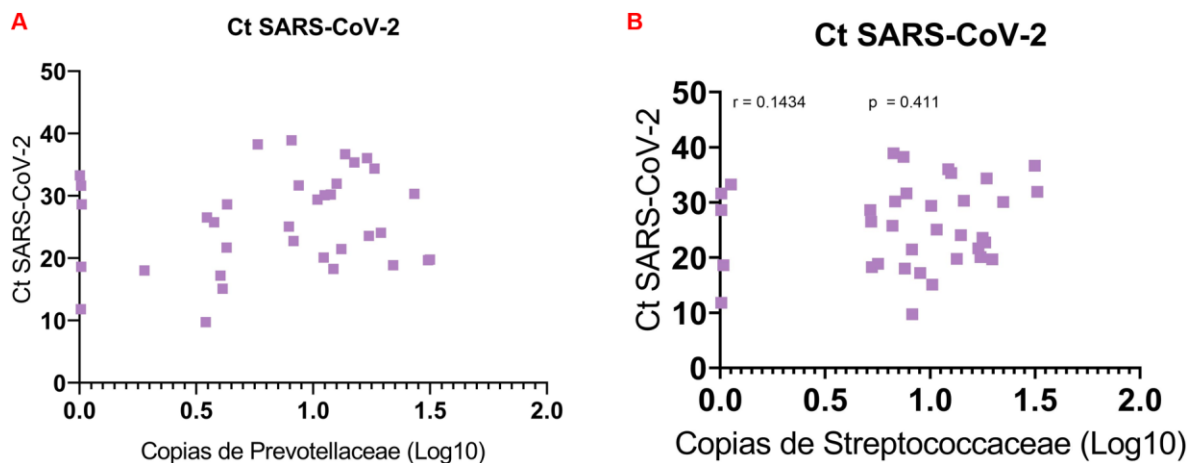


Figura 9. Correlación entre la abundancia bacteriana y concentración viral

### 5.5 Asociación de la presencia de las familias bacterianas de interés y el estado de infección por SARS-CoV-2

Se llevo a cabo un análisis de contingencia para evaluar la asociación de la presencia de las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae*, con el estado de infección por SARS-CoV-2. Dicha comparación se ejecutó mediante la prueba de chi cuadrada con corrección de Yates, debido a la naturaleza de nuestras variables.

La presencia de la familia *Prevotellaceae* mostró tener una asociación estadísticamente significativa asociada a los sujetos positivos a SARS-CoV-2 ( $\chi^2 = 38.77$ , gl = 1;  $p < 0.0001$ ). Por otro lado, el grupo negativo a SARS-CoV-2 no tuvieron presencia de dicha familia (0/27), mientras que el grupo positivo tuvo una presencia del 82.86% de los casos (29/35). Al mismo tiempo se realizó un análisis de razón de momios, obteniendo resultados cercanos a cero, OR = 0.00; IC 95%: 0.00–0.034, esto se puede explicar, ya que hay una ausencia total de esta familia en una de las categorías de la tabla, generando una separación casi completa entre los dos grupos. El intervalo de confianza fue estimado mediante Baptista-Pike, adecuado para tablas con frecuencias bajas o igual a cero (Tabla 5).

Tabla 5. Tabla de contingencia de la familia *Prevotellaceae*.

La presencia bacteriana se definió como valores  $\geq 1$  y la ausencia como valores  $< 1$ ; no se registraron valores negativos.

|          | Presencia de <i>Prevotellaceae</i> | Ausencia de <i>Prevotellaceae</i> |
|----------|------------------------------------|-----------------------------------|
| Negativo | 0                                  | 27                                |
| Positivo | 29                                 | 6                                 |

A su vez, la presencia de la familia *Streptococcaceae* mostró una asociación estadísticamente significativa con el estado de infección por SARS-CoV-2, obteniendo una  $\chi^2$  con corrección de Yates = 41.47, gl = 1;  $p < 0.0001$ . La presencia de *Streptococcaceae* se observó exclusivamente en el grupo positivo 85.7% (30/35), mientras que estuvo ausente en todos los pacientes del grupo negativo. Al mismo tiempo se realizó un análisis de razón de momios, obteniendo resultados cercanos a cero, OR = 0.00; IC 95%: 0.00–0.029, esto se puede explicar, ya que hay una ausencia total de esta familia en una de las categorías de la tabla, generando una separación casi completa entre los dos grupos. El intervalo de confianza fue estimado mediante Baptista-Pike, adecuado para tablas con frecuencias bajas o igual a cero (Tabla 6).

Tabla 6. Tabla de contingencia de la familia *Streptococcaceae*.

La presencia bacteriana se definió como valores  $\geq 1$  y la ausencia como valores  $< 1$ ; no se registraron valores negativos.

|          | Presencia de Streptococcaceae | Ausencia de Streptococcaceae |
|----------|-------------------------------|------------------------------|
| Negativo | 0                             | 27                           |
| Positivo | 30                            | 5                            |

## 6. DISCUSIÓN

En el presente estudio, fueron analizados los datos de sujetos COVID-19 negativos y COVID-19 positivos. A los dos grupos de estudio se les realizaron comparaciones entre grupos, se realizó una correlación de la abundancia bacteriana (log10).

La comparación de sexo entre los dos grupos demostró tener una diferencia significativa en la cual el sexo masculino tuvo una mayor proporción en el grupo positivo ( $\chi^2$ ,  $p = 0.0013$ ). Este resultado consistente con lo que se reporta en la literatura ya que el sexo masculino se ha asociado con mayor riesgo de desarrollar la enfermedad COVID-19 con sintomatología severa y desenlaces clínicos, lo cual se podría relacionar con las diferencias biológicas que existen entre los dos sexos como la expresión de los receptores ECA2, respuesta inmune, comorbilidades, etc (Tramunt et al., 2021). Se ha podido documentar que los hombres tienen respuestas inmunitarias innatas más agresivas (proinflamatorias) y respuesta adaptativas menos vigorosas que las mujeres durante la infección por el virus SARS-CoV-2, por ende, la progresión de la enfermedad será mucho más grave en hombres, lo que concuerda con los resultados en este estudio (Takahashi et al., 2020). Una investigación que se realizó basado en registros hospitalarios descubrió que los pacientes que presentaron mayor episodios de complicaciones cardiovasculares y mortalidad fue el sexo masculino en comparación del sexo femenino, llegando a la conclusión que posiblemente el sexo este actuando como un predictor independiente de la mortalidad intrahospitalaria (Kazelian et al., 2025).

Los resultados de la comparación entre grupos mediante Mann-Whitney nos derivó a que la variable del IMC tuviera un estadístico significativo ( $p < 0.0001$ ). La obesidad y un IMC elevado se ha identificado consistentemente como un riesgo para la enfermedad COVID-19 de hospitalización o gravedad de la enfermedad. Los pacientes con sobrepeso y obesidad al parecer presentan una hiperreactividad del sistema inmunológico, esta reacción podría ser resultado de la inflamación crónica de bajo grado y los niveles altos de leptina en los sujetos con obesidad y un IMC elevado, esto predispone a que haya una desregularización inmunológica(Onyango et al., 2023).

Además los adipocitos cuentan con receptores ECA2 aumentando el riesgo para contraer el virus, a su vez el virus tendrá más células diana donde infectar lo que podría conducir a mayor



carga viral lo que desencadenaría un estímulo antigénico más fuerte e incluso latente, estimulando esta hiperreactividad (Zakka et al., 2021). De hecho, presentar niveles altos de leptina es muy común en pacientes que presentan obesidad, esto nos está hablando de resistencia a ella lo que puede terminar en perjudicar la maduración y funcionamiento de los linfocitos B y T comprometiendo al sistema inmunológico, por ejemplo hay acumulación de macrófagos en tejido adiposo, hay producción de citocinas proinflamatorias, activación de la inflamación NLRP3 (amplifica la respuesta inmune) y de esta manera facilita la entrada de agentes externos como el SARS-CoV-2 (Drucker, 2021; Michalakis y Ilias, 2020).

Recordemos que la COVID-19 es una enfermedad sistémica y la obesidad es un factor que apoya esto, hay limitaciones fisiológicas donde se reduce la fuerza muscular respiratoria, asimismo la obesidad abdominal restringe al diafragma empeorando la oxigenación, es posible desarrollar deficiencia de vitamina D, siendo esta inmunomoduladora, aumentando el riesgo de infecciones respiratorias (Z. Li et al., 2021).

Relación a la presencia de comorbilidades, nuestros resultados obtenidos entre los pacientes positivos y negativos fue con una diferencia significativa ( $p = 0.0057$ ). Estos resultados coinciden que las comorbilidades se reconocen como un predictor de la enfermedad COVID-19 severa. Estudios a nivel mundial han explicado que condiciones como la diabetes e hipertensión con mayor riesgo (Li et al., 2023). Durante la pandemia a nivel mundial se pudieron reportar que un alto porcentaje de pacientes hospitalizados por la enfermedad COVID-19 presentan al menos una comorbilidad, siendo diabetes, obesidad e hipertensión la más frecuentes, sino que también agrava el curso clínico de la infección, reflejando la importancia de tener un plan de acción enfocado en el manejo y prevención de estos grupos de alto riesgo (COVID-19 Tablero México, 2023; World Health Organization, 2025; Zhou et al., 2020).

Los resultados de las comorbilidades específicas destacaron dos enfermedades estadísticamente significativas las cuales fueron diabetes mellitus ( $p = 0.0003$ ) y obesidad ( $p = 0.0159$ ) en el grupo COVID-19 positivo. Las personas con diabetes suelen presentar disfunciones inmunológicas, inflamación crónica y alteraciones metabólicas que se han asociado a respuestas más graves frente a infecciones respiratorias virales incluyendo el SARS-CoV-2 (Klaudel et al., 2025). Un meta-análisis pudieron identificar que la presencia de diabetes tipo 2 aumenta significativamente la probabilidad de requerir ventilación mecánica e incluso el fallecer tras la infección por el virus en comparación con pacientes sin diabetes (Fatoke et al., 2025). Se ha descubierto que el virus puede infectar e incluso inducir lesiones a las células  $\beta$  pancreáticas, ya que estas expresan niveles altos de los receptores ECA2, agravando los niveles de glucemia en pacientes durante la infección, lo que conlleva también a la activación de mecanismos proinflamatorios y la disfunción endotelial (Al-Kuraishy et al., 2021). Asimismo, existe evidencia que la diabetes mellitus tipo 2 promueve un estado de hipercoagulabilidad y disfunción endotelial que este se magnifica durante la infección por el virus SARS-CoV-2, asociándose a eventos de tromboembólicos aumentando las complicaciones vasculares y mortalidad (Valencia et al., 2024).

Por otra parte, la variable sin comorbilidades presentó un resultado estadísticamente significativo en el grupo negativos para SARS-CoV-2 ( $p=0.0089$ ), lo que refuerza a que la ausencia de enfermedades crónicas contribuye a la disminución de riesgo de infectarse o desarrollar síntomas graves de la enfermedad COVID-19 (Wang et al., 2020). Cabe destacar que también la evidencia menciona que la ausencia de comorbilidades se asocia con mejores indicadores de supervivencia tras la infección del virus. Un estudio realizado en el Instituto Salvadoreño del Seguro Social, reveló que la supervivencia intrahospitalaria era mayor en pacientes sin comorbilidades, reforzando que el estado de salud basal influye directamente en la capacidad de afrontar la infección (Franco Escobar et al., 2021). Cabe destacar que aunque haya ausencia de comorbilidades, no deja de existir la posibilidad de que la enfermedad se presente en su forma severa, ya que tenemos otros factores de riesgo como edad avanzada, disfunción respiratoria o si presentan biomarcadores asociados a respuestas inflamatorias o daño tisular (Liu et al., 2022).

Posteriormente, el análisis de vacunación contra influenza demostró tener una asociación estadísticamente significativa ( $p = 0.0038$ ), resultado que se puede comparar con el del investigador Su y compañía (2022), en donde realizaron un análisis sistemático y un meta análisis sobre la asociación entre una vacunación previa de influenza y la severidad de la enfermedad COVID-19, concluyendo que hay una menor probabilidad de infección por el virus, probablemente sea gracias a los efectos de una “inmunidad entrenada” (Su et al., 2022). Un estudio poblacional realizado en Italia, corrobora que la presencia de mayores tasas de vacunación contra la influenza en adultos mayores, se asoció con una menor tasa de hospitalización y mortalidad por la enfermedad (Amato et al., 2020). Asimismo un estudio de cohorte basado en grandes bases de datos electrónicos de salud en Estados Unidos, respecto a los pacientes COVID-19 positivos, pero vacunados contra influenza, demostró una menor tasa de sepsis, accidentes cerebrovasculares y trombosis, reforzando la hipótesis de la “inmunidad entrenada” pudiendo inducir a respuestas optimas frente a diversos patógenos distintitos al virus objetivo (Taghioff et al., 2021).

Los resultados obtenidos en esta investigación se alinean con la evidencia científica publicada reconociendo la relevancia que tiene el sexo, IMC, la presencia y número de comorbilidades, del mismo modo la vacunación como un factor modulador de la severidad de la infección por el SARS-CoV-2 es relevante. Reforzando que la necesidad de evaluar estos factores como un riesgo clínico en presencia del virus y así manejar una estrategia óptima para el paciente.

La comparación entre individuos SARS-CoV-2 negativos y positivos evidenció que la abundancia absoluta de la carga bacteriana total (gen 16S rRNA) y de las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* no presentó diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados son consistentes con otros estudios donde mencionan que una carga bacteriana total no es necesariamente alterado en pacientes COVID-19, sino que estos cambios se observan a nivel composicional y no cuantitativo

Este hallazgo es consistente con estudios que han señalado que la carga bacteriana total no necesariamente se altera de manera global en COVID-19, sino que los cambios tienden a observarse a nivel composicional en la diversidad, taxones específicos y no por su composición absoluta (Armstrong et al., 2023; Atencio et al., 2024). Este patrón puede sugerir que tal vez una disbiosis en pacientes con COVID-19 no sucede necesariamente mediante una contracción o expansión de manera uniforme de las familias enteras, sino por medio de un recambio de especies o variantes dentro de un mismo género, porque bien si *Prevotella* y *Streptococcus* son géneros consistentes en muestras de casos positivos y negativos, hay variantes significativamente enriquecidas en pacientes hospitalizados, demostrando que es más una heterogeneidad y no un cambio total en la conformación de las familias (Atencio et al., 2024; Chen et al., 2022; Galeana-Cadena et al., 2024).

Por lo contrario, los resultados de la abundancia relativa de las dos familias de interés *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae*, demostraron tener diferencias altamente significativas ( $p < 0.0001$ ) entre los pacientes negativos y positivos, siendo el grupo positivo con mayor presencia de las dos familias. Estos resultados sugieren que hay una redistribución de estas familias dentro de la microbiota bacteriana respiratoria, donde diversos estudios han reportado que la infección por SARS-CoV-2 se asocia a un enriquecimiento de estas familias bacterianas.

Diversos estudios de secuenciación de nueva generación del gen 16S rRNA han reportan que la infección por el virus SARS-CoV-2 se asocia a un enriquecimiento de diversos géneros pertenecientes a las familias de esta investigación en muestras de hisopado faríngeo, identificando que *Streptococcus*, *Prevotella* y *Campylobacter* fueron los 3 generos más abundantes en pacientes COVID-19 postivos en comparación con los negativos, de 51

especies estas bacterias estaban aumentadas más de ocho veces, demostrando específicamente que los géneros *S. Suis* y *S. agglactiae* pueden estimular la expresión de los receptores ECA2 facilitando la entrada para la replicación del virus (Xiong et al., 2021).

A su vez Atencio y compañía (2024), analizaron la composición bacteriana de muestras oronasofaríngeas en 50 casos sospechosos en Panamá, destacando los géneros *Corynebacteirum*, *Staphylococcus*, *Prevotella*, *Streptococcus* y *Tepidiphilus* fueron los más abundantes tanto en las muestras positivas y en negativas, sin embargo, revelaron que los géneros *Veillonella* y *Prevotella* presentaban un aumento significativo en los pacientes positivos y hospitalizados en comparación con los negativos .

En un estudio metatranscriptómico se identificó a *Streptococcus spp.*, incluyendo a *S. pneumoniae* y *S. thermophilus*, entre las 15 especies más abundantes de hisopado nasofaríngeo de pacientes COVID-19, donde estas especies no se encontraban en los taxones dominantes de los sujetos sanos, esta elevada presencia podría generar un ambiente favorable para el virus y su proceso de infección, ratificándose como un componente central para la disbiosis bacteriana (Aljabr et al., 2024).

En paralelo, *Prevotella* conforma uno de los géneros más consistentes en la zona oronasofaríngea en sujetos positivos a SARS-CoV-2, Ventero y compañía (2022) demostraron mediante una secuenciación masiva de muestras de hisopado nasofaríngeo, que las unidades taxonómicas operativas clasificadas como *Prevotella* fueron más abundantes en pacientes con sintomatología grave en comparación con los pacientes con COVID-19 leve o moderado, confirmando que esta familia bacteriana no es solamente un taxón enriquecido, sino podría ser un predictor para la progresión de la enfermedad.

Estos resultados en conjunto con las evidencias demuestran que las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae*, no solo mantienen una abundancia relativa alta en las muestras oronasofaríngeas, sino que ciertas especies están asociadas con la severidad clínica de la enfermedad.

En relación con la correlación entre la abundancia relativa bacteriana ( $\log_{10}$ ) y la carga viral (Ct) de SARS-CoV-2, se presenta una ausencia de significancia estadística, lo que coincide con que la carga viral no siempre tiene que tener una correlación con la composición bacteriana, donde las investigaciones han demostrado que la presencia viral y la composición de la microbiota bacteriana pueden tener cambios de manera parcialmente independiente, siendo influenciados por factores inmunológicos y por variantes que presenta cada paciente (Miller et al., 2021).

Por ejemplo Talaga-Ćwiertnia y compañía (2023), demostraron mediante estratificación por los umbrales (Ct) en pacientes con una carga máxima de  $Ct \leq 31$ , baja carga viral  $31 < 38$  y no carga viral con un Ct de  $\geq 38$ , descubriendo que los pacientes con una máxima carga presentaban significativamente menor especies de *Prevotella* en comparación con lo de baja replicación y no replicación, donde ellos remarcan que no se debería utilizar una correlación lineal simple, sino que es un patrón complejo entre el virus y la bacteria.

Por otro lado en una investigación de revisión hecha por Quiñones-Laveriano et al., (2021), obtuvieron hallazgos respecto a la prevalencia de coinfecciones en pacientes COVID-19 positivos debido a la especie bacteriana *Streptococcus pneumoniae*, asociando esta bacteria con un mayor riesgo de ingresar a la unidad de cuidados intensivos e incluso incrementar la mortalidad, esta coinfección bacteriana puede exacerbar la respuesta inflamatoria y de esta manera complicar la estancia del paciente.

Por el contrario, Bourumeau et al., (2023) aun que detectaron un alto porcentaje de *Streptococcus* en ambos grupos (con y sin COVID-19) no se encontraron diferencias significativas en su abundancia y tampoco se observaron variaciones por el uso de asistencia respiratoria o por antibióticos.

La correlación entre la abundancia relativa de las familias *Prevotellaceae*/*Streptococcaceae* y la carga viral de SARS-CoV-2, la asociación es más compleja por lo que no se puede desestimar un vínculo biológico.

Los resultados de la asociación mediante  $\chi^2$  nos muestra que tanto Prevotellaceae ( $\chi^2 = 38.77$ ;  $p < 0.0001$ ) como Streptococcaceae ( $\chi^2 = 41.47$ ;  $p < 0.0001$ ) están asociadas a un estado de infección por SARS-CoV-2. Estos resultados nos indican que los pacientes con COVID-19 presentan una mayor posibilidad de portar estas familias bacterianas en el tracto respiratorio superior en comparación con individuos no infectados.

El aumento de *Streptococcus* en la microbiota nasofaríngea de pacientes positivos a COVID-19 podría sugerirnos un papel que no solo es una simple disbiosis. La evidencia in vitro ha concluido que las cepas específicas como *S. suis* y *S. agalactiae* tienen la capacidad de estimular la sobreexpresión del receptor ECA2 en las células del huésped, esto es gracias a la interacción entre virus y bacterias, debido a que al incrementar la disponibilidad de receptores estas bacterias actúan como facilitadoras biológicas que van a promover la entrada y la replicación del SARS-CoV-2. Por lo que la presencia de *Streptococcus* no solo se considera una consecuencia por la infección, si no un factor sinérgico la cual incrementa la permeabilidad del tejido epitelial al virus y potencia el riesgo de coinfección bacteriana secundaria (Xiong et al., 2021).

Un estudio realizado por Gupta y compañía (2022), realizaron una secuenciación de amplicones en sujetos con COVID-19, revelando que hubo un aumento relevante y significativo del género *Streptococcus* el cual es uno de los principales patógenos oportunistas que colonizan la cavidad oral tras la infección, la proliferación de estas bacterias además de alterar la composición bacteriana, contribuye al deterioro de las vías metabólicas del huésped, a su vez, la prevalencia de esta bacteria en pacientes con carga viral elevada sugiere que existe una relación beneficiosa para el desarrollo de este género, comprometiendo la respuesta inmunológica.

Una investigación en pacientes hospitalizados se pudo identificar un aumento en la abundancia de diversas especies del género *Streptococcus*, asociando este aumento a la carga viral, donde los niveles elevados del virus favorecen un incremento específico de *Streptococcus*. Ocasionando cambios en la respuesta al entorno inflamatorio nos indican que podrían influir en los resultados clínicos al facilitar interacciones biológicas que potencian la morbilidad respiratoria (Miller et al., 2021).

Andrade y compañía (2022), describen que el género *Streptococcus* son de las principales bacterias asociadas a la sintomatología grave de la enfermedad COVID-19, ya que hay un aumento de estas bacterias en las vías respiratorias superiores, donde hay una disminución en la diversidad bacteriana, desplazando bacterias asociadas a protección como *Corynebacterium* resaltando que no nada más es un cambio en la composición de la microbiota bacteriana, sino una alteración en la respuesta inmunitaria, ya que también ocurren cambios en los mecanismos locales para evitar una inflamación exacerbada en el tejido, sin embargo, habiendo estos cambios la respuesta inflamatoria puede aumentar (Andrade et al., 2022).

Un estudio realizado en modelos *in vitro* pudieron demostrar que cepas específicas de *Streptococcus* pueden estimular la sobreexpresión de la ECA2 en las células del huésped, este mecanismo consiste en un trabajo en conjunto ya que una carga viral promueve el desarrollo de *Streptococcus*, el cual, al mismo tiempo, incrementa el número de receptores ECA2, optimizando la entrada y replicación del virus (Shen et al., 2022).

En el caso de la familia *Prevotellaceae*, se ha identificado que es consistente su presencia e incluso son de los taxones más abundantes en la microbiota de sujetos infectados por SARS-CoV-2, otorgándole un rol como un patógeno oportunista en el desarrollo de la enfermedad, ya que su presencia se asocia con estados de inflamación sistémica exacerbada, a pesar de que, la correlación entre la abundancia y la carga viral puede variar por estudios, su importancia yace en la capacidad de modular la respuesta inmune, pudiendo estar vinculado tanto en la gravedad de la enfermedad como el desarrollo de secuelas multisistémicas (Xiong et al., 2021).

La relevancia que toma esta familia bacteriana *Prevotellaceae* en la enfermedad de COVID-19 emerge ya que se podría proponer como un biomarcador asociado a disbiosis vinculado a factores de riesgo como el envejecimiento y comorbilidades, donde la infección por SARS-CoV-2 reduce la presencia de bacterias inmunomoduladores y permiten que bacterias como *Prevotella* se expandan e incrementen la susceptibilidad a la sintomatología más grave de la enfermedad (Gupta et al., 2022).



Una investigación de bioinformática enfocada en la interacción proteína-proteína realizada por Khan y Khan, (2020) pudieron predecir que las proteínas sobre expresadas de *Prevotella* (EF-Tu, GroEL, OmpA, etc.) pueden interactuar con la vía NF-  $\kappa$ B y potenciar la respuesta inflamatoria que caracteriza a los casos graves de COVID-19, también se ha podido detectar la abundancia de *Prevotella* en infantes infectados por COVID-19 cuya abundancia aumento junto con la existencia del virus, sugiriendo que el virus crea un ambiente adecuado para la proliferación de esta bacteria (Rocafort et al., 2022).

Como se ha descrito con anterioridad, los miembros de la familia *Prevotellaceae* se encuentran muy representadas en muestras orales, se ha descrito un aumento relativo de *Prevotella* spp, alterando de esta manera la microbiota respiratoria, debido a que poseen una capacidad de modular la respuesta inmune mediante la inducción de citocinas proinflamatorias, como IL-6 e IL-8, lo que cambia el ambiente del epitelio durante la infección viral, teniendo una relación estrecha con la evolución de la enfermedad (Miller et al., 2021).

La especie *Prevotella intermedia* puede llegar a agravar neumonías o facilitar la proliferación del virus SARS-CoV-2, ya que aumenta la expresión del receptor del factor activador de plaquetas (PAFR) en el pulmón. Esta acción promueve la invasión de bacterias a las células epiteliales respiratorias, pero esa acción es debido a la aspiración de bacterias periodontales y de esta manera puede inducir inflamación en el tejido pulmonar (Takahashi et al., 2021).

Evidencias recientes han identificado que especies en específico como *Prevotella dentalis* en la zona oronasofaríngea y *prevotella timonensis* en las heces, puede tener una utilidad como biomarcadores relacionados con la severidad de la enfermedad, lo interesante es que estas especies pertenecen a un nicho biológico distinto, sin embargo, la interconexión que tienen estas bacterias refuerza la existencia de un eje oronasofaríngeo-intestino el cual pueden estar vinculados con una pérdida de la diversidad bacteriana resultado de la fisiopatología de la enfermedad COVID-19 y no de la carga viral (Martin-Castaño et al., 2025).

Un estudio sistemático detectó que la abundancia del género *Prevotella* tiende a aumentar ante las infecciones de agentes virales, que podría ser VIH, VPH, virus respiratorios como el SARS-CoV-2, agravando así el cuadro clínico del paciente positivo a COVID-19, sin embargo, no depende nada más de la presencia de la bacteria, sino que también depende de los factores que presenta el paciente como edad, cáncer, consumo de antibióticos, etc. (Tamanai-Shacoori et al., 2022).

En general, los resultados de nuestra investigación demuestran que las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* de muestra oronasofaríngeas se asocian significativamente al virus SARS-CoV-2, confirmando lo reportado en los estudios ya publicados a nivel global. Consolida que ambas familias son recurrentes en la presencia de la enfermedad COVID-19.

## 7. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio respecto a la infección por SARS-CoV-2 demostró una asociación a cambios significativos en las variables clínicas como el sexo, presencia de comorbilidades, destacando la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad, a su vez, la vacunación contra la influenza, de esta manera se refuerza su relevancia para la susceptibilidad o estados de la sintomatología clínica de la enfermedad COVID-19.

La composición bacteriana de las muestras oronasofaríngeas de las familias *Prevotellaceae* y *Streptococcaceae* cuya abundancia relativa demostró tener una estadística significativa entre los grupos positivos y negativos, por otro lado, aunque la abundancia absoluta no presentó diferencias significativas, se puede interpretar que la infección se relaciona principalmente con una fracción de la microbiota más que con una alteración global.

Este conjunto de resultados respalda que la interacción de las familias bacterianas de *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae* forman parte de un sistema complejo con la infección por SARS-CoV-2. Se invita que para futuras investigaciones se pueda realizar un estudio longitudinal y con técnicas de metagenómica ya que estas nos permitirán representar de manera más amplia una composición completa de la microbiota bacteriana y así se podría esclarecer si las alteraciones bacterianas son por efectos secundarios de la enfermedad o si es una modulación del sistema inmune.

## REFERENCIAS

- Alemao, C. A., Budden, K. F., Gomez, H. M., Rehman, S. F., Marshall, J. E., Shukla, S. D., Donovan, C., Forster, S. C., Yang, I. A., Keely, S., Mann, E. R., El Omar, E. M., Belz, G. T., y Hansbro, P. M. (2021). Impact of diet and the bacterial microbiome on the mucous barrier and immune disorders. *Allergy*, 76(3), 714-734. <https://doi.org/10.1111/all.14548>
- Aljabr, W., Dandachi, I., Abbas, B., Karkashan, A., Al-Amari, A., y AlShahrani, D. (2024). Metagenomic next-generation sequencing of nasopharyngeal microbiota in COVID-19 patients with different disease severities. *Microbiology Spectrum*, 12(5), 1-15. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04166-23>
- Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Alblihed, M., Guerreiro, S. G., Cruz-Martins, N., y Batiha, G. E.-S. (2021). COVID-19 in Relation to Hyperglycemia and Diabetes Mellitus. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8, 644095. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.644095>
- Álvarez-Calatayud, G., Guarner, F., Requena, T., y Marcos, A. (2018). Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 35(6). <https://doi.org/10.20960/nh.2280>
- Amato, M., Werba, J. P., Frigerio, B., Coggi, D., Sansaro, D., Ravani, A., Ferrante, P., Veglia, F., Tremoli, E., y Baldassarre, D. (2020). Relationship between Influenza Vaccination Coverage Rate and COVID-19 Outbreak: An Italian Ecological Study. *Vaccines*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/vaccines8030535>
- Andrade, B. G. N., Cuadrat, R. R. C., Tonetti, F. R., Kitazawa, H., y Villena, J. (2022). The role of respiratory microbiota in the protection against viral diseases: Respiratory commensal bacteria as next-generation probiotics for COVID-19. *Bioscience of*

*Microbiota, Food and Health*, 41(3), 94-102. <https://doi.org/10.12938/bmfh.2022-009>

Anton-Vazquez, V., y Clivillé, R. (2021). Streptococcus pneumoniae coinfection in hospitalised patients with COVID-19. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40(6), 1353-1355. <https://doi.org/10.1007/s10096-021-04166-w>

Aparicio de Santos, M. del C. (2024). *Alteraciones en la Microbiota Intestinal y Trastorno Depresivo Mayor: Implicaciones Fisiopatológicas* [Revisión Sistemática]. Univiersidad de Valladolid.

Armstrong, A. J. S., Horton, D. B., Andrews, T., Greenberg, P., Roy, J., Gennaro, M. L., Carson, J. L., Panettieri, R. A., Barrett, E. S., y Blaser, M. J. (2023). Saliva microbiome in relation to SARS-CoV-2 infection in a prospective cohort of healthy US adults. *EBioMedicine*, 94, 104731. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104731>

Atencio, L. A., Quintero, I. J., Almanza, A., Eskildsen, G., Sánchez-Gallego, J., Herrera, M., Fernández-Marín, H., Loaiza, J. R., y Mejía, L. C. (2024). Insights into the Naso-Oropharyngeal Bacterial Composition in Suspected SARS-CoV-2 Cases. *Pathogens*, 13(8), 615. <https://doi.org/10.3390/pathogens13080615>

Avire, N. J., Whiley, H., y Ross, K. (2021). A Review of Streptococcus pyogenes: Public Health Risk Factors, Prevention and Control. *Pathogens*, 10(2), 17. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020248>

Badal, V. D., Vaccariello, E. D., Murray, E. R., Yu, K. E., Knight, R., Jeste, D. V., y Nguyen, T. T. (2020). The Gut Microbiome, Aging, and Longevity: A Systematic Review. *Nutrients*, 12(12), 1-25. <https://doi.org/10.3390/nu12123759>

- Bose, T., Wasimuddin, Acharya, V., Pinna, N. K., Kaur, H., Ranjan, M., SaiKrishna, J., Nagabandi, T., Varma, B., Tallapaka, K. B., Sowpati, D. T., Haque, M. M., Dutta, A., Siva, A. B., y Mande, S. S. (2023). A cross-sectional study on the nasopharyngeal microbiota of individuals with SARS-CoV-2 infection across three COVID-19 waves in India. *Frontiers in Microbiology*, 14, 06-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1238829>
- Bourumeau, W., Tremblay, K., Jourdan, G., Girard, C., y Laprise, C. (2023). Bacterial Biomarkers of the Oropharyngeal and Oral Cavity during SARS-CoV-2 Infection. *Microorganisms*, 11(11), 1-17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112703>
- Bowen, W. H., y Koo, H. (2011). Biology of Streptococcus mutans-Derived Glucosyltransferases: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms. *Caries Research*, 45(1), 69-86. <https://doi.org/10.1159/000324598>
- Bradley, E. S., Zeamer, A. L., Bucci, V., Cincotta, L., Salive, M.-C., Dutta, P., Mutaawe, S., Anya, O., Tocci, C., Moormann, A., Ward, D. V., McCormick, B. A., y Haran, J. P. (2022). Oropharyngeal microbiome profiled at admission is predictive of the need for respiratory support among COVID-19 patients. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.1009440>
- Braun, T., Halevi, S., Hadar, R., Efroni, G., Glick Saar, E., Keller, N., Amir, A., Amit, S., y Haberman, Y. (2021). SARS-CoV-2 does not have a strong effect on the nasopharyngeal microbial composition. *Scientific Reports*, 11, 8922. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88536-6>
- Buttenschön, J., Vogt, S., y Mattner, J. (2022). Compartmentalized immune responses and the local microbiota determine mucosal and systemic immunity against SARS-CoV-

2. *Cellular & Molecular Immunology*, 19(2), 130-132.

<https://doi.org/10.1038/s41423-021-00822-5>

Caballero-Flores, G., Pickard, J. M., y Núñez, G. (2023). Microbiota-mediated colonization resistance: Mechanisms and regulation. *Nature reviews. Microbiology*, 21(6), 347-360. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00833-7>

Callahan, N., Hattar, M., Barbour, T., Adami, G. R., y Kwar, N. (2022). Oral microbial taxa associated with risk for SARS-CoV-2 infection. *Frontiers in Oral Health*, 3, 886341. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.886341>

Chairatana, P., y Nolan, E. M. (2017). Defensins, Lectins, Mucins and Secretory Immunoglobulin A: Microbe-Binding Biomolecules that Contribute to Mucosal Immunity in the Human Gut. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 52(1), 45-56. <https://doi.org/10.1080/10409238.2016.1243654>

Chen, J., Liu, X., Liu, W., Yang, C., Jia, R., Ke, Y., Guo, J., Jia, L., Wang, C., y Chen, Y. (2022). Comparison of the respiratory tract microbiome in hospitalized COVID-19 patients with different disease severity. *Journal of Medical Virology*, 94(11), 5284-5293. <https://doi.org/10.1002/jmv.28002>

Chen, Y., Guo, Y., Pan, Y., y Zhao, Z. J. (2020). Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(1), 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.02.071>

Coelho, G. D. P., Ayres, L. F. A., Barreto, D. S., Henriques, B. D., Prado, M. R. M. C., y Passos, C. M. D. (2021). La microbiota adquirida de acuerdo con la vía de nacimiento: Una revisión integradora. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 29, 1-11. <https://doi.org/10.1590/1518.8345.4466.3446>

- Cook, K. L., y Chappell, M. C. (2021). Gut dysbiosis and hypertension: Is it cause or effect? *Journal of Hypertension*, 39(9), 1768-1770. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000002908>
- Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., De Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, B. W., Penzar, D., Perlman, S., Poon, L. L. M., Samborskiy, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., y Ziebuhr, J. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: Classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, 5(4), 536-544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
- COVID-19 Tablero México. (2023). COVID - 19 Tablero México. <https://datos.covid-19.conacyt.mx/index.php>
- Cui, G., Sun, Y., Zou, Y., Sun, R., Gao, Y., Liu, X., Zhou, Y., Zhang, D., Wang, X., Li, Y., Liu, L., Zhang, G., Rao, B., Yu, Z., y Ren, Z. (2024). Dynamic changes of Bacterial Microbiomes in Oropharynx during Infection and Recovery of COVID-19 Omicron Variant. *PLoS Pathogens*, 20(4), 1-26. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012075>
- De Maio, F., Posteraro, B., Ponziani, F. R., Cattani, P., Gasbarrini, A., y Sanguinetti, M. (2020). Nasopharyngeal Microbiota Profiling of SARS-CoV-2 Infected Patients. *Biological Procedures Online*, 22, 18. <https://doi.org/10.1186/s12575-020-00131-7>
- Di Simone, N., Santamaria Ortiz, A., Specchia, M., Tersigni, C., Villa, P., Gasbarrini, A., Scambia, G., y D'Ippolito, S. (2020). Recent Insights on the Maternal Microbiota: Impact on Pregnancy Outcomes. *Frontiers in Immunology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.528202>



- Dogan, S., Koc, T. Y., y Karadayi, M. (2023). Effect of Bacteriocins on the Intestinal Microbiota. *The Eurasian Journal of Medicine*, 55(1), 165-169. <https://doi.org/10.5152/eurasianjmed.2023.23393>
- Domenech, M., García, E., y Moscoso, M. (2012). Biofilm formation in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbial biotechnology*, 5(4), 455-465. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00294.x>
- Dominguez-Bello, M. G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R., y Blaser, M. J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut*, 68(6), 1108-1114. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2018-317503>
- Drucker, D. J. (2021). Diabetes, obesity, metabolism, and SARS-CoV-2 infection: The end of the beginning. *Cell Metabolism*, 33(3), 479-498. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.01.016>
- Dubourg, G., Edouard, S., y Raoult, D. (2019). Relationship between nasopharyngeal microbiota and patient's susceptibility to viral infection. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 17(6), 437-447. <https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1621168>
- Egea, G. L. de, González-Díaz, A., Olsen, R. J., Guédon, G., Berbel, D., Grau, I., Càmarà, J., Saiz-Escobedo, L., Calvo-Silveria, S., Cadenas-Jiménez, I., Marimón, J. M., Cercenado, E., Casabella, A., Martí, S., Domínguez, M. Á., Leblond-Bourget, N., Musser, J. M., y Ardanuy, C. (2025). Emergence of invasive *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in Spain (2012-2022): Genomic insights and clinical correlations. *International Journal of Infectious Diseases*, 153. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2025.107778>

- Fang, Y., Chen, X., Chu, C. H., Yu, O. Y., He, J., y Li, M. (2024). Roles of *Streptococcus mutans* in human health: Beyond dental caries. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1-8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1503657>
- Fatoke, B., Hui, A. L., Saqib, M., Vashisth, M., Aremu, S. O., Aremu, D. O., y Aremu, D. B. (2025). Type 2 diabetes mellitus as a predictor of severe outcomes in COVID-19—A systematic review and meta-analyses. *BMC Infectious Diseases*, 25, 719. <https://doi.org/10.1186/s12879-025-11089-w>
- Franco Escobar, V. D., Morales Chorro, L., Baltrons Orellana, R., Rodríguez, C. R., Urbina, O., y López De Blanco, C. (2021). Mortalidad por COVID-19 asociada a comorbilidades en pacientes del Instituto Salvadoreño del Seguro Social. *Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud*, 4(2), 28-37. <https://doi.org/10.5377/alerta.v4i2.10366>
- Fusco, W., Lorenzo, M. B., Cintoni, M., Porcari, S., Rinninella, E., Kaitsas, F., Lener, E., Mele, M. C., Gasbarrini, A., Collado, M. C., Cammarota, G., y Ianaro, G. (2023). Short-Chain Fatty-Acid-Producing Bacteria: Key Components of the Human Gut Microbiota. *Nutrients*, 15(9), 1-22. <https://doi.org/10.3390/nu15092211>
- Galanopoulos, M., Gkeros, F., Doukatas, A., Karianakis, G., Pontas, C., Tsoukalas, N., Viazis, N., Liatsos, C., y Mantzaris, G. J. (2020). COVID-19 pandemic: Pathophysiology and manifestations from the gastrointestinal tract. *World Journal of Gastroenterology*, 26(31), 4579-4588. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i31.4579>
- Galeana-Cadena, D., Ramirez-Martínez, G., Alberto Choreño-Parra, J., Silva-Herzog, E., Margarita Hernández-Cárdenas, C., Soberón, X., y Zúñiga, J. (2024). Microbiome in

- the nasopharynx: Insights into the impact of COVID-19 severity. *Heliyon*, 10(10), e31562. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31562>
- Ganaie, F. A., Beall, B. W., Yu, J., van der Linden, M., McGee, L., Satzke, C., Manna, S., Lo, S. W., Bentley, S. D., Ravenscroft, N., y Nahm, M. H. (2025). Update on the evolving landscape of pneumococcal capsule types: New discoveries and way forward. *Clinical Microbiology Reviews*, 38(1), e00175-24. <https://doi.org/10.1128/cmr.00175-24>
- Gao, Y., Nanan, R., Macia, L., Tan, J., Sominsky, L., Quinn, T. P., O'Hely, M., Ponsonby, A.-L., Tang, M. L. K., Collier, F., Strickland, D. H., Dhar, P., Brix, S., Phipps, S., Sly, P. D., Ranganathan, S., Stokholm, J., Kristiansen, K., Gray, L. E. K., y Vuillermine, P. (2021). The maternal gut microbiome during pregnancy and offspring allergy and asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 148(3), 669-678. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2021.07.011>
- Gao, Z., Kang, Y., Yu, J., y Ren, L. (2014). Human Pharyngeal Microbiome May Play A Protective Role in Respiratory Tract Infections. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 12(3), 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2014.06.001>
- George, S. D., Van Gerwen, O. T., Dong, C., Sousa, L. G. V., Cerca, N., Elnaggar, J. H., Taylor, C. M., y Muzny, C. A. (2024). The Role of Prevotella Species in Female Genital Tract Infections. *Pathogens*, 13(5), 364. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050364>
- Giovannini, N., Limena, A., Ercolino, C., Renteria, S. C. U., Strati, F., Giuffrè, M. R., Maragno, P., Carbone, I. F., Facciotti, F., Ceriotti, F., Ferrazzi, E., y Lattuada, D. (2025). Nasopharyngeal and oral microbiota profiling in SARS-CoV-2 infected

- pregnant women. *Scientific Reports*, 15(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-19344-5>
- Girardelli, S., Mullins, E., y Lees, C. C. (2021). COVID-19 and pregnancy: Lessons from 2020. *Early Human Development, NEONATAL UPDATE 2021 - 'The science of newborn care'*, 162, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2021.105460>
- Giugliano, R., Sellitto, A., Ferravante, C., Rocco, T., D'Agostino, Y., Alexandrova, E., Lamberti, J., Palumbo, D., Galdiero, M., Vaccaro, E., Pagliano, P., Weisz, A., Giurato, G., Franci, G., y Rizzo, F. (2022). NGS analysis of nasopharyngeal microbiota in SARS-CoV-2 positive patients during the first year of the pandemic in the Campania Region of Italy. *Microbial Pathogenesis*, 165, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105506>
- Gupta, A., Bhanushali, S., Sanap, A., Shekatkar, M., Kharat, A., Raut, C., Bhonde, R., Shouche, Y., Kheur, S., y Sharma, A. (2022). Oral dysbiosis and its linkage with SARS-CoV-2 infection. *Microbiological Research*, 261, 127055. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127055>
- Hägg, S., Jylhävä, J., Wang, Y., Xu, H., Metzner, C., Annetorp, M., Garcia-Ptacek, S., Khedri, M., Boström, A.-M., Kadir, A., Johansson, A., Kivipelto, M., Eriksdotter, M., Cederholm, T., y Religa, D. (2020). Age, Frailty, and Comorbidity as Prognostic Factors for Short-Term Outcomes in Patients With Coronavirus Disease 2019 in Geriatric Care. *Journal of the American Medical Directors Association*, 21(11), 155-1559. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2020.08.014>

- Hambo, S., y Harb, H. (2023). Extracellular Vesicles and Their Role in Lung Infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), 16139. <https://doi.org/10.3390/ijms242216139>
- Haran, J. P., Bradley, E., Zeamer, A. L., Cincotta, L., Salive, M.-C., Dutta, P., Mutaawe, S., Anya, O., Meza-Segura, M., Moormann, A. M., Ward, D. V., McCormick, B. A., y Bucci, V. (2021). Inflammation-type dysbiosis of the oral microbiome associates with the duration of COVID-19 symptoms and long COVID. *JCI Insight*, 6(20), 1-14. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.152346>
- Hernández-Ruiz, P., González-Pacheco, H., Amezcua-Guerra, L. M., Aguirre, M. A., Hernández-Ruiz, P., González-Pacheco, H., Amezcua-Guerra, L. M., y Aguirre, M. A. (2022). Relación entre la disbiosis de la microbiota oral y la enfermedad cardiovascular aterosclerótica. *Archivos de Cardiología de México*, 92(3), 7581. <https://doi.org/10.24875/ACM.21000198>
- Hernández-Terán, A., Mejía-Nepomuceno, F., Herrera, M. T., Barreto, O., García, E., Castillejos, M., Boukadida, C., Matias-Florentino, M., Rincón-Rubio, A., Avila-Rios, S., Mújica-Sánchez, M., Serna-Muñoz, R., Becerril-Vargas, E., Guadarrama-Pérez, C., Ahumada-Topete, V. H., Rodríguez-Llamazares, S., Martínez-Orozco, J. A., Salas-Hernández, J., Pérez-Padilla, R., y Vázquez-Pérez, J. A. (2021). Dysbiosis and structural disruption of the respiratory microbiota in COVID-19 patients with severe and fatal outcomes. *Scientific Reports*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00851-0>

- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., y Pöhlmann, S. (2020). A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Molecular Cell*, 78(4), 779-784.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.04.022>
- Horrocks, V., King, O. G., Yip, A. Y. G., Marques, I. M., y McDonald, J. A. K. (2023). Role of the gut microbiota in nutrient competition and protection against intestinal pathogen colonization. *Microbiology*, 169(8), 1-13. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001377>
- Iebba, V., Zanotta, N., Campisciano, G., Zerbato, V., Di Bella, S., Cason, C., Luzzati, R., Confalonieri, M., Palamara, A. T., y Comar, M. (2021). Profiling of Oral Microbiota and Cytokines in COVID-19 Patients. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.671813>
- Josenhans, C., Müthing, J., Elling, L., Bartfeld, S., y Schmidt, H. (2020). How bacterial pathogens of the gastrointestinal tract use the mucosal glyco-code to harness mucus and microbiota: New ways to study an ancient bag of tricks. *International Journal of Medical Microbiology*, 310(2), 151392. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2020.151392>
- Karapati, E., Tsantes, A. G., Iliodromiti, Z., Boutsikou, T., Paliatsiou, S., Domouchtsidou, A., Ioannou, P., Petrakis, V., Iacovidou, N., y Sokou, R. (2024). Group A Streptococcus Infections in Children: Epidemiological Insights Before and After the COVID-19 Pandemic. *Pathogens*, 13(11), 1-19. <https://doi.org/10.3390/pathogens13111007>
- Kazelian, L. R., Toluoso, M., Pereiro Gonzalez, S. M., Secco, L., Tepper, R. B., Garay, A., Maydana, M., Zapata, G., y Gagliardi, J. A. (2025). [Sex differences in hospitalized

- patients for COVID-19. Argentine Registry of Cardiovascular Complications of COVID-19 (RACCOVID-19)]. *Medicina*, 85(1), 1-7.
- Khan, A. A., y Khan, Z. (2020). COVID-2019 associated overexpressed Prevotella proteins mediated host-pathogen interactions and their role in coronavirus outbreak. *Bioinformatics*, btaa285. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa285>
- Khan, U. B., Dyster, V., Chaguza, C., van Sorge, N. M., van de Beek, D., Man, W. K., Bentley, S. D., Bijlsma, M. W., y Jamroz, D. (2024). Genetic markers associated with host status and clonal expansion of Group B Streptococcus in the Netherlands. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1410651>
- Kim, J. G., Zhang, A., Rauseo, A. M., Goss, C. W., Mudd, P. A., O'Halloran, J. A., y Wang, L. (2023). The salivary and nasopharyngeal microbiomes are associated with SARS-CoV-2 infection and disease severity. *Journal of Medical Virology*, 95(2), 1-12. <https://doi.org/10.1002/jmv.28445>
- Klaudel, T., Pelczarski, M., Zaborska, M., Sadowski, J., Ostrowska, S. A., Drzymala, A., y Buldak, R. J. (2025). The impact of diabetes and obesity on the severity and mortality of SARS-CoV-2 infection. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 24(2), 195. <https://doi.org/10.1007/s40200-025-01706-5>
- Kolhe, R., Sahajpal, N. S., Vyavahare, S., Dhanani, A. S., Adusumilli, S., Ananth, S., Mondal, A. K., Patterson, G. T., Kumar, S., Rojiani, A. M., Isales, C. M., y Fulzele, S. (2021). Alteration in Nasopharyngeal Microbiota Profile in Aged Patients with COVID-19. *Diagnostics*, 11(9), 1622. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11091622>
- König, J., Wells, J., Cani, P. D., García-Ródenas, C. L., MacDonald, T., Mercenier, A., Whyte, J., Troost, F., y Brummer, R.-J. (2016). Human Intestinal Barrier Function in

- Health and Disease. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 7(10), e196.  
<https://doi.org/10.1038/ctg.2016.54>
- Könönen, E., Fteita, D., Gursoy, U. K., y Gursoy, M. (2022). Prevotella species as oral residents and infectious agents with potential impact on systemic conditions. *Journal of Oral Microbiology*, 14(1), 2079814.  
<https://doi.org/10.1080/20002297.2022.2079814>
- Könönen, E., y Gursoy, U. K. (2022). Oral Prevotella Species and Their Connection to Events of Clinical Relevance in Gastrointestinal and Respiratory Tracts. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.798763>
- Kundra, P., Geirnaert, A., Pugin, B., Morales Martinez, P., Lacroix, C., y Greppi, A. (2022). Healthy adult gut microbiota sustains its own vitamin B12 requirement in an in vitro batch fermentation model. *Frontiers in Nutrition*, 9, 01-14.  
<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1070155>
- Kwun, M. J., Ion, A. V., Oggioni, M. R., Bentley, S. D., y Croucher, N. J. (2022). Diverse regulatory pathways modulate bet hedging of competence induction in epigenetically-differentiated phase variants of *Streptococcus pneumoniae*. *Nucleic Acids Research*, 51.  
<https://explore.openaire.eu/search/publication?pid=10.1093%2Fnar%2Fgkad760>
- Larsen, J. M. (2017). The immune response to Prevotella bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology*, 151(4), 363-374. <https://doi.org/10.1111/imm.12760>
- Larzul, C., Estellé, J., Borey, M., Blanc, F., Lemonnier, G., Billon, Y., Thiam, M. G., Quinquis, B., Galleron, N., Jarret, D., Lecardonnel, J., Plaza Oñate, F., y Rogel-



- Gaillard, C. (2024). Driving gut microbiota enterotypes through host genetics. *Microbiome*, 12(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s40168-024-01827-8>
- Lee, Y.-C., Liu, C.-Y., Lee, C.-L., Zhang, R.-H., Huang, C.-J., y Yen, T.-L. (2022). The Periodontopathic Pathogen, *Porphyromonas gingivalis*, Involves a Gut Inflammatory Response and Exacerbates Inflammatory Bowel Disease. *Pathogens*, 11(84), 1-11. <https://doi.org/10.3390/pathogens11010084>
- Li, C., Islam, N., Gutierrez, J. P., Gutiérrez-Barreto, S. E., Castañeda Prado, A., Moolenaar, R. L., Lacey, B., y Richter, P. (2023). Associations of diabetes, hypertension and obesity with COVID-19 mortality: A systematic review and meta-analysis. *BMJ Global Health*, 8(12), e012581. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2023-012581>
- Li, H., Meier-Kolthoff, J. P., Hu, C., Wang, Z., Zhu, J., Zheng, W., Tian, Y., y Guo, F. (2022). Panoramic Insights into Microevolution and Macroevolution of a *Prevotella Copri*-Containing Lineage in Primate Guts. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 20(2), 334-349. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.10.006>
- Li, L., Deng, X., Zou, Y., Lv, X., y Guo, Y. (2021). Characterization of the nasopharynx microbiota in patients with nasopharyngeal carcinoma vs. Healthy controls. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(4), 1873-1880. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00594-0>
- Li, Y.-Y., Cai, Q., Li, B.-S., Qiao, S.-W., Jiang, J.-Y., Wang, D., Du, X.-C., y Meng, W.-Y. (2021). The Effect of *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide on the Pyroptosis of Gingival Fibroblasts. *Inflammation*, 44(3), 846-858. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01379-7>

- Li, Z., Surampudi, V., y Heber, D. (2021). The Impact of Obesity on SARS-CoV-2 Pandemic Mortality Risk. *Nutrients*, 13(10), 1-8. <https://doi.org/10.3390/nu13103446>
- Liang, H., Li, C., Wang, Y., Hu, Y., Zhao, X., Luo, N., Zhang, Q., Li, J., y Guo, J. (2026). Total flavonoids of *Drynaria fortunei* ameliorates rheumatoid arthritis by suppressing P. copri-mediated Th17 cell differentiation. *Journal of Ethnopharmacology*, 358, 120970. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.120970>
- Liu, W., Yang, C., Liao, Y.-G., Wan, F., Lin, L., Huang, X., Zhang, B.-H., Yuan, Y., Zhang, P., Zhang, X.-J., She, Z.-G., Wang, L., y Li, H. (2022). Risk factors for COVID-19 progression and mortality in hospitalized patients without pre-existing comorbidities. *Journal of Infection and Public Health*, 15(1), 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.11.012>
- Lloréns-Rico, V., Gregory, A. C., Van Weyenbergh, J., Jansen, S., Van Buyten, T., Qian, J., Braz, M., Menezes, S. M., Van Mol, P., Vanderbeke, L., Dooms, C., Gunst, J., Hermans, G., Meersseman, P., Wauters, E., Neyts, J., Lambrechts, D., Wauters, J., y Raes, J. (2021). Clinical practices underlie COVID-19 patient respiratory microbiome composition and its interactions with the host. *Nature Communications*, 12(1), 6243. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26500-8>
- Ma, S., Zhang, F., Zhou, F., Li, H., Ge, W., Gan, R., Nie, H., Li, B., Wang, Y., Wu, M., Li, D., Wang, D., Wang, Z., You, Y., y Huang, Z. (2021). Metagenomic analysis reveals oropharyngeal microbiota alterations in patients with COVID-19. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00614-3>

- Maeda, Y., Rabenow, M., Xiang, W., Schmid, E., Otterbein, N., Gimaev, I., Amend, L., Riedinger, L., Ehnes, L., Miyagawa, I., Sarfati, I., Lesker, T. R., Danzer, H., Sarter, K., Dürholz, K., Schälter, F., Bao, L., Wirtz, S., Arnold, P., ... Zaiss, M. M. (2026). Mucosal innate immune activation as the trigger to *Prevotella* species-induced arthritis in genetically resistant mice. *Cell Reports*, 45(1), 116755. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.116755>
- Malik, Y. A. (2020). Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malaysian J Pathol*, 42(1), 3-11.
- Manta, B., Sarkisian, A. G., García-Fontana, B., y Pereira-Prado, V. (2022). Fisiopatología de la enfermedad COVID-19. *Odontoestomatología*, 24, 1-19. <https://doi.org/10.22592/ode2022n39e312>
- María, L., y Fuentes-Mascorro, G. (2020). COVID-19 (SARS-CoV-2). *Ra Rió Guendaruyubi*, 3(9), 112-136.
- Marín, J. E. O. (2021). Sintomatología no respiratoria de COVID-19. *Alerta, Revista científica del Instituto Nacional de Salud*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.5377/alerta.v4i2.9923>
- Mårli, M. T., Oppegaard, O., Porcellato, D., Straume, D., y Kjos, M. (2024). Genetic modification of *Streptococcus dysgalactiae* by natural transformation. *mSphere*, 9(7), e00214-24. <https://doi.org/10.1128/msphere.00214-24>
- Marsh and Martin's Oral Microbiology. (2016). En *Marsh and Martin's Oral Microbiology* (6ta ed., pp. 1-9). Elsevier.
- Martin-Castaño, B., Diez-Echave, P., García-García, J., Hidalgo-García, L., Ruiz-Malagon, A. J., Molina-Tijeras, J. A., Rodríguez-Sojo, M. J., Redruello-Romero, A., Martínez-

- Zaldívar, M., Mota, E., Cobo, F., Díaz-Villamarin, X., Alvarez-Estevez, M., García, F., Morales-García, C., Merlos, S., Garcia-Flores, P., Colmenero-Ruiz, M., Hernández-Quero, J., ... Galvez, J. (2025). The relationship between gut and nasopharyngeal microbiome composition can predict the severity of COVID-19. *eLife*, 13, RP95292. <https://doi.org/10.7554/eLife.95292>
- Mason, R. J. (2020). Thoughts on the alveolar phase of COVID-19. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 319(1), L115-L120. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00126.2020>
- Merenstein, C., Bushman, F. D., y Collman, R. G. (2022). Alterations in the respiratory tract microbiome in COVID-19: Current observations and potential significance. *Microbiome*, 10(1), 165. <https://doi.org/10.1186/s40168-022-01342-8>
- Michalakis, K., y Ilias, I. (2020). SARS-CoV-2 infection and obesity: Common inflammatory and metabolic aspects. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, 14(4), 469-471. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.04.033>
- Miller, E. H., Annavajhala, M. K., Chong, A. M., Park, H., Nobel, Y. R., Soroush, A., Blackett, J. W., Krigel, A., Phipps, M. M., Freedberg, D. E., Zucker, J., Sano, E. D., Uhlemann, A.-C., y Abrams, J. A. (2021). Oral Microbiome Alterations and SARS-CoV-2 Saliva Viral Load in Patients with COVID-19. *Microbiology Spectrum*, 9(2), 1-9. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.00055-21>
- Moreno Madrigal, L. G., y Lima, A. (2022). *Manifestaciones extra-pulmonares de COVID-19*. 38, 1025-1040. <https://doi.org/10.24245/mim.v38i5.4745>
- Mostafa, H. H., Fissel, J. A., Fanelli, B., Bergman, Y., Gniazdowski, V., Dadlani, M., Carroll, K. C., Colwell, R. R., y Simner, P. J. (2020). Metagenomic Next-Generation

- Sequencing of Nasopharyngeal Specimens Collected from Confirmed and Suspect COVID-19 Patients. *mBio*, 11(6), 1-13. <https://doi.org/10.1128/mBio.01969-20>
- MSD Manual Professional Edition*. (2025). MSD Manual Professional Edition. <https://www.msdmanuals.com/professional/multimedia/table/lancefield-classification>
- Onyango, T. B., Zhou, F., Bredholt, G., Brokstad, K. A., Lartey, S., Mohn, K. G.-I., Özgümüş, T., Kittang, B. R., Linchausen, D. W., Shafiani, S., Elyanow, R., Blomberg, B., Langeland, N., y Cox, R. J. (2023). SARS-CoV-2 specific immune responses in overweight and obese COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, 14, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1287388>
- Organización Mundial de la Salud. (2023). *Coronavirus OMS | Organización Mundial de la Salud*. <https://www.who.int/es/health-topics/coronavirus>
- Padrón-González, A. A., y Dorta-Contreras, A. J. (2020). Patogenia de las manifestaciones neurológicas asociadas al SARS-CoV-2. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 39(3), 1-16.
- Pastrian-Soto, G. (2020). Presencia y Expresión del Receptor ACE2 (Target de SARS-CoV-2) en Tejidos Humanos y Cavidad Oral. Posibles Rutas de Infección en Órganos Orales. *International journal of odontostomatology*, 14(4), 501-507. <https://doi.org/10.4067/S0718-381X2020000400501>
- Patterson, M. J. (1996). Streptococcus. En S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th ed.). University of Texas Medical Branch at Galveston. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7611/>

- Programa de control de calidad de ácidos nucleicos. Banco Nacional de ADN y Carlos III (Universidad de Salamanca). (2024). *Programa de control de calidad de muestras de DNA y RNA*. 3, 1-8.
- Quiñones-Laveriano, D. M., Soto, A., Quilca-Barrera, L., Quiñones-Laveriano, D. M., Soto, A., y Quilca-Barrera, L. (2021). Frecuencia de coinfección por patógenos respiratorios y su impacto en el pronóstico de pacientes con COVID-19. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 21(3), 610-622. <https://doi.org/10.25176/rfmh.v21i3.3520>
- Rattanaburi, S., Sawaswong, V., Chitcharoen, S., Sivapornnukul, P., Nimsamer, P., Suntronwong, N., Puenpa, J., Poovorawan, Y., y Payungporn, S. (2022). Bacterial microbiota in upper respiratory tract of COVID-19 and influenza patients. *Experimental Biology and Medicine*, 247(5), 409-415. <https://doi.org/10.1177/15353702211057473>
- Razeghi, M., Amini, C., Fazeli, M., y Goudarzi, M. (2023). Characteristics of Streptococcus agalactiae causing urinary tract infections: Emergence of new sequence types ST74 and ST38 in Iran. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 26(12), 1416-1422. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2023.70337.15294>
- Reina, J. (2020). El SARS-CoV-2, una nueva zoonosis pandémica que amenaza al mundo. *Vacunas*, 21(1), 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.vacun.2020.03.001>
- Ren, L., Wang, Yeming, Zhong, J., Li, X., Xiao, Y., Li, Jie, Yang, J., Fan, G., Guo, L., Shen, Z., Kang, L., Shi, L., Li, Q., Li, Jizhou, Di, L., Li, H., Wang, C., Wang, Ying, Wang, X., ... Li, M. (2021). Dynamics of the Upper Respiratory Tract Microbiota and Its Association with Mortality in COVID-19. *American Journal of Respiratory and*

*Critical Care Medicine*, 204(12), 1379-1390. <https://doi.org/10.1164/rccm.202103-0814OC>

Retchless, A. C., Kretz, C. B., Rodriguez-Rivera, L. D., Chen, A., Soeters, H. M., Whaley, M. J., y Wang, X. (2020). Oropharyngeal microbiome of a college population following a meningococcal disease outbreak. *Scientific Reports*, 10(632), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57450-8>

Rocafort, M., Henares, D., Brotons, P., Launes, C., Fernandez de Sevilla, M., Fumado, V., Barrabeig, I., Arias, S., Redin, A., Ponomarenko, J., Mele, M., Millat-Martinez, P., Claverol, J., Balanza, N., Mira, A., Garcia-Garcia, J. J., Bassat, Q., Jordan, I., y Muñoz-Almagro, C. (2022). Impact of COVID-19 Lockdown on the Nasopharyngeal Microbiota of Children and Adults Self-Confined at Home. *Viruses*, 14(7), 1521. <https://doi.org/10.3390/v14071521>

Rocha, L. C., Carvalho, M. O. S., Nascimento, V. M. L., dos Santos, M. S., Barros, T. F., Adorno, E. V., Reis, J. N., da Guarda, C. C., Santiago, R. P., y Gonçalves, M. de S. (2017). Nasopharyngeal and Oropharyngeal Colonization by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* and Prognostic Markers in Children with Sick Cell Disease from the Northeast of Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 8(1-12). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00217>

Rodríguez-Cardona, J. L., Álvarez-Fernández, W. J., Jiménez-Del Valle, J. A., Sánchez-Dorado, M. E., Urrutia-Baca, V. H., Cienfuegos-Sarmiento, A. A., y De La Garza-Ramos, M. A. (2021). Nivel de higiene y prevalencia de *Porphyromona gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum* en pacientes recuperados de SARS-CoV-2. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*, 78(6), 309-313. <https://doi.org/10.35366/102972>

- Şahin, N., y Salbaş, E. (2025). The Gut-Joint Connection: Microbiome's Role in Rheumatic Disease. *Archives of Rheumatology*, 40(4), 413-421. <https://doi.org/10.5152/ArchRheumatol.2025.25192>
- Sánchez Valverde, A. J., Temoche, M., Elena, C., y Castillo, C. (2021). Covid-19: Fisiopatología, historia natural y diagnóstico. *Revista Eugenio Espejo*, 15(2), 98-114. <https://doi.org/10.37135/ee.04.11.13>
- Sanz, J. M., Gómez Lahoz, A. M., y Martín, R. O. (2021). Papel del sistema inmune en la infección por el SARS-CoV-2: Inmunopatología de la COVID-19. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 13(33), 1917-1931. <https://doi.org/10.1016/j.med.2021.05.005>
- Schaltz-Buchholzer, F., Øland, C. B., Berendsen, M., Bjerregaard-Andersen, M., Stjernholm, E. B., Golding, C. N., Monteiro, I., Aaby, P., y Benn, C. S. (2022). Maternal BCG primes for enhanced health benefits in the newborn. *Journal of Infection*, 84(3), 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.12.028>
- Scher, J. U., Sczesnak, A., Longman, R. S., Segata, N., Ubeda, C., Bielski, C., Rostron, T., Cerundolo, V., Pamer, E. G., Abramson, S. B., Huttenhower, C., y Littman, D. R. (2013). Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. *eLife*, 2, e01202. <https://doi.org/10.7554/eLife.01202>
- Scialo, F., Daniele, A., Amato, F., Pastore, L., Matera, M. G., Cazzola, M., Castaldo, G., y Bianco, A. (2020). ACE2: The Major Cell Entry Receptor for SARS-CoV-2. *Lung*, 198(6), 867-877. <https://doi.org/10.1007/s00408-020-00408-4>
- Segui-Perez, C., van Smoorenburg, M. Y., Maranus, A. E., Geijtenbeek, T. B. H., y Strijbis, K. (2025). Impact of bacterial vaginosis on sexually transmitted viral infections: A



- bacterial point of view. *FEMS Microbiology Reviews*, 49, fuaf039.  
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuaf039>
- Sharma, S., y Tripathi, P. (2019). Gut microbiome and type 2 diabetes: Where we are and where to go? *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 63, 101-108.  
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.10.003>
- Shen, Y., Yu, F., Zhang, D., Zou, Q., Xie, M., Chen, X., Yuan, L., Lou, B., Xie, G., Wang, R., Yang, X., Chen, W., Wang, Q., Feng, B., Teng, Y., Dong, Y., Huang, L., Bao, J., Han, D., ... Chen, Y. (2022). Dynamic Alterations in the Respiratory Tract Microbiota of Patients with COVID-19 and its Association with Microbiota in the Gut. *Advanced Science*, 9(27), e2200956. <https://doi.org/10.1002/advs.202200956>
- Sneath, P. H. A., McGOWAN, V., y Skerman, V. B. D. (1980). Approved Lists of Bacterial Names. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(1), 225-420. <https://doi.org/10.1099/00207713-30-1-225>
- Solis, G. P. E., y Aizpuru, A. P. L. (2022). Co-infecciones presentes durante la pandemia por COVID-19: Revisión Sistemática. *Tecnociencia Chihuahua*, 16(2), Article 2. <https://doi.org/10.54167/tch.v16i2.974>
- Su, W., Wang, H., Sun, C., Li, N., Guo, X., Song, Q., Liang, Q., Liang, M., Ding, X., y Sun, Y. (2022). The Association Between Previous Influenza Vaccination and COVID-19 Infection Risk and Severity: A Systematic Review and Meta-analysis. *American Journal of Preventive Medicine*, 63(1), 121-130.  
<https://doi.org/10.1016/j.amepre.2022.02.008>

- Suárez, V. M., Hernández, I. C., y Ramos, E. H. (2020). Respuesta inmune adaptativa en la infección por SARS-CoV-2. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 36, 1-11.
- Taghioff, S. M., Slavin, B. R., Holton, T., y Singh, D. (2021). Examining the potential benefits of the influenza vaccine against SARS-CoV-2: A retrospective cohort analysis of 74,754 patients. *PLOS ONE*, 16(8), e0255541. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255541>
- Takahashi, T., Ellingson, M. K., Wong, P., Israelow, B., Lucas, C., Klein, J., Silva, J., Mao, T., Oh, J. E., Tokuyama, M., Lu, P., Venkataraman, A., Park, A., Liu, F., Meir, A., Sun, J., Wang, E. Y., Casanovas-Massana, A., Wyllie, A. L., ... Iwasaki, A. (2020). Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature*, 588(7837), 315-320. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2700-3>
- Takahashi, Y., Watanabe, N., Kamio, N., Yokoe, S., Suzuki, R., Sato, S., Iinuma, T., y Imai, K. (2021). Expression of the SARS-CoV-2 Receptor ACE2 and Proinflammatory Cytokines Induced by the Periodontopathic Bacterium *Fusobacterium nucleatum* in Human Respiratory Epithelial Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/ijms22031352>
- Talaga-Ćwiertnia, K., Sroka-Oleksiak, A., Zapała, B., Salamon, D., Krawczyk, A., Brzychczy-Włoch, M., y Gosiewski, T. (2023). New insights into diversity of the upper respiratory tract microbiota and its relationship with SARS-CoV-2 viral load in the nasopharyngeal epithelial cells in patients with COVID-19. *Polish Archives of Internal Medicine*, 133(7-8), 16442. <https://doi.org/10.20452/pamw.16442>

- Tamanai-Shacoori, Z., Le Gall-David, S., Moussouni, F., Sweidan, A., Polard, E., Bousarghin, L., y Jolivet-Gougeon, A. (2022). SARS-CoV-2 and *Prevotella* spp.: Friend or foe? A systematic literature review. *Journal of Medical Microbiology*, 71(5), 1-15. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001520>
- Tan, L., Zhong, M.-M., Liu, Q., Chen, Y., Zhao, Y.-Q., Zhao, J., Dusenge, M. A., Feng, Y., Ye, Q., Hu, J., Ou-Yang, Z.-Y., Zhou, Y.-H., Guo, Y., y Feng, Y.-Z. (2023). Potential interaction between the oral microbiota and COVID-19: A meta-analysis and bioinformatics prediction. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1-18. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1193340>
- Tchoupou Saha, O. la fortune, Dubourg, G., Yacouba, A., Bossi, V., Raoult, D., y Lagier, J.-C. (2022). Profile of the Nasopharyngeal Microbiota Affecting the Clinical Course in COVID-19 Patients. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.871627>
- Tett, A., Pasolli, E., Masetti, G., Ercolini, D., y Segata, N. (2021). *Prevotella* diversity, niches and interactions with the human host. *Nature Reviews Microbiology*, 19(9), 585-599. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00559-y>
- Toit, M. D., Huch, M., Cho, G., y Franz, C. M. A. P. (2014). The genus *Streptococcus*. En W. H. Holzapfel y B. J. B. Wood (Eds.), *Lactic Acid Bacteria* (1.<sup>a</sup> ed., pp. 457-505). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118655252.ch28>
- Tortora, G. J., y Derrickson, B. (2013a). Capítulo 1. Introducción al cuerpo humano. En *Principios de Anatomía y Fisiología* (13a ed., pp. 1-28). Médica Panamericana.
- Tortora, G. J., y Derrickson, B. (2013b). Capítulo 23. El Aparato Respiratorio. En *Principios de Anatomía y Fisiología* (13a ed., pp. 922-923). Médica Panamericana.

- Tramunt, B., Smati, S., Coudol, S., Wargny, M., Pichelin, M., Guyomarch, B., Al-Salameh, A., Amadou, C., Barraud, S., Bigot, E., Bordier, L., Borot, S., Bourgeon, M., Bourron, O., Charrière, S., Chevalier, N., Cosson, E., Fève, B., Flaus-Furmaniuk, A., ... Gourdy, P. (2021). Sex disparities in COVID-19 outcomes of inpatients with diabetes: Insights from the CORONADO study. *European Journal of Endocrinology*, 185(2), 299-311. <https://doi.org/10.1530/EJE-21-0068>
- Tranberg, A., Samuelsson, C., y Klarin, B. (2021). Disturbance in the oropharyngeal microbiota in relation to antibiotic and proton pump inhibitor medication and length of hospital stay. *APMIS*, 129(1), 14-22. <https://doi.org/10.1111/apm.13087>
- Trautmann, A., Schleicher, L., Deusch, S., Gätgens, J., Steuber, J., y Seifert, J. (2020). Short-Chain Fatty Acids Modulate Metabolic Pathways and Membrane Lipids in *Prevotella bryantii* B14. *Proteomes*, 8(4), 28. <https://doi.org/10.3390/proteomes8040028>
- Valencia, I., Lumpuy-Castillo, J., Magalhaes, G., Sánchez-Ferrer, C. F., Lorenzo, Ó., y Peiró, C. (2024). Mechanisms of endothelial activation, hypercoagulation and thrombosis in COVID-19: A link with diabetes mellitus. *Cardiovascular Diabetology*, 23(1), 75. <https://doi.org/10.1186/s12933-023-02097-8>
- Ventero, M. P., Moreno-Perez, O., Molina-Pardines, C., Paytuví-Gallart, A., Boix, V., Escribano, I., Galan, I., González-de-la-Aleja, P., López-Pérez, M., Sánchez-Martínez, R., Merino, E., y Rodríguez, J. C. (2022). Nasopharyngeal Microbiota as an early severity biomarker in COVID-19 hospitalised patients. *The Journal of Infection*, 84(3), 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.12.030>
- Wang, P., Sha, J., Meng, M., Wang, C., Yao, Q., Zhang, Z., Sun, W., Wang, X., Qie, G., Bai, X., Liu, K., y Chu, Y. (2020). Risk factors for severe COVID-19 in middle-aged

- patients without comorbidities: A multicentre retrospective study. *Journal of Translational Medicine*, 18(1), 461. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02655-8>
- Wang, Q., Lin, X., Xiang, X., Liu, W., Fang, Y., Chen, H., Tang, F., Guo, H., Chen, D., Hu, X., Wu, Q., Zhu, B., y Xia, J. (2021). Oropharyngeal Probiotic ENT-K12 Prevents Respiratory Tract Infections Among Frontline Medical Staff Fighting Against COVID-19: A Pilot Study. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9(646184), 1-9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.646184>
- Webb, K. A., Olagoke, O., Baird, T., Neill, J., Pham, A., Wells, T. J., Ramsay, K. A., Bell, S. C., Sarovich, D. S., y Price, E. P. (2022). Genomic diversity and antimicrobial resistance of *Prevotella* species isolated from chronic lung disease airways. *Microbial Genomics*, 8(2), 000754. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000754>
- World Health Organization. (2025). *WHO COVID-19 Dashboard*. <https://covid19.who.int>
- Xiao, X., Le, H. H., Lee, M.-T., Lamm, D., Johnson, E. L., y Brito, I. L. (2024). *Prevotella* copri variants among a single host diverge in sphingolipid production. *mBio*, 15(2), e02409-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.02409-23>
- Xiong, D., Muema, C., Zhang, X., Pan, X., Xiong, J., Yang, H., Yu, J., y Wei, H. (2021). Enriched Opportunistic Pathogens Revealed by Metagenomic Sequencing Hint Potential Linkages between Pharyngeal Microbiota and COVID-19. *Virologica Sinica*, 36(5), 924-933. <https://doi.org/10.1007/s12250-021-00391-x>
- Zakka, K., Chidambaram, S., Mansour, S., Mahawar, K., Salminen, P., Almino, R., Schauer, P., Kinross, J., y Purkayastha, S. (2021). SARS-CoV-2 and Obesity: “CoVesity”—a Pandemic Within a Pandemic. *Obesity Surgery*, 31(4), 1745-1754. <https://doi.org/10.1007/s11695-020-04919-0>

- Zhang, Q., Ma, Q., Wang, Y., Wu, H., y Zou, J. (2021). Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *International Journal of Oral Science*, 13(1), 30. <https://doi.org/10.1038/s41368-021-00137-1>
- Zhou, J., Yang, X., Yang, Y., Wei, Y., Lu, D., Xie, Y., Liang, H., Cui, P., Ye, L., y Huang, J. (2023). Human microbiota dysbiosis after SARS-CoV-2 infection have the potential to predict disease prognosis. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08784-x>
- Zhou, Y., Yang, Q., Chi, J., Dong, B., Lv, W., Shen, L., y Wang, Y. (2020). Comorbidities and the risk of severe or fatal outcomes associated with coronavirus disease 2019: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 99, 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.07.029>

