



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE LINFOCITOS T EN
SANGRE PERIFÉRICA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE
IGG CON EL DESENLACE DE COVID-19**

**TESIS QUE PRESENTA:
ALEJANDRA YARENSY MACÍAS GUTIÉRREZ**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:
MEDICINA INTERNA**

**TUTOR DE TESIS
DR. CONSTANTINO III ROBERTO LÓPEZ MACÍAS**



CIUDAD DE MEXICO

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso


DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

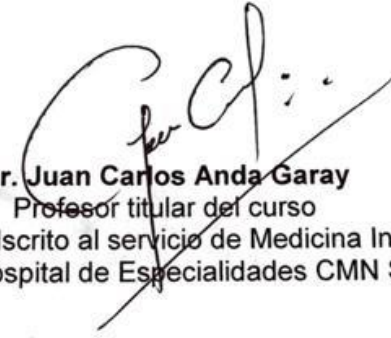
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).


El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ASOCIACION DE LOS NIVELES DE LINFOCITOS T EN SANGRE PERIFERICA Y
LOS NIVELES SERICOS DE IGG CON EL DESCENLACE DE COVID-19




Dra. Victoria Mendoza Zubieta
Jefe de la División de Educación en Salud
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI


Dr. Juan Carlos Anda Garay
Profesor titular del curso
Médico adscrito al servicio de Medicina Interna
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI


Dr. Constantino III Roberto López Macías
Tutor principal
Investigador asociado D
Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica
UMAE Hospital de Especialidades CMN SXXI



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3601**
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES Dr. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS **17 CI 09 015 034**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 023 2017082**

FECHA **Martes, 22 de junio de 2021**

Dr. Constantino III Roberto López Macias

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarte, que el protocolo de investigación con título **Asociación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y los niveles séricos de IgG con el desenlace de COVID-19** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de Investigación, por lo que el dictamen es **APROBADO**:

Número de Registro Institucional
R-2021-3601-093

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. Carlos Fredy Cuevas García
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601

Imprimir

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

AGRADECIMIENTOS:

A mis padres, porque gracias a su apoyo incondicional he llegado a este punto de mi carrera, gracias a su ejemplo, sé que no hay límites cuando se hace lo que uno quiere, y que a base de esfuerzo y dedicación todo es posible.

A Pepe, por su compañía a lo largo de estos años, impulsándome a ser cada día mejor, aplaudiendo cada éxito y esperando con un abrazo comprensivo en los días difíciles, escuchando atentamente cada detalle de mi incansable narrativa, alentándome para nunca rendirme.

A esos compañeros de trabajo que mas que amigos se han vuelto hermanos, por que gracias a ustedes el camino se hizo más ligero, en los peores días, aun bajo el EPP o después de las peores guardias, siempre lograron sacarme una sonrisa y hacerlo todo más llevadero. Especialmente a esos que aun en pandemia, estuvieron más cerca cuando todos estaban lejos.

A mis profesores, esos grandes Doctores que hoy son mi ejemplo a seguir, gracias por confiar en mí, por compartirme su experiencia y transmitir sus conocimientos invaluableles.

Finalmente, al equipo del laboratorio de inmunoquímica, por invitarme a ser parte de este gran equipo y dejarme aportar un granito de arena a este gran mar de conocimiento.

Índice

<i>Resumen</i>	6
Abreviaturas	8
Antecedentes	9
<i>Planteamiento del problema</i>	13
<i>Pregunta de Investigación</i>	13
Hipótesis	14
Objetivos	14
Metodología	15
<i>Diseño del Estudio</i>	15
<i>Universo de trabajo</i>	15
<i>Criterios de inclusión</i>	15
<i>Criterios de no inclusión</i>	15
<i>Criterios de Eliminación</i>	15
<i>Tamaño de muestra</i>	15
<i>Variables</i>	16
<i>Variables dependientes</i>	16
<i>Variables Independientes</i>	16
<i>Definición operacional de las variables</i>	16
<i>Procedimiento general</i>	20
<i>Aspectos de Bioseguridad</i>	24
Resultados	25
Discusión	30
Conclusión	32
Referencias	33
Anexos	35

Resumen

En diciembre del 2019 fue detectada en Wuhan, un conjunto de neumonías en el que se identificó un nuevo coronavirus SARS-CoV-2 como agente causal. Los pacientes que cursan con neumonías graves se caracterizan por hipoxemia, linfopenia y elevación de mediadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR) y dímero D. Se ha reportado la alteración de la respuesta inmunológica dependiente de linfocitos T, además de la disminución de este grupo celular en sangre periférica y el papel de las inmunoglobulinas no está establecido con claridad en la infección por SARS-COV-2. **Objetivo:** Evaluar la relación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y su asociación con los niveles de anticuerpos IgG contra COVID 19 y su impacto en el desenlace de la enfermedad en pacientes adultos que estuvieron hospitalizados con prueba de RT-PCR positivo para SARS-CoV-2. **Métodos:** Las variables cuantificadas fueron los anticuerpos anti-IgG contra SARS-CoV-2 por el método de ELISA y la determinación de las células T mediante citometría de flujo con marcadores de superficie. **Análisis estadístico:** Se utilizó estadística descriptiva con base a las variables de interés, se realizaron pruebas de hipótesis mediante t de Student ó U-Mann Whitney y correlación de Spearman. **Resultados:** En un total de 13 pacientes (7 sobrevivida, 6 decesos) No se encontró diferencia significativa en el porcentaje de células T CD4 y CD8 en los pacientes que mejoraron y los que fallecieron al ingreso al hospital. Se compararon índices de anticuerpos IgG al ingreso hospitalario en pacientes con mejoría y aquellos que resultaron en un desenlace fatal, sin encontrar diferencia significativa. No se encontró correlación entre los niveles de linfocitos T y los índices de IgG. **Conclusión:** No se observaron diferencias estadísticas en la relación de los linfocitos T y las subpoblaciones CD4+ y CD8+ con respecto al desenlace de la enfermedad ni a la producción de anticuerpos. Los niveles de anticuerpos de clase IgG al ingreso hospitalario no tienen relación con el desenlace de la COVID-19 y no son útiles como predictores de mortalidad.

Datos de Alumno:	
Apellido paterno:	Macías
Apellido Materno:	Gutiérrez
Nombre:	Alejandra Yarensy
Teléfono:	449 210 96 40
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad:	Facultad de Medicina
Carrera:	Medicina interna
Número de cuenta:	
Datos de Tutor:	
Apellido paterno:	López
Apellido materno:	Macías
Nombre(s):	Constantino III Roberto
Teléfono:	Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.
Correo:	constantino@siminmunologia.mx
Adscripción:	UMAE, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.
Tesis:	
Título:	Asociación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y los niveles séricos de IgG con el desenlace de COVID-19
Número de páginas:	
Año:	2021

Abreviaturas

APB	Periferal blood Adult (Sangre Periférica de Adulto)
CCL	Chemokine (C-C motif) (Quimiocina con dos residuos de cisteína adyacentes)
CCR	Chemokine (C-C motif) receptor (Receptor de quimiocina con dos residuos de cisteína adyacentes)
CD	Cluster of Differentiation (Marcador de diferenciación)
CXCL	Chemokine (C-X-C motif) ligand (Quimiocina con dos residuos de cisteína separados por un aminoácido diferente)
CXCR	Chemokine (C-X-C motif) receptor (Receptor de quimiocina con dos residuos de cisteína separados por un aminoácido diferente)
dsRNA	(Double-strandes RNA, RNA de doble cadena)
DNA	Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
FC	Frecuencia cardíaca
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos)
HLA	Human Leucocyte Antigen (Antígeno leucocitario humano)
ID2	DNA-binding Protein Inhibidor 2 (Factor de transcripción, inhibidor de proteína de unión a ADN 2)
IL	Interleucina
IRF3	INF regulatory factor 3
ISGs	IFN-stimulated genes
MDA5	Melanoma differentiation antigen 5
NF- κB	Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of activated B cells (Factor nuclear potenciador de las cadenas kappa de las células B activadas)
NK	Natural Killer (Asesinas naturales)
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern (Patrón Molecular Asociado a Patógenos)
PCT	Procalcitonina
PRR	Pattern Recognition Receptor (Receptor de Reconocimiento de Patrón)
PBS	Phosphate Buffer Solution (Solución amortiguadora de fosfatos)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Reacción en cadena de la polimerasa)
PerCp	Peridinin Chlorophyll Protein (Fluorocromo Proteína Clorofila Peridinina)
rpm	Revoluciones por minuto
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome (Síndrome Agudo Respiratorio Severo)
STAT1	Signal transducers and transcription factors 1
TGFβ	Transforming Growth Factor beta (Factor de crecimiento transformante tipo beta)
TNFα	Tumor Necrosis Factor alpha (Factor de necrosis tumoral alpha)
VSG	Velocidad de sedimentación globular

ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE LINFOCITOS T EN SANGRE PERIFÉRICA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE IGG CON EL DESENLACE DE COVID-19

Antecedentes

La infección respiratoria conocida como resfriado común producida por Coronavirus se conoce desde los años 60s, descrita por Tyrell and Bynoe en 1966¹. Ha sido sin duda un virus que se adapta bien. Los Coronavirus (CoVs) se subdividen a su vez en alfa, beta, gamma y delta. Se conocen seis CoVs que infectan a humanos (HCoVs): dentro de los alfa-CoVs se encuentran el HCoVs-NL63 y el HCoVs-229E; y de los beta-CoVs están los HCoVs-OC43, HCoVs-HKU, SARS-CoV y MERS-CoV². Estos se distribuyen entre humanos y animales, y producen principalmente infecciones respiratorias, intestinales, hepáticas y neurológicas. Los coronavirus que tienen baja patogenicidad se identifican principalmente en vías respiratorias altas; sin embargo, dos brotes por CoVs que afectan vías respiratorias bajas se originaron por el SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) en 2002, que llegó a tener un 9.6% de mortalidad, y en el 2011 el MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) con un 36% de mortalidad. En diciembre del 2019 fue detectada en Wuhan, provincia de Hubei, China, un conjunto de neumonías de etiología desconocida, y en enero del 2020 se identificó el agente causal, que se denominó como un nuevo coronavirus (2019-nCoV), actualmente denominado como SARS-CoV-2, que produce la enfermedad COVID-19³.

La mayoría de los pacientes infectados por el SARS-CoV-2 desarrollan síntomas leves y se resuelven de forma espontánea, situación que aplica especialmente a los individuos jóvenes. Recientemente el número de infectados pueden duplicarse cada 7 días y cada paciente tiene la posibilidad de diseminar la infección a otras 2.2 personas⁴. Con el avance de la pandemia se ha observado que COVID-19 puede ser desarrollado a cualquier edad, aunque las personas de edad avanzada son los que están en mayor riesgo de presentar las formas graves de la enfermedad que incluyen, neumonías graves que se caracterizan por hipoxemia; linfopenia y elevación de mediadores inflamatorios como la proteína C reactiva (PCR), dímero D, que ha mostrado ser un marcador de mal pronóstico en pacientes con COVID-19⁵. Además se reconocen alteraciones radiológicas

(en Radiografías y Tomografías); edema pulmonar; sepsis, Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Aguda (ARDS, por sus siglas en inglés, *Acute Respiratory Distress Syndrome*) y choque séptico¹.

El SARS-CoV-2 es un virus de RNA, de una sola cadena y con alta homología con otros coronavirus, 79% con SARS-CoV y 51% con MERS-CoV. Posee 14 residuos de unión que se unen al receptor ACE2 (*Angiotensin-converting enzyme 2*, enzima convertidora de angiotensina 2), que se expresa en diferentes células, principalmente en las epiteliales alveolares tipo I y II. La similitud genómica con SARS-CoV podría ayudar a conocer y explicar la fisiopatología de la enfermedad⁶. En modelos experimentales animales se observó que los ratones carentes de *ace2* están protegidos de la infección por SARS *in vivo*. La infección por SARS-CoV y la proteína S (*Spike protein*) regulan negativamente la expresión de ACE2. Aparentemente, en forma paradójica, ACE2 reduce la posibilidad de desarrollar daño pulmonar al reducir la activación de Angiotensina II y la unión de ésta a su receptor AT1R a nivel pulmonar; esta evidencia podría explicar por qué el SARS-CoV puede llegar a tener la letalidad antes mencionada por daño pulmonar^{7,8}.

Respuesta inflamatoria inducida por Coronavirus

Ya que este virus tiene rápida y robusta replicación se han observado antígenos virales en células epiteliales, endoteliales y macrófagos de vías respiratorias. Como consecuencia existe incremento en el reclutamiento de células de la respuesta inmune, neutrófilos y macrófagos en el intersticio pulmonar y alveolos, principalmente macrófagos. También existe aumento de la cantidad de neutrófilos y monocitos circulantes. Además, se ha reportado la alteración de la respuesta inmunológica dependiente de linfocitos T, además de la disminución de este grupo celular en sangre periférica. La presencia de células inmunes en mayor cantidad en el tejido afectado favorece la producción y liberación de mediadores inflamatorios del tipo de las citocinas y quimiocinas. De forma interesante existe un retraso en la expresión de interferones de tipo I (IFN Tipo I). Estos cambios descritos son parte de los mecanismos de evasión del virus y que seguramente son más complejos de lo ya descrito^{3,9,10}.

En el caso de SARS-CoV no existe evidencia directa del papel de los mediadores inflamatorios como responsables de la patología pulmonar, sin embargo, se ha observado una asociación de la gravedad de la enfermedad con el incremento en la respuesta inflamatoria con citocinas como IL-1 β , IL-12, IL-6, quimiocinas como IL-8, MCP-1, e IP-10; y de Interferones

de tipo II como IFN-¹¹.

A pesar de que mediadores inflamatorios, como las citocinas y las quimiocinas se incrementan en suero no se reconoce un patrón específico.

Linfopenia en COVID-19

La linfopenia puede ser causada por la adhesión del virus o indirectamente por lesión inmune por mediadores inflamatorios. Además, el exudado de linfocitos circulantes hacia el tejido pulmonar inflamado también puede provocarla. Entre los pacientes con COVID-19, los casos graves tenían un nivel más bajo de linfocitos totales, linfocitos T CD4 +, linfocitos T CD8 + y linfocitos B que los casos leves, lo que era similar a la alteración en el SARS-CoV. ¹² Los niveles de células T CD8 + se correlacionaron negativamente con los indicadores inflamatorios VSG, PCR e IL-6, mientras que la relación CD4 + / CD8 + se correlacionó positivamente. Los niveles de linfocitos totales y linfocitos T CD4 + se asociaron negativamente con la VSG y las células NK se correlacionaron negativamente con IL-6. Estos hallazgos indican un cambio más obvio en las células T CD8 + que en otros subconjuntos de linfocitos después de la infección por SARS-CoV-2. Por lo tanto, los linfocitos y sus subconjuntos, especialmente las células T CD8 +, podrían ser un predictor potencial de la gravedad de la enfermedad y la eficacia clínica en COVID-19.¹³ Es importante destacar que se ha demostrado que las células T CD8 + desempeñan un papel fundamental en la mediación de la eliminación viral después de las infecciones respiratorias agudas del virus respiratorio sincitial (RSV), el virus de la influenza A (IAV) y el metapneumovirus humano. En experimentos con animales, la transferencia de células T CD8 + inmunes a RSV o IAV a ratones atímicos redujo significativamente los títulos virales. Por lo anterior, la alteración del subconjunto de linfocitos periféricos mostró una clara asociación con las características clínicas de COVID-19. Las células T CD8 + tendían a ser un predictor independiente de la gravedad de COVID-19 y la eficacia del tratamiento. Estos hallazgos podrían ayudar a dilucidar la patogénesis y desarrollar nuevos biomarcadores y estrategias terapéuticas para COVID-19.¹⁴

Inmunoglobulinas en COVID-19

El papel de las inmunoglobulinas no está establecido con claridad en la infección por SARS-COV-2 y el desenlace clínico esta menos claro. Ordinariamente, las infecciones con virus requieren inmunidad mediada por células para el aclaramiento

del virus. Los anticuerpos median funciones como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y fagocitosis por células de la vía innata como las natural killer y los macrófagos. Sin embargo, la necesidad de anticuerpos en la eliminación de la infección por SARS-CoV-2 ha sido desafiada por dos casos recientes de pacientes con agammaglobulinemia ligada al cromosoma X que adquirieron y sobrevivieron a la infección por SARS-CoV-2 sin requerir oxígeno ni cuidados intensivos.¹⁵ Lo anterior sugiere que pueden existir múltiples vías para contrarrestar una infección viral y que una respuesta inmune de células T normal puede ser suficiente para defender del virus en sujetos que no son capaces de sintetizar inmunoglobulinas antígeno-específicas. Algunos incluso proponen la posibilidad de un papel patogénico de los anticuerpos en la infección primaria a través del fenómeno de potenciación dependiente de anticuerpos (ADE por sus siglas en inglés) y el aumento de la inflamación, aunque se cree que esto es insuficiente para explicar la prevalencia de casos graves de Infección por SARS-CoV-2.¹⁶ Como tal, el papel beneficioso, neutral o dañino de las inmunoglobulinas en la infección activa por coronavirus sigue siendo controvertido.

Tradicionalmente, la inmunidad celular es responsable de eliminar una infección viral establecida, mientras que las respuestas inmunes humorales juegan un papel más crítico en la prevención de infecciones futuras. Aquí, encontramos que los pacientes con COVID-19 gravemente enfermos tenían los niveles más altos de anticuerpos anti-RBD y anti-spike, lo que está de acuerdo con estudios previos.¹⁷ A pesar de la clara correlación entre la gravedad de COVID-19 y el desarrollo de inmunidad humoral, la relación causa-efecto entre estos dos no está claro. Una posibilidad es que la enfermedad grave causada por hiperinflamación y / o la replicación no controlada del virus induce la sobreproducción de inmunoglobulinas que sirven como "biomarcador" de gravedad.

Planteamiento del problema

La infección por COVID 19 es una entidad de la que poco se conoce, la mayoría de los pacientes infectados por SARS COV -2 desarrollan síntomas leves y resuelven de forma espontánea, sin embargo, con el avance de la pandemia se han identificado algunos factores que pueden influir para desarrollar enfermedad grave, como la presencia de linfopenia, elevación de mediadores inflamatorios como la PCR, dímero D que incluso han mostrado ser un marcador de mal pronóstico en pacientes con COVID -19. Se ha observado que los casos graves tenían un nivel más bajo de linfocitos totales, linfocitos T CD4 +, linfocitos T CD8 + y linfocitos B que los casos leves, sin embargo se desconoce si esto puede servir como un marcador de mal pronóstico e influir en el desenlace de la enfermedad. Como tal, el papel beneficioso, neutral o dañino de las inmunoglobulinas en la infección activa por coronavirus sigue siendo controvertido y hasta ahora no se había estudiado la asociación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y los niveles séricos de IgG con el desenlace de la enfermedad causada por SARS-CoV-2, que podrían funcionar como marcadores biológicos de gravedad y que son analitos cuantificados rutinariamente a estos tipos de pacientes al ingreso al hospital.

Pregunta de Investigación

¿Los niveles de linfocitos T (CD4+ o CD8+) se asocian con los niveles de anticuerpos IgG contra COVID 19 e impactan en el desenlace de la enfermedad?

Hipótesis

Ho: La presencia de linfopenia selectiva de células T se asocia con niveles más bajos de anticuerpos IgG contra COVID-19 y mayor requerimiento de ventilación mecánica y mortalidad.

Hi: La presencia de linfopenia no se asocia con niveles más bajos de anticuerpos IgG contra COVID-19 ni a mayor requerimiento de ventilación mecánica o mayor mortalidad.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la relación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y su asociación con los niveles de anticuerpos IgG contra COVID 19 y su impacto en el desenlace de la enfermedad.

Objetivos particulares

1. Cuantificar los niveles de linfocitos T (CD4+ y CD8+) en pacientes con COVID-19
2. Determinar la IgG en suero de pacientes con COVID-19.
3. Establecer si existe asociación entre los niveles séricos de IgG y el número de linfocitos T circulantes en pacientes con COVID-19
4. Establecer si existe asociación entre los niveles de IgG en circulación y el desenlace de pacientes con COVID-19

Metodología

Diseño del Estudio

Analítico

Observacional: ya que se determinarán las IgG y células T en circulación, sin que se realice ninguna maniobra terapéutica de por medio

Transversal: ya que solo se tomará la muestra al ingreso de los pacientes al protocolo

Retrospectivo: Se usarán las muestras de pacientes reclutados para la inclusión en el periodo establecido de marzo a septiembre del 2020.

Universo de trabajo

Pacientes adultos que ingresen con la sintomatología asociada a COVID-19 (fiebre ≥ 38 C, tos, fatiga, cefalea, disnea) a la UMAE Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, y que cuenten con prueba de RT-PCR positivo para SARS-CoV-2

Criterios de inclusión

1. Pacientes adultos de ambos sexos, mayores de 16 años que ingresen a la UMAE Hospital de especialidades del CMN SXXI con diagnóstico de COVID-19 y que se corrobore mediante la prueba de RT-PCR

Criterios de no inclusión

1. Pacientes portadores de enfermedades inmunosupresoras: VIH+, Virus de Hepatitis C, inmunodeficiencias primarias, artritis reumatoide, lupus eritematoso y bajo tratamiento con inmunosupresores
2. Pacientes o representantes legales que no acepten participar en el estudio

Criterios de Eliminación

1. Pacientes que rechacen continuar participando en el estudio.
2. Pacientes con expediente incompleto.
3. Pacientes en los que no se logró efectuar la evaluación completa de la respuesta inflamatoria, serológica y celular.

Tamaño de muestra

1. Considerando las condiciones de la pandemia y el número de pacientes que se diagnosticaron, se consideró una muestra por conveniencia y se incluyó a todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión de marzo a septiembre de 2020.

Variables

Variables dependientes

1. Cantidad de células T cooperadoras y citotóxicas circulantes
2. Valores de IgG anti-SARS-CoV-2 en suero
3. Alta médica por mejoría o desenlace fatal
4. Número de días de estancia hospitalaria

Variables Independientes

1. Prueba positiva de RT-PCR para COVID-19
2. Gravedad de la enfermedad evaluada por las siguientes escalas: SOFA, qSOFA, y SIRA (Síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto)
3. Variables sociodemográficas, laborales y personales.
4. Edad
5. Género
6. Presencia de comorbilidades: diabetes mellitus, hipertensión arterial, cardiopatías, sobrepeso/obesidad
7. Toxicomanías
8. Fiebre ≥ 38 C, tos, fatiga, cefalea, disnea, congestión nasal, secreción nasal, estornudos, dolor articular y muscular, dolor de garganta, diarrea.

Definición operacional de las variables

Variable	Tipo	Definición conceptual	Definición operacional	Escala medición	Fuente de información
Edad	Cuantitativa continua	Tiempo en años a partir del nacimiento	Tiempo en años a partir del nacimiento	Años	Expediente clínico
Género	Cualitativa Nominal Dicotómica	Característica biológica que permite clasificar a los seres humanos en hombres o mujeres	masculino o femenino	0=hombre 1= mujer	Expediente clínico
Caso confirmado	Cualitativa Dicotómica	Persona que cumpla con la definición operacional de caso sospechoso y que cuente con diagnóstico confirmado por la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública	Positivo o negativo	Positivo o negativo a SARS CoV2	Expediente clínico/ o resultado del laboratorio reconocido a solicitud

		reconocidos por el InDRE			
SOFA (Sequential Organ Failure Assessment Score)	Cuantitativa Discreta	Escala utilizada para la valoración de la severidad de disfunción orgánica, la cual involucra parámetros clínicos (Frecuencia arterial media y escala de Glasgow) y de laboratorio (Plaquetas, $\times 10^3 /\mu\text{L}$, Bilirubina, mg/dL, Creatinina, mg/Dl, etc.)	puntuación SOFA más alta está asociada con una mayor probabilidad de mortalidad	valores del 0 al 4	Expediente clínico
Índice de Masa Corporal (IMC)	Cuantitativa discreta	Indicador que marca la relación entre el peso y la talla de un individuo utilizado en la detección del sobrepeso y obesidad en adultos.	Se calcula utilizando el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2)	IMC normal es de 18.5 a 24.9 sobrepeso como un IMC igual o superior a 25 y la obesidad como un IMC igual o superior a 30	Expediente clínico
IgG anti SARS -CoV-2	Cuantitativa discreta	Presencia de IgG anti SARSCoV2 en suero	Identificación de la presencia de anticuerpos anti SARSCoV2 mediante inmunoensayo	Positivo o negativo de acuerdo al valor de corte	ELISA
Linfocitos T cooperadores	Cuantitativa continua	Cantidad de células T (CD3+) cooperadoras (CD4+) en	Se calcula el número absoluto a partir de la frecuencia de células CD3+C	Cel/mL	Inmunofenotipificación por citometría de flujo

		sangre periférica	D4+ en sangre periférica		
Linfocitos T Citotóxicos	Cuantitativa continua	Cantidad de células T (CD3+) cooperadoras (CD8+) en sangre periférica	Se calcula el número absoluto a partir de la frecuencia de células CD3+CD8+ en sangre periférica	Cel/mL	Inmunofenotipificación por citometría de flujo

Definiciones

Caso sospechoso: Paciente adulto que en los últimos 7 días presento al menos dos de los siguientes signos y síntomas: fiebre o cefalea

Acompañadas de al menos uno de los siguientes signos o síntomas:

- Disnea, artralgias, mialgias, odinofagia/dolor faríngeo, rinorrea, conjuntivitis, dolor torácico.

Caso confirmado: Paciente que cumpla con la definición de caso sospechoso y que cuente con diagnóstico confirmado por la Red Nacional de Laboratorios de Salud Pública reconocidos por el InDRE

Caso grave: Paciente que con neumonía, Síndrome Respiratorio Agudo Severo o insuficiencia renal.

SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment Score*): Escala utilizada para la valoración de la severidad de disfunción orgánica, la cual involucra parámetros clínicos (Frecuencia arterial media y escala de Glasgow) y de laboratorio (Plaquetas, $1 \times 10^3 / \mu\text{L}$. Bilirubina, mg/dL. Creatinina, mg/dL. etc). Tiene valores del 0 al 4, donde una puntuación SOFA más alta está asociada con una mayor probabilidad de mortalidad. El puntaje califica la anormalidad por sistema de órganos y explica las intervenciones clínicas²⁴.

qSOFA (*quick SOFA*): Escala simplificada denominada "SOFA rápido" para facilitar la identificación de pacientes potencialmente en riesgo de morir. Consta de tres parámetros clínicos (Frecuencia respiratoria ≥ 22 /min, cambio en el estado mental y presión arterial sistólica ≤ 100 mmHg) a los que se les asigna un punto (Valores de la escala de 0-3). La puntuación qSOFA de ≥ 2 puntos indica disfunción orgánica²⁵

SIRA (Síndrome de Insuficiencia Respiratoria del Adulto): Síndrome agudo caracterizado por falla respiratoria de origen no cardiogénico que conlleva a disfunción en la oxigenación²⁶.

Índice de Masa Corporal (IMC): Indicador que marca la relación entre el peso y la talla de un individuo utilizado en la detección del sobrepeso y obesidad en adultos. Se calcula utilizando el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2). Donde un IMC normal es de 18.5 a 24.9, sobrepeso como un IMC igual o superior a 25 y la obesidad como un IMC igual o superior a 30.

Obesidad: El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal y excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud

Diabetes Mellitus: La diabetes de tipo 2 es un trastorno crónico que afecta la manera en la cual el cuerpo metaboliza el azúcar (glucosa), una fuente importante de combustible para el cuerpo

Hipertensión arterial: La hipertensión arterial es una enfermedad crónica en la que aumenta la presión con la que el corazón bombea sangre a las arterias, para que circule por todo el cuerpo

Cardiopatía: Es una condición patológica que involucra diferentes alteraciones del corazón como la enfermedad isquémica (alteración en el aporte de oxígeno al corazón), la insuficiencia cardiaca, entre otras.

Hepatopatía: Condición patológica que se caracteriza por alteración en la función hepática y cuya etiología puede ser de origen diverso.

Neumopatía: Condición patológica que se caracteriza por alteración en la función respiratoria y cuya etiología puede ser de diferente origen.

Procedimiento general

En nuestro modelo de muestreo no probabilístico de casos consecutivos de pacientes que cumplieron con los criterios de selección y que aceptaron participar en el estudio (o los representantes legales) mediante consentimiento informado (con firma e la carta de consentimiento informado, ver Anexos), se realizó el siguiente proyecto. Los pacientes con sintomatología de COVID-19 que acudieron a la UMAE fueron evaluados por los médicos encargados de Admisión Continua de Urgencias de pacientes con potencial infección por SARS-CoV2. El área de *Triage* respiratorio se diseñó como un circuito *lean health* con la finalidad de ser más eficiente el proceso de valoración clínica de los pacientes²⁷.

Diagnóstico molecular

Una vez hecho el diagnóstico clínico de presunción se tomó una muestra para diagnóstico molecular (RT-PCR). Por disposición oficial, las muestras de los pacientes sospechosos son enviadas a los laboratorios de vigilancia epidemiológica del IMSS quienes son los encargados y certificados institucionalmente para realizar el diagnóstico y reportar los casos. Fueron incluidos en el estudio aquellos pacientes que se ingresaron a hospitalización en esta unidad (UMAE HE CMN SXXI, IMSS). Las muestras iniciales se tomaron en pacientes sin resultado de RT-PCR, ya que la entrega del resultado llevaba 48 horas. Por lo que existió la posibilidad de tomar muestras en pacientes con resultados negativos (Ver Anexo de Flujograma de muestras COVID-19).

Detección del virus SARS-CoV-2

El diagnóstico molecular se basó en la realización de una prueba de qRT-PCR de tamizaje y otra confirmatoria empleando los iniciadores y sondas diseñados por V. Corman y col. del Charité, Berlín (Anexos). El grupo de V. Corman diseñó tres juegos de iniciadores y sondas que permiten la amplificación específica de fragmentos de los genes del virus SARS-CoV-2: gen RdRp (RNA Polimerasa dependiente de RNA), gen N (proteína de la nucleocápside) y gen E (proteína de la envoltura). La prueba de tamizaje se realiza empleando la región del gen E y la prueba confirmatoria se hace utilizando los iniciadores para un gen alternativo como RdRp.

Toma de la muestra periférica

La toma de muestra de sangre se realizó por venopunción (o a través del catéter central en caso de contar con él); aproximadamente 2 tubos Vacutainer para extracción de sangre, con EDTA y sin EDTA, para obtención de suero y plasma,

siguiendo los protocolos de protección para el paciente y para el personal médico (Anexo). La toma de muestra se realizó al ingreso.

Las muestras para la determinación de anticuerpos IgG séricos fueron alicuotadas y congeladas hasta su procesamiento.

Determinación del índice anticuerpos IgG

El índice de anticuerpos fue cuantificado mediante kits de ErbaLisa (cat. IME00137 para IgM contra la proteína S2 y N; cat. IME00136 para IgG contra la proteína S2, Erba Mannheim London, U.K) siguiendo las instrucciones del fabricante, se incubaron los sueros por 20 minutos a temperatura ambiente en la placa proporcionada por ErbaLisa, después de un lavado se incubaron con el conjugado enzimático por 20 minutos para posteriormente añadir el substrato TMB y después de 10 minutos la lectura de absorbancias se realizó a 450nm por EPOCH (número de serie 1503277, BioTek® Instruments, Inc). El control de calidad de la prueba es proporcionado en el kit con un calibrador de OD, control negativo y positivo. Los datos obtenidos se analizaron usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA); realizando Kruskal-wallis para cada grupo, considerando el valor de P menor a 0.05 significativo. Además de la cuantificación de IgG e IgM contra la proteína RBD de SARS-CoV-2 por la técnica de ELISA.

Identificación y caracterización de leucocitos circulantes mediante citometría de flujo multiparamétrica.

Identificación y caracterización de linfocitos T por inmunofenotipo

A 150 µL de sangre total heparinizada, se le adicionaron 1000 µL de solución de lisis de eritrocitos (cloruro de amonio al 0.15M,) y se incubó 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se adiciono 1 mL de solución amortiguadora a base de fosfatos (PBS 1x) y se centrifugo durante 5 min a 1500 rpm. El botón celular obtenido se resuspende en 150 µL de PBS 1x. Se agregó 50 µL de ésta última suspensión celular a un tubo de auto-fluorescencia (sin anticuerpos, AF) y a un tubo de tinción en donde se realizó el marcaje con los siguientes anticuerpos: CD45 Pacific Blue (Biolegend, clona J.33), CD3 FOTC (Biolegend, clona LSE2), CD4 APC-Cy7 (Biolegend, clona 3G8), y CD8 APC (Biolegend, clona B-R6).

Pasados 15 min de incubación a temperatura ambiente y en oscuridad, se agregó 250 µL de una dilución 1:10 de solución de lisis y fijado (BD FACSTM Lysing Solution Cat. 349202) y se incubó por 10 min a temperatura ambiente en oscuridad. Finalmente, las células se lavaron por centrifugación agregando 1 ml de PBS y posteriormente se resuspendieron en 50 uL de solución isotónica. Se adquieren al menos diez mil eventos correspondientes a la población de linfocitos T(FSCmed, SSCmed, CD45high, CD3+) utilizando un citómetro FACS ARIA (BD™ Biosciences, San José, CA, USA) equipado con tres láser y el juego de filtros adecuados para la detección de los fluorocromos conjugados a los anticuerpos utilizados. Los

inmunofenotipos se analizaron utilizando el programa de análisis citométrico Infinicyt (Cytognos y EuroFlow™, Salamanca, España).

En el algoritmo para la identificación de leucocitos totales, se utilizaron tres gráficas de puntos: tamaño-área (FSC-A) vs tamaño-altura (FSC-H), que permitió distinguir los eventos que fueron adquiridos de forma individual por el citómetro (singuletes); tamaño (FSC-A) vs complejidad (SSC-A), en la cual pudimos seleccionar a los eventos que presenten el tamaño y complejidad clásicos de leucocitos de sangre periférica humana viables; y complejidad (SSC-A) vs expresión de CD45, con la que pudimos discriminar a los leucocitos (CD45+, en diferentes grados) de los eritrocitos remanentes (CD45-). Una vez seleccionados los leucocitos totales, se procedió a la identificación de los linfocitos (FSC_{low}, SSC_{low}, CD45^{hi}, CD14-, CD16-) y su caracterización como T cooperadores (CD3+CD4+) o citotóxicos(CD3+CD8+)

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva con base a las variables de interés. Así para las variables categóricas se reportaron proporciones. Para variables cuantitativas discretas o continuas, se determinó la media, mediana, moda y desviación estándar. De acuerdo con su distribución y varianza, se determinó el uso de estadísticos paramétricos o no-paramétricos. Así el análisis comparativo entre las características sociodemográficas (hombre vs mujer), edad (categorías de edad), comorbilidades (enfermo vs no enfermo), gravedad; con la concentración de los biomarcadores inflamatorios, ya sea frecuencias, medias o distribuciones de poblaciones, se realizaron pruebas de hipótesis mediante t de Student ó U-Mann Whitney o ANOVA de 2 vías y post-prueba Bonferroni o Dunn cuando así corresponda. Se elaboraron los mejores modelos de regresión logística, para estimar el riesgo de ser positivo para SARS-CoV2, así como de su gravedad y de presentar mayor o menor incremento en la respuesta. Los resultados se procesaron utilizando Excel, GraphPad Prisma y el programa STATA v.14.

Aspectos éticos

Para la realización del presente protocolo se solicitó la aprobación por el Comité de local de ética del HE del CMN “Siglo XXI” del IMSS (3601). Se considera que los sujetos incluidos en este estudio tienen un riesgo mayor al mínimo, por lo que se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado antes de iniciar el estudio.

Marco Legal: Este protocolo respeta las disposiciones enunciadas en la declaración de Helsinki de 1975 y sus enmiendas,

así como los códigos y normas internacionales vigentes para las buenas prácticas en la investigación clínica. Aunado a lo anterior, se respetarán cabalmente los principios contenidos en el Código de Núremberg, el Informe Belmont, el Código de Reglamentos Federales de Estados Unidos, y en el reglamento de la ley general de salud, tanto en materia de investigación para la salud (Título Quinto). El protocolo no califica para subordinarse a otras normas oficiales mexicanas específicas, ya que no utiliza compuestos radioactivos, compuestos químicos marcados, animales de laboratorio, partículas o materiales susceptibles de transmitir enfermedades infecciosas, ingeniería genética, terapia celular, ni sustancias químicas reactivas o tóxicas.

Se considera que los sujetos sometidos a este estudio se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado antes de iniciar el mismo (Anexo Carta de consentimiento). La persona que solicitó dicho consentimiento fue el investigador principal y/o alguno de los colaboradores que fueron considerados como sub-investigadores.

Riesgo de la Investigación: Dado que este protocolo incluye la toma de muestras sanguíneas, esta se clasifica con un riesgo tipo II (con riesgo mínimo), pero sólo fue realizada en pacientes adultos.

Balance Riesgo/Beneficio: Dado que las determinaciones biológicas se harán en el laboratorio, donde la UIMIQ cuenta con las medidas de bioseguridad necesarias para ello, así como el manejo confidencial de los datos, y de que el procedimiento en los pacientes es parte del manejo indicado por su padecimiento. El único riesgo es el relacionado con la toma de sangre, la cual se realizó por un profesional con experiencia, los cuales se ven altamente superados por el beneficio académico y social de la información a obtener.

Confidencialidad: Todos los pacientes que ingresaron al estudio fueron tratados con apego estricto de confidencialidad, quedando prohibida la divulgación de sus datos personales y médicos. Las hojas de recolección de datos (Anexo Recolección de datos) serán mantenidas en resguardo en la UIMIQ de la UMAE Hospital de Especialidades del CMN SXXI y únicamente serán utilizadas por los investigadores con los propósitos de la investigación en curso. En el expediente clínico del paciente se anotarán los datos clínicos relevantes para el seguimiento de su padecimiento y los resultados de laboratorio. Los reportes de la investigación, como los artículos publicados o presentaciones en congresos y foros académicos, no llevarán ningún dato personal de los participantes.

Selección de Participantes: Antes de invitar a cada paciente a participar en el proyecto, se le explicó ampliamente su patología y las estrategias terapéuticas que le corresponden al momento, así como la posibilidad de participación en la

investigación y los riesgos y potenciales beneficios que pueden derivar de ello. Si el paciente decide no ser seleccionado para el protocolo se continuará su tratamiento tal y como está indicado de acuerdo con el protocolo de tratamiento de pacientes con COVID-19 en la UMAE Hospital de Especialidades de CMN “Siglo XXI”, acordes a la norma oficial mexicana vigente y la normativa del IMSS. Se invitó a participar a los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y que exenten los criterios de exclusión o eliminación.

Aspectos de Bioseguridad

1. La investigación se considera de riesgo mínimo en aspectos de bioseguridad ya que se colectaron datos del expediente clínico, a través de un cuestionario, así como de la toma de muestra sanguínea por personal calificado y con material estéril. Se anexa la carta de bioseguridad que informa acerca del manejo de muestras de sangre. Los RPBI generados durante el estudio serán manejados bajo la norma NOM-087-ECOL-SSA1-2002.
2. Las muestras de sangre fueron recolectadas en el área asignada para manejo de los pacientes con COVID-19. Una vez colectadas fueron colocadas en hieleras etiquetadas adecuadamente para su transporte exclusivo a la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica de la UMAE del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, por los investigadores responsables del proyecto.
3. Las muestras de sangre fueron obtenidas de pacientes que cumplan los criterios de selección. Todo el material punzocortante que fue empleado para la toma de muestras, así como el desecho de estas en el laboratorio fueron depositados en recipientes especiales, manejados por expertos para el desecho de estos. La UIMIQ cuenta con campanas y áreas para el trabajo con nivel de bioseguridad 2, necesarias para el manejo de las muestras de estos pacientes.
4. Las muestras de plasma o suero fueron almacenadas en ultracongeladores del biobanco de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica de la UMAE del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI a -80°C hasta su procesamiento.
5. Este protocolo no contempló el uso de fármacos o de procedimientos quirúrgicos más allá de los indicados por las normas vigentes para el tratamiento de infección por SARS-CoV2, por lo cual los riesgos y efectos colaterales para el participante son mínimos, restringiéndose a la posible formación de un hematoma debido a la punción de la vena para la toma de la muestra. Esto se explicó con detenimiento en la carta de consentimiento y asentimiento.

Resultados

Se recolectaron un total de 13 pacientes de los cuales se recabo su información clínica y laboratoriales, se dividieron entre los pacientes con mejoría y decesos dentro del periodo que estuvieron hospitalizados. Las características sociodemográficas, clínicas y laboratorios se muestran en la Tabla 1, se realizó estadística descriptiva aplicando análisis según la variable, como Chi cuadrada para las variables nominales, ANOVA y T de student para variables continuas. Dentro de las características sociodemográficas observamos que la edad es un factor diferencial para el deceso de los pacientes, con una edad mayor (66 años) que los recuperados (41) esta diferencia es significativa $p= 0.0082$, el sexo también marca una tendencia como bien se ha reportado, mas hombres fallecen $p= 0.0024$. Las comorbilidades, como es de esperar, los decesos tienen mayor porcentaje de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y cardiopatías ($p=0.0001$), por el contrario, el sobrepeso esta por parte de los recuperados ($p=0.0006$).

Los análisis de laboratorio nos mostraron una población muy homogénea donde las diferencias estadísticas radican en el número de leucocitos mayor en los que fallecen ($p= 0.014$), mayor número de neutrófilos ($p= 0.0012$), menor índice de anticuerpos IgG ($p= 0.0024$) y mayor índice SIRI ($p=0.0082$). Además, la mayoría presento sintomatología como fiebre, tos, fatiga cefalea y disnea en comparación con los recuperados ($p= <0.0001$), menos mialgias ($p=<0.0001$) y sin diarreas reportadas. La escala SOFA también fue diferencial en estos grupos, ya que en los que fallecieron presentaron escalas equivalentes a estadios severos y críticos, mientras que los recuperados la mayoría fueron moderados ($p= <0.0001$).

Los linfocitos T fueron analizados mediante citometría de flujo y tomamos el porcentaje de células para realizar los análisis correspondientes en la población recolectada, se comparo el porcentaje de células T CD4 y CD8 en los pacientes que mejoraron y los que fallecieron al ingreso al hospital, esperando encontrar alguna diferencia que nos permitiera distinguir en la clínica un desenlace negativo, sin embargo, no se encontró diferencia significativa (Fig.1).

Tabla 1. Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de Pacientes con COVID-19. Se realizaron análisis estadísticos mediante pruebas de chi-cuadrada (variables categóricas) o Mann-Whitney (variables continuas) ($\alpha = 0,05$). $p > 0.05$ *

VARIABLE	TOTAL(n=13)	SOBREVIDA(n=7)	DECESO (n=6)	P
EDAD	53 ±17	41±11	66±11	0.0082
SEXO%	FEM: 38.5 MASC: 61.5	FEM: 29 MASC: 71	FEM: 50 MASC: 50	0.0024
PESO kg	82±17	82±17	82± 18	0.7028
TALLA mts	2±.107	2 ± 0.08	2 ± .11	0.1486
IMC kg/m2	31 ±7	30 ± 5	33 ±10	0.9155
		COMORBILIDADES %		
DM %	15.4	0	33	<0.0001
HTA %	30.8	14.3	50	<0.0001
CARDIOPATIA %	7.7	0	17	<0.0001
SOBREPESO %	46.2	57	33	0.0006
		LABORATORIOS		
LEUCOS (10x9/L)	7-13	6 – 8	9 – 18	0.0140
HB (g/dl)	12-16	14 – 16	10 – 14	0.0763
HT (%)	39-46	41 - 47	32 – 45	0.1014
PLT (SI)	223-467	232 – 501	132- 464	0.9452
NEU %	74-92	63 – 81	86 – 95	0.0012
LIN %	3-15	6 – 16	3 – 6	0.0565
MO %	3-8	4 – 8	2 – 8	0.1807
EO %	0-.15	0 – 0	0 – 0	0.4779
BASO %	.0650-.3000	0 – 0	0 – 0	0.6358
GLU md/dl	86- 162	82 – 106	100 – 245	0.0688
CREA mg / dl	.6950- 1.155	0- 0	.67 – 1.4	0.7599
IgG (Índice de anticuerpos)	1.022 - 3.135	1.132- 2.903	0.6071 - 4.042	0.0024
SIRI	3-8	2 – 4	5 – 23	0.0082
ESTANCIA días	13.5 ± 5.10	11 ± 4	17 ± 4	0.1096
		SÍNTOMAS (%)		
FIEBRE	84.6	100	67	<0.0001
TOS	53.8	28.6	83.3	<0.0001
FATIGA	15.4	0	33.3	<0.0001
CEFALEA	46.2	28.6	66.7	<0.0001
DISNEA	92.3	100	83.3	<0.0001
RINORREA	30.8	28.6	33.3	0.5408
ARTRALGIA	53.8	85.7	85.7	>0.9999
MIALGIA	92.3	100	83.3	<0.0001
ODINOFAGIA	15.4	14.3	16.7	0.5578
DIARREA	7.7	14.3	0	0.0001
BULUT	Moderado: 30.8 Severo: 15.4 Critico: 46.2	Moderado: 50 Severo: 33.3 Critico: 16.7	Severo: 16.7 Critico: 83.3	<0.0001

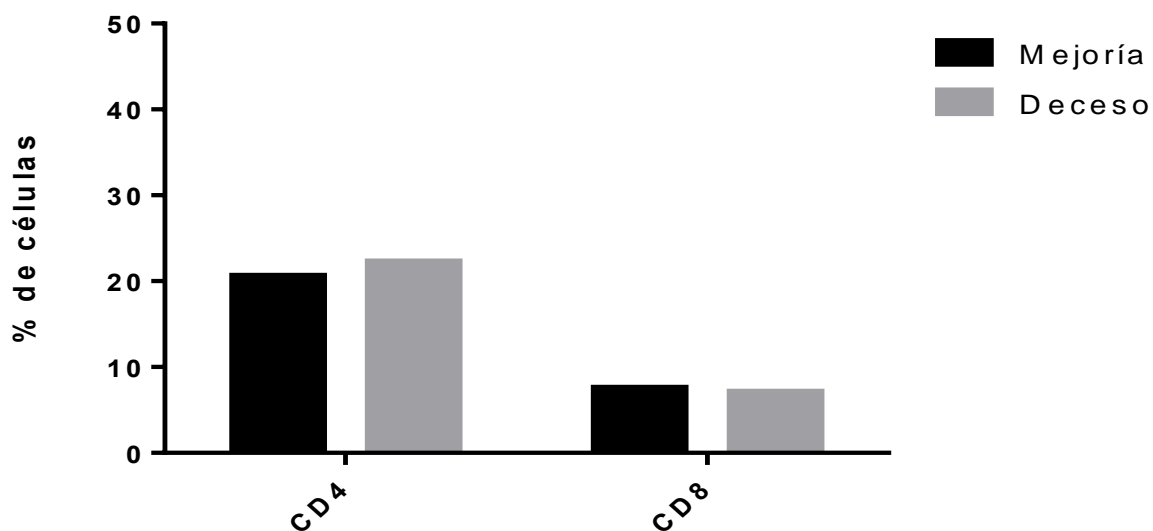


Figura 1. Cuantificación de linfocitos CD4 y CD8 en pacientes COVID-19. Porcentaje de linfocitos T CD4+ y CD8+ entre pacientes recuperados y decesos. Análisis ANOVA de dos vías seguida por Sidak's, n= 14.

Otro objetivo de este trabajo era determinar los índices de anticuerpos IgG en los pacientes con COVID-19 con la finalidad de encontrar diferencias que nos ayudaran a interpretar mejor la inmunopatología de la enfermedad. Se compararon pacientes con mejoría y aquellos que resultaron en un desenlace fatal, la muestra es al ingreso a la hospitalización, este análisis tampoco arrojó información diferencial con esta variable (Fig. 2)

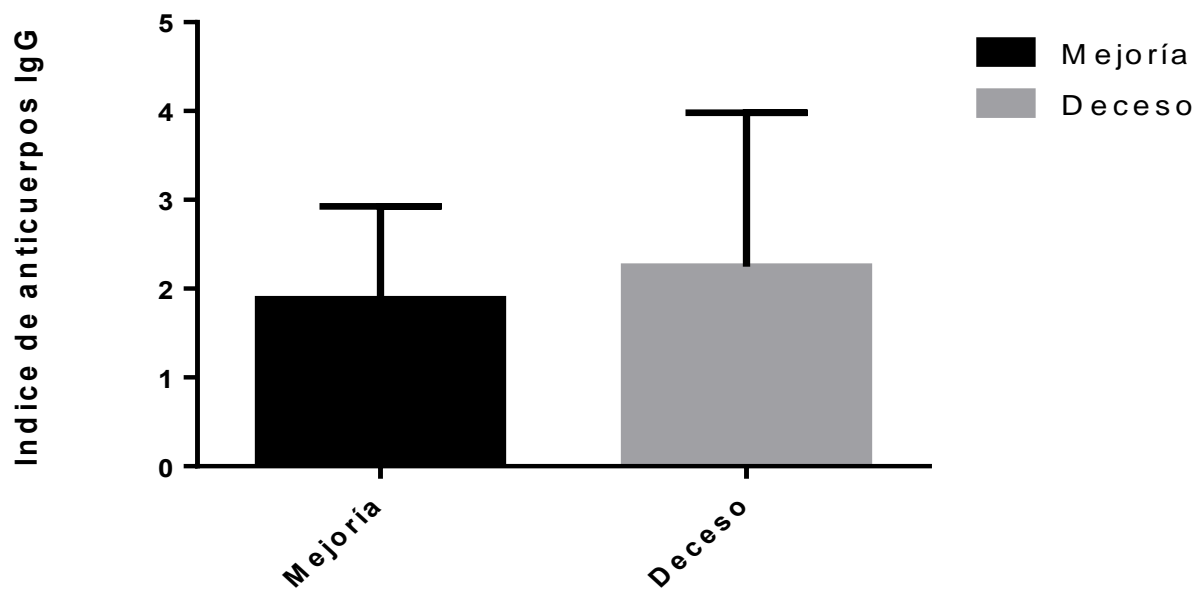
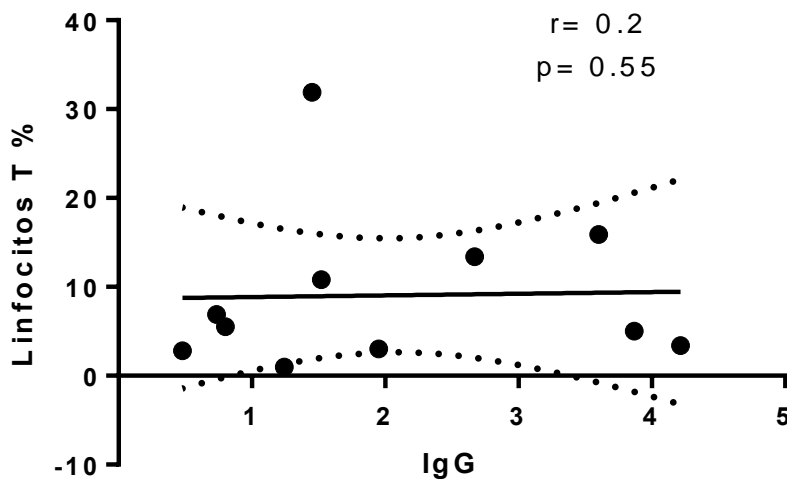


Figura 2. Determinación de anticuerpos del serotipo IgG en pacientes COVID-19. Se muestra el índice de anticuerpos para el serotipo IgG totales en pacientes COVID-19, dividiendo la población en aquellos que mejoraron y los que tuvieron desenlace fatal. Prueba T de student seguida por Mann-Whitney.

Se sabe que las células T son capaces de desencadenar una mejor respuesta de anticuerpos, y se relacionan directamente con la presentación del antígeno por parte de las células B productoras de anticuerpos, es por esto que se realizó una correlación de Spearman que nos indica si las células T estarían influyendo en la producción de anticuerpos IgG (Fig.3), debido a que estos pacientes cuentan con menor numero de linfocitos totales en su recuento laboratorial, no obstante no se encontró dicha correlación entre estas variables.



Como parte importante de la protección contra el virus SARS-CoV-2 es la respuesta mediada por anticuerpos, es una de las más estudiadas pero también incierta, ya que no se sabe la duración de esta respuesta y que pasa con los pacientes que fallecen o que llegan a hospitalizarse por la presentación de la enfermedad, se relaciona que una baja cantidad de anticuerpos implica una baja protección y un desenlace no favorable para el paciente; nosotros realizamos una asociación sobre los índices de anticuerpos IgG de los pacientes con el desenlace de la enfermedad, comparamos estos dos grupos estadísticamente y sacamos el coeficiente de Cohen's que nos indica si los anticuerpos influyen directamente en el desenlace fatal de los pacientes (Tabla 2), encontramos que esta influencia es muy pequeña con un coeficiente de 0.259, para considerarse grande o importante debería ser mayor a 0.8.

Tabla 2. Tamaño del efecto de anticuerpos IgG con el desenlace de la COVID-19.

Pacientes	Media	Desviación estándar	t-Student	<i>p</i>	Cohen
Recuperados	1.88	1.04	0.437	0.121	0.259
Decesos	2.24	1.73			

Discusión

En todos los estudios sobre pacientes hospitalizados por COVID-19 reportan una linfopenia generalizada de números absolutos, con elevados neutrófilos, lo cual también ocurre en nuestro estudio. Las diferencias en los subtipos de linfocitos T se ha realizado entre los diferentes estadios de la COVID, graves y críticos (18,19), incluso se quieren considerar como marcadores de predicción en el desenlace de la enfermedad. Los linfocitos CD4 como biomarcador de admisión en unidad de cuidados intensivos (20), y los CD8 para predecir mortalidad (21), en nuestro caso se realizó con el desenlace de la enfermedad no obteniendo alguna diferencia significativa; una limitante del trabajo es la cantidad de pacientes integrados y la cohorte que se manejó, como perspectiva podríamos incluir una n poblacional mayor y agregar pacientes en estadio crítico para obtener resultados similares a los demás estudios, así como encontrar otras variables en la clínica que elucidaran el papel de los linfocitos T en el desarrollo y evolución de la enfermedad

Como ya se ha reportado, los niveles de células T CD8 + se correlacionan negativamente con los indicadores inflamatorios VSG, PCR e IL-6, mientras que la relación CD4 + / CD8 + se correlacionó positivamente. Los niveles de linfocitos totales y linfocitos T CD4 + se asociaron negativamente con la VSG. Estos hallazgos indican un cambio más obvio en las células T CD8 + que en otros subconjuntos de linfocitos después de la infección por SARS-CoV-2 (13). Sin embargo, una limitante de nuestro estudio fue la falta de comparación con otros parámetros bioquímicos que se han visto asociados a la gravedad de la enfermedad. Sí bien, los niveles de linfocitos y sus subpoblaciones no mostraron relación con la mortalidad, podrían ser un predictor potencial de la gravedad de la enfermedad al asociarse con otros parámetros bioquímicos en futuros estudios.

Este nuevo patógeno nos ha venido a enseñar cosas que se desconocían o quedan fuera de las definiciones de la inmunopatología conocida, como el caso de la respuesta de anticuerpos. La producción de anticuerpos IgM, IgA e IgG contra las diferentes proteínas de SARS-CoV-2 se ha observado a partir del tercer día de la aparición de síntomas y al onceavo día después de la infección, siendo los anticuerpos del tipo IgG perdurables hasta ocho meses. Mas del 90% de los pacientes infectados seroconvierten de manera simultánea para IgM e IgG a los 7 días de inicio de síntomas (22). En nuestro estudio la determinación de las inmunoglobulinas se realizó al ingreso hospitalario sin tomar en cuenta los días de evolución de la enfermedad, por lo que valdría la pena en un futuro determinar de forma estandarizada en que día posterior al inicio

de los síntomas se debe realizar la toma de anticuerpos e incluso hacer determinaciones seriadas para ver si cambia en el tiempo de acuerdo al estado clínico del paciente y si esto tiene relación con el desenlace de la enfermedad. Hasta ahora, no se ha encontrado correlación con la cantidad de anticuerpos ni su capacidad neutralizante con la severidad de la enfermedad. Sin embargo, la posible inmunidad preexistente por coronavirus estacionales si se considera como determinante en la evolución de la enfermedad, como otra perspectiva en este aspecto sería correlacionar los títulos de anticuerpos con las escalas de severidad. Se han encontrado anticuerpos IgG específicos contra SARS-CoV-2 en pacientes que no han estado expuestos al virus, incluso en muestras de pacientes en años anteriores a la existencia del virus, particularmente en niños y adultos jóvenes y algunos han mostrado capacidad neutralizante. Los anticuerpos IgG contra la proteína S de SARS-CoV-2 están relacionados con la protección en futuras reinfecciones (23).

En enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso, se ha observado que al quitar las poblaciones de células T CD4+ y CD8+ la producción de anticuerpos IgG policlonales y antígeno-específicos es considerablemente disminuida, al restituir estas subpoblaciones de linfocitos T, la producción de anticuerpos vuelve a surgir en sus ensayos *in vitro* (24), lo que sugiere que la presencia de estas dos subpoblaciones son requeridas para generación de anticuerpos, en COVID-19 se observa una disminución de células T totales, de aquí el interés de correlacionar los porcentajes de células T totales con la cantidad de anticuerpos IgG para explicar una posible dependencia, que nos confirmara que esta disminución de células y subpoblaciones infieren en la disminución de la producción de anticuerpos específicos contra SARS-CoV-2, la cual no nos dio significancia estadística, cabe resaltar que los pacientes que fallecieron tenían un número superior de linfocitos totales e índices de anticuerpos más altos con respecto a los recuperados; valdría la pena incursionar en el fenómeno de potenciación dependiente de anticuerpos (ADE por sus siglas en inglés), donde se producen altas cantidades de anticuerpos que ayudan al aumento en la gravedad de la enfermedad y se han observado en otras enfermedades respiratorias virales como MERS-CoV, SARS-CoV y dengue (25-27). Una de las posibles limitantes del estudio sería la población y el índice de anticuerpos, como perspectiva tenemos el realizar títulos de anticuerpos para poder correlacionarlos con las subpoblaciones de células T.

La relación entre los anticuerpos IgG con el desenlace de la enfermedad aun no esta del todo elucidada, la mayoría de los resultados son inconclusos, no se encuentran diferencias entre los recuperados y los fallecidos al igual que nuestro estudio,

sin embargo, en estudios más profundos si observan una atenuación en la respuesta de IgG por un Fc γ comprometido, resaltando una respuesta humoral deficiente en pacientes críticos (28). En contraste, pacientes con estadio grave exhiben respuestas tardías, estos datos en general destacan trayectorias diferentes para la respuesta humoral asociada con la resolución de la enfermedad y a la necesidad de una respuesta de anticuerpos temprana y funcional.

Al tratar de asociar los índices de anticuerpos con el desenlace de los pacientes encontramos un efecto pequeño, que además no es significativo, faltaría profundizar molecularmente en este aspecto, realizar determinaciones de anticuerpos en diferentes etapas de la enfermedad, así como realizar pruebas de funcionalidad y neutralización para concluir acertadamente esta correlación.

Conclusión

No se observaron diferencias estadísticas en la relación de los linfocitos T y las subpoblaciones CD4+ y CD8+ con respecto al desenlace de la enfermedad ni a la producción de anticuerpos. Los niveles de anticuerpos de clase IgG al ingreso hospitalario no tienen relación con el desenlace de la COVID-19 y no son útiles como predictores de mortalidad.

Referencias

1. Velavan TP, Meyer CG. The COVID-19 epidemic. *Trop Med Int Health* 2020;25:278-80.
2. Wu D, Wu T, Liu Q, Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *Int J Infect Dis* 2020.
3. Liu J, Zheng X, Tong Q, et al. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020.
4. Chan JF, Yuan S, Kok KH, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 2020;395:514-23.
5. Zhou F. Articles1054 www.thelancet.com Vol 395 March 28, 2020 Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395:1054-62.
6. Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, et al. World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *Int J Surg* 2020;76:71-6.
7. Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 2005;436:112-6.
8. Imai Y, Kuba K, Penninger JM. The discovery of angiotensin-converting enzyme 2 and its role in acute lung injury in mice. *Exp Physiol* 2008;93:543-8.
9. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol* 2017;39:529-39.
10. Kindler E, Thiel V. SARS-CoV and IFN: Too Little, Too Late. *Cell Host Microbe* 2016;19:139-41.
11. Wong CK, Lam CW, Wu AK, et al. Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clin Exp Immunol* 2004;136:95-103.
12. Wong RS. Haematological manifestations in patients with severe acute respiratory syndrome: retrospective analysis. *BMJ* 2003; 326:1358-62.
13. Wang F., Characteristics of Peripheral Lymphocyte Subset Alteration in COVID-19 Pneumonia, *The Journal of Infectious Diseases*, 2020;XX:1-8
14. Schmidt ME. The CD8 T cell response to respiratory virus infections. *Front Immunol* 2018; 9:678
15. Soresina A., Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. *Pediatr Allergy Immunol.* 2020;31:565-569.
16. Arvin, A.M. (2020). A perspective on potential antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2. *Nature* 584, 353-363.
17. Secchi, M (2020). COVID-19 survival associates with the immunoglobulin response to the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain. *J. Clin. Invest.* 130, 6366-6378.
18. Henry BM, de Oliveira MHS, Benoit S, Plebani M, Lippi G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2020;58(7):1021-1028. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0369>.
19. Ermali M, Khalsa RK, Pillai K, Ismail Z, Harky A. The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19 - A systematic review. *Life Sci* 2020;254:117788. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117788>.
20. Chen J, Qi T, Liu L, Ling Y, Qian Z, Li T, Li F, Xu Q, Zhang Y, Xu S, et al. Clinical progression of patients with COVID-19 in Shanghai, China. *J Infect* 2020;80(5):e1-e6
21. Du RH, Liang LR, Yang CQ, Wang W, Cao TZ, Li M, Guo GY, Du J, Zheng CL, Zhu Q, et al. Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: A prospective cohort study. *Eur Respir J* 2020;55(5):2000524. <https://doi.org/10.1183/13993003.00524-2020>.
22. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, Grifoni A, Ramirez SI, Haupt S, Frazier A, Nakao C, Rayaprolu V, Rawlings SA, Peters B, Krammer F, Simon V, Saphire EO, Smith DM, Weiskopf D, Sette A, Crotty S. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33408181; PMCID: PMC7919858.
23. Yuen C-K, Lam J-Y, Wong W-M, Mak L-F, Wang X, Chu H, et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. *Emerging Microbes & Infections*. 2020 Jan 1;9(1):1418-28.
24. Linker-Israeli M, Quismorio FP Jr, Horwitz DA. CD8+ lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus sustain, rather than suppress, spontaneous polyclonal IgG production and synergize with CD4+ cells to support autoantibody synthesis. *Arthritis Rheum*. 1990 Aug;33(8):1216-25. doi: 10.1002/art.1780330823. PMID: 1975176.

25. Hohdatsu, T. et al. Antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline alveolar macrophages and human monocyte cell line U937 by serum of cats experimentally or naturally infected with feline coronavirus. *J. Vet. Med. Sci.* 60, 49–55 (1998).
26. Dejnirattisai, W. et al. Cross-reacting antibodies enhance dengue virus infection in humans. *Science* 328, 745–748 (2010).
27. Sridhar, S. et al. Effect of dengue serostatus on dengue vaccine safety and efficacy. *N. Engl. J. Med.* 379, 327–340 (2018).
28. Zohar T, Loos C, Fischinger S, Atyeo C, Wang C, Slein MD, Burke J, Yu J, Feldman J, Hauser BM, Caradonna T, Schmidt AG, Cai Y, Streeck H, Ryan ET, Barouch DH, Charles RC, Lauffenburger DA, Alter G. Compromised Humoral Functional Evolution Tracks with SARS-CoV-2 Mortality. *Cell.* 2020 Dec 10;183(6):1508-1519.e12. doi: 10.1016/j.cell.2020.10.052. Epub 2020 Nov 3. PMID: 33207184; PMCID: PMC7608014.

Anexos

Anexo 1. Carta de consentimiento informado



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**Carta de consentimiento informado para participación en
protocolos de investigación (adultos)**

Nombre del estudio:	“Asociación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y los niveles séricos de IgG con el desenlace de COVID-19”
Patrocinador externo (si aplica):	NO APLICA
Lugar y fecha:	
Número de registro institucional:	
Justificación y objetivo del estudio:	<p>A usted se le invita a participar en este estudio por que cumple con los criterios de inclusión, que dentro de ellos es presentar la enfermedad COVID-19, generada por el virus SARS-CoV2 (Coronavirus).</p> <p>Nuestro objetivo es conocer si un tipo de células de defensa (linfocitos T) y los niveles de anticuerpos llamados IgG (unas moléculas que se elevan durante la infección), se asocian con el desenlace de la enfermedad.</p> <p>Al igual que usted, otras personas más serán invitadas a participar. Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Por favor lea la información que le proporcionamos, y haga las preguntas que desee antes de decidir si desea o no participar.</p>
Procedimientos:	<p>Si usted acepta participar ocurrirá lo siguiente:</p> <p>Le pediremos que nos permita tomarle de su brazo dos muestras de sangre, una al inicio de su evaluación por el servicio de emergencia/urgencias. La cantidad de sangre que le tomaremos en cada ocasión equivale a una cucharada sopera regular (6mL). También requerimos que nos otorgue autorización para tomar algunos datos de su expediente clínico que nos permitan saber detalles del proceso infeccioso.</p> <p>De cada una la muestra de sangre, tomaremos una pequeña parte y la pondremos en contacto con moléculas (anticuerpos sintéticos) que al unirse o no a las células (linfocitos) en su sangre indican el tipo de célula, conjuntamente, se medirán la cantidad de anticuerpos que ha producido en respuesta a la infección.</p>
Posibles riesgos y molestias:	<p>Dolor o moretón en el brazo donde entra la aguja para tomar la sangre. En este estudio más allá del dolor mínimo asociado con la toma de sangre, las molestias son la recopilación de la información mediante el cuestionario y la toma de signos vitales. La información recopilada de su expediente clínico será tomada bajo absoluta reserva y no se manipularán sus datos personales ya que no son necesarios para el análisis.</p>
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	<p>Aunque directamente no obtendrá ningún beneficio de los datos obtenidos, estos permitirán verificar si la respuesta inmune mediadas por células pueden o no servir como indicadores de los pacientes a complicarse o resolver más rápido la enfermedad y orientar la vigilancia selectivamente en un futuro para otras personas que lleguen a padecer de COVID-19 o enfermedades parecidas.</p>
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	<p>Usted recibirá el tratamiento adecuado para resolver la infección respiratoria que padece, independientemente que resulte ser por COVID-19 u otro agente infeccioso diferente a SARS CoV2, en el remoto caso de presentarse complicaciones asociadas a su participación en el presente estudio, el IMSS otorgará y cubrirá todas las atenciones requeridas.</p> <p>Si a Usted le interesan conocer sus resultados de lo que analizamos de su sangre y células de defensa, puede contactar al responsable del proyecto, el Dr. Constantino III Roberto López Macías al teléfono 55 56 276900 ext. 21476</p>
Participación o retiro:	<p>Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo la atención médica brindada por el IMSS, se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS. Es decir, que, si usted no desea participar en el estudio, su decisión, no afectará su relación con el IMSS y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del IMSS. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted</p>

puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como paciente atendido en el IMSS. Para los fines de esta investigación sólo utilizaremos la información que usted nos ha brindado desde el momento en que acepto participar y hasta el momento en el cual nos haga saber que ya no desea participar.

Privacidad y confidencialidad:

La información que obtengamos de su expediente clínico será guardada de manera confidencial, para garantizar su privacidad. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será protegida y ocultada. Para proteger su identidad le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos.

Declaración de consentimiento:

Después de haber leído y habiéndome explicado todas mis dudas acerca de este estudio:

No acepto participar en el estudio.

Si acepto participar y que se tome la muestra solo para este estudio.

Si acepto participar y que se tome la muestra para este estudios y estudios futuros, conservando su sangre hasta por seis meses tras lo cual se destruirá la misma.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigadora o Investigador Responsable: Dra. Dr. Constantino III Roberto López Macías, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica Hospital de Especialidades, CMNN "Siglo XXI", IMSS
Teléfono. 55 56 276900 ext. 21476

Colaboradores: Dra. Alejandra Yarensy Macías Gutiérrez, Teléfono: 449 210 96 40

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comité Local de Ética de Investigación en Salud del CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, correo electrónico: comité.eticainv@imss.gob.mx

Nombre y firma del participante

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio.

Clave: 2810-009-013

Anexo 2. Hoja de recolección de datos

Nombre del paciente							
Número de afiliación							
Teléfono							
Edad							
Género		Masculino		Femenino			
Peso (kg)							
Talla (m)							
Comorbilidades	Comorbilidades (Índice de Charlson)						
	Diabetes	Si (1)	No (0)	Hipertensión Arterial	Si (1) No		
	Complicación crónica de DM	Si (1)	No (0)	Dislipidemia	Si (1) No		
	Enfermedad arterial periférica	Si (1)	No (0)	Insuficiencia cardiaca IV	Si (1) No		
	Enfermedad vascular cerebral	Si (1)	No (0)	Cardiopatía isquémica /IAM	Si (1) No		
	Demencia	Si (1)	No (0)	Insuficiencia renal crónica	Si (1) No		
	Epilepsia	Si (1)	No (0)	Insuficiencia hepática aguda	Si (1) No		
	Enf. Tejido conectivo	Si (1)	No (0)	Cirrosis hepática	Si (1) No		
	Hipotiroidismo	Si (1)	No (0)	Lupus	Si (1) No		
	inmunosupresión	Si (1)	No (0)	infección VIH /SIDA	Si (1) No		
	RCP previo a ingreso	Si (1)	No (0)	EPOC	Si (1) No		
	Linfoma	Si (1)	No (0)	Leucemia	Si (1) No		
	Tumor solido	Si (1)	No (0)	Úlcera gastroduodenal	Si (1) No		
	Tabaquismo	Si (1)	No (0)	Exposición humo	Si (1) No		
	Medicación Crónica						
Diagnóstico de ingreso							
Fecha ingreso a TRIAGE							
Fecha de ingreso a unidad COVID							
Fecha de inicio de síntomas							
Síntomas iniciales		Si	No		Si		
Otros síntomas	Fiebre			Fatiga			
	Disnea			Diarrea			
	Tos			Náuseas			
	Rinorrea			Hiposmia/anosmia			
	Expectoración			Artralgias			
	Mialgias			Cefalea			
	Artralgias			Dolor torácico			
	Disgeusia			Otros, especifique			
Laboratorios	Parámetro		Ingreso		Días 3-7		Día
	Hemoglobina						
	Leucocitos totales						
	Linfocitos totales						
	Neutrófilos totales						
	Plaquetas						
	Creatinina						
	Glucosa						
	Bilirubinas totales						
	DHL						
	Proteína C reactiva						
	Procalcitonina						
	Dímero D						
	Fibrinógeno						
	CK total						
Uresis (ml/kg/hora)							
Lactato							

Anexo 3. Carta de Bioseguridad

Anexo 4. Carta de Bioseguridad

CARTA DE ANUENCIA POR EL COMITÉ DE BIOSEGURIDAD PARA EFECTUAR EL ESTUDIO, CON IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD

Quien suscribe Dr. Constantino Roberto López Macías con número de matrícula 874301, adscrito a la Unidad de Investigación Médica en Inmunología del Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez", Centro Médico Nacional "Siglo XXI", hace constar que el protocolo titulado: "Asociación de los niveles de linfocitos T en sangre periférica y los niveles séricos de IgG con el desenlace de COVID-19", del cual es responsable, TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD debido a que se trabajará con (marcar las opciones que apliquen):

- Material biológico infecto-contagioso: Tejido sanguíneo de pacientes con COVID19
- Cepas patógenas de bacterias o parásitos: _____ (bacteria o parásito) _____
- Virus: _____ (virus) _____
- Material radiactivo: _____ (radioisótopo(s)) _____
- Animales y/o células y/o vegetales genéticamente modificados: (tipo de material) _____
- Sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas: (tipo de material) _____
- Material que puede poner en riesgo la salud o la integridad física del personal de salud o los derechohabientes del IMSS o afectar al medio ambiente: _____ (tipo de material) _____
- Animales (de laboratorio, granja o vida silvestre): _____
- Trasplante de células, tejidos u órganos _____
- Terapia celular _____

Asimismo, declara que conoce, ha leído y cumplirá las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que apliquen al proyecto (consultar: "Bioseguridad en la Investigación en Salud" de la página web de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS.)

(Enlistar los documentos que apliquen):

- a) NOM-087-ECOL-SSA1-2002, aplicando todas las especificaciones descritas para la protección de los biotecnólogos ambiental-salud, ambiental-residuos peligrosos, así como el manejo y clasificación de Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos (RPBI) de manera adecuada, por lo cual esta normatividad será respetada en su totalidad en la presente propuesta de investigación.

También manifiesta que existe evidencia documental auditable de que:

- a) Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- b) Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encuentran en estado satisfactorio de operación y son adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- c) El equipo a utilizar se encuentra en estado satisfactorio de operación.
- d) Existen dispositivos personales de protección que se encuentran en estado satisfactorio de operación.
- e) Los involucrados en el proyecto, incluyendo a los estudiantes que participen en el mismo, han recibido la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.
- f) Se mantendrán las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto y que el protocolo se suspenderá en caso de haber alguna irregularidad.


Dr. Constantino Roberto López Macías
Investigador Titular D.
Unidad de Investigación Médica en Inmunología
Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS.
Tel: 56276900 ext. 21476
Correo electrónico: constantino@sminmunologia.mx; constantino.lopez@imss.gob.mx