

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA
“DR. SILVESTRE FRENK FREUND”
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**



**ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNITARIA PROTECTORA MEDIADA POR
ANTICUERPOS EN PACIENTES PEDIATRICOS
INFECTADOS CON SARS COV 2**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGÍA**

PRESENTA:

**DRA. DÉBORAH KARILÚ ESCANDÓN VELASCO
RESIDENTE DE SEGUNDO AÑO DE INFECTOLOGÍA**

TUTOR DE TESIS:

**DRA. MARIA GUADALUPE MIRANDA NOVALES
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ANÁLISIS Y SÍNTESIS DE
LA EVIDENCIA**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

HOJA RECOLECTORA DE FIRMAS

DRA ABIGAIL HERNANDEZ CABEZZA

ENCARGADA DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACION EN SALUD

UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI

DR JOSÉ GUILLERMO VÁZQUEZ ROSALES

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN INFECTOLOGÍA

UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI

DRA. MARIA GUADALUPE MIRANDA NOVALES

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ANÁLISIS Y SÍNTESIS DE LA EVIDENCIA

UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA CMN SXXI

DICTAMEN

MÉXICO
GOBIERNO DE LA REPÚBLICA



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



Dictamen de Aprobación

Miércoles, 01 de julio de 2020

Ref. 09-B5-61-2800/202000/

Dr. Constantino III Roberto López Macías
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica Siglo XXI (U INVEST MED EN
INMUNOQUIM S XXI)
Nivel Central

Presente:

Informo a usted que el protocolo titulado: **Estudio de la respuesta inmunitaria protectora mediada por anticuerpos en los pacientes infectados con SARS-CoV-2 y sus contactos cercanos, para el desarrollo inmunoterapias**, fue sometido a la consideración de este Comité Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas vigentes, con base en las opiniones de los vocales del Comité de Ética en Investigación y del Comité de Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica del IMSS, se ha emitido el dictamen de **APROBADO**, con número de registro: R-2020-785-095.

De acuerdo a la normatividad vigente, deberá informar a esta Comité en los meses de enero y julio de cada año, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo. Este dictamen sólo tiene vigencia de un año. Por lo que en caso de ser necesario requerirá solicitar una reaprobación al Comité de Ética en Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica, al término de la vigencia del mismo.

Atentamente,

Dra. María Susana Navarrete Navarro
Secretaria Ejecutiva
Comité Nacional de Investigación Científica

Anexo comentarios:
Se anexa dictamen
SNN/iah. F-CNIC-2020-129

IMSS

BIERNO DE
MÉXICO



2020
LEONA VICARIO
SECRETARÍA DE SALUD

DIRECCION DE PRESTACIONES MEDICAS
UNIDAD DE ATENCION MEDICA
COORDINACION DE UNIDADES MEDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRÍA "Dr. Silvestre Frenk Freund"
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
DIRECCION GENERAL

Ciudad de México, a 01 de Julio del 2020

Oficio N° 371101200200/DG/0221/2020

Dr. César Raúl González Bonilla
Titular de la Coordinación
de Investigación en Salud

Presente

Asunto: CARTA DE NO INCONVENIENCIA

Como Directora de la UMAE Hospital de Pediatría "Dr. Silvestre Frenk Freund", Ubicado en Av. Cuauhtémoc N° 330, Col. Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc, le manifiesto que no existe inconveniente para que pueda desarrollarse el proyecto denominado:

"Estudio de la respuesta inmunitaria protectora mediada por anticuerpos en los pacientes infectados con SARS-CoV-2 y sus contactos cercanos, para el desarrollo inmunoterapias". El cual cuenta con dictamen de aprobación por la Comisión Nacional de Investigación Científica con Número de registro R-2020-785-095

El investigador responsable de la Unidad será Dr. Constantino III Roberto López Macías, de la Unidad de Investigación en Inmunoquímica, del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, quien deberá apegarse a los lineamientos de las buenas prácticas clínicas y los códigos de ética vigentes.

Sin más por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente.

Dra. Rocío Cárdenas Navarrete
Directora de la UMAE

COLABORADORES

Dr. Constantino III Roberto López Macías
Investigador Titular D. Mat 10229469
Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica
UMAE, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel: 56 276900 ext. 21476
Correo electrónico: constantino@siminmunologia.mx ;
constantino.lopez@imss.gob.mx

Dra. Lourdes Andrea Arriaga Pizano
Investigador Asociado D
UMAE, Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.
Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.
Fax 56-27-69-15
Correo electrónico: landapi@hotmail.com

Dr. Arturo Cébulo Vázquez
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.
UMAE, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI
Tel. 56-27-69-00 ext. 21476.
Correo electrónico: cerbulo@hotmail.com

Dra. Laura Bonifaz Alfonzo
Mat 10233857
Investigador Titular D. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica.
Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel. 56-27-69-00 ext. 21370
Correo electrónico: labonifaz@yahoo.com

Dra. Tania Rivera Hernández
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica. UMAE, Hospital de
Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel. 56-27-69-00 ext. 21476
Correo electrónico: tania.riverahernandez@gmail.com

Dra. Ruth Lizzeth Madera Sandoval
Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica. UMAE, Hospital de
Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tel. 56-27-69-00 ext.
21476. ruthmaderas@hotmail.com

Dr. Horacio Zamudio-Meza

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica
UMAE, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS.
Tel: 56 276900 ext. 21476
Correo electrónico: drhzamudio@gmail.com

MAD. Oscar Arteaga Ruiz
Químico. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica. UMAE, Hospital de
Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI
Tel. 56-27-69-00 ext. 21476. Correo electrónico oscarteaga@yahoo.com

M. en C. Luis Alberto Ontiveros Padilla
Estudiante de Doctorado. Facultad de Química UNAM. Unidad de Investigación
Médica en Inmunoquímica. Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional
Siglo XXI. IMSS. Tel. 56-27-69-00 ext. 21476 Correo electrónico
luisalberto.ontiveros.p@gmail.com

Biol. Stephanie Saint Remy Hernández
Estudiante del programa de Maestría en Ciencias Escuela Nacional de Ciencias
Biológicas-IPN. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica. Hospital de
Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tel. 56-27-69-00 ext.
21476
stephi_saint_remy@hotmail.com

Biol. Diana Laura Pacheco Olvera
Estudiante del programa de Maestría en Ciencias Escuela Nacional de Ciencias
Biológicas-IPN. Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica. Hospital de
Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tel. 56-27-69-00 ext.
21476
diana.laura.pacheco@gmail.com

Silvia Vanessa Arredondo Rivero
Estudiante de Maestría. Facultad de Química UNAM. Unidad de Investigación
Médica en Inmunoquímica. Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional
Siglo XXI. IMSS. Tel. 56-27-69-00 ext. 21476
vanessa.rivero.207@gmail.com

INDICE

HOJA RECOLECTORA DE FIRMAS	2
DICTAMEN	3
COLABORADORES	5
RESUMEN	8
ABSTRACT.....	9
DATOS DE TESIS	10
ANTECEDENTES.....	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	13
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	14
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVOS	14
METODOLOGÍA.....	15
PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	18
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
ASPECTOS ÉTICOS	20
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD	22
RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.....	24
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	36
CONCLUSIONES.....	39
REFERENCIAS	40
ANEXOS	42

RESUMEN

Antecedentes: Distintos estudios realizados durante esta pandemia han demostrado que la gran mayoría de pacientes con COVID-19 generan una fuerte respuesta de anticuerpos en contra del virus SARS-CoV-2, en particular dirigida hacia la proteína N, la proteína S, y el dominio de unión (al receptor) de la misma

Objetivo: Caracterizar la respuesta de anticuerpos protectores contra el virus SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos infectados por SARS CoV 2. **Metodología:** Estudio descriptivo, longitudinal, prospectivo. Se realizaron dos determinaciones anticuerpos neutralizantes contra SARS CoV 2, la primera entre 1 y 3 meses a partir de la prueba positiva, y una segunda entre los 6 y 8 meses, así como serología en la primera muestra, en pacientes menores de 18 años diagnosticados con infección por SARS-CoV-2 en el Hospital de Pediatría de CMN SXXI. **Resultados:** Entre abril del 2020 y diciembre del 2021, se tomaron muestras a 62 pacientes, 32 hospitalizados y 30 ambulatorios. Los anticuerpos neutralizantes en la primera muestra reportaron RIQ entre 1.99 Log^{10} y 1.57 Log^{10} y MGT 1.50 Log^{10} , en la segunda se registró un RIQ entre de 1.99 Log^{10} y 1.81 Log^{10} MGT 1.89 Log^{10} . Se observó que los anticuerpos neutralizantes, entre hospitalizados y ambulatorios fueron similares (MGT 1.48 Log^{10} vs 1.60 Log^{10}). Al clasificarlos por grupo etario se encontró que son superiores en lactantes (MGT 1.76 Log^{10}) y al estratificarlos por gravedad, se registró la mayor magnitud en enfermedad severa (MGT 1.67 Log^{10}). La serología de 25 pacientes en la primera muestra reportó que 76% del total de pacientes presentó IgG o IgM positivas, 60% presentaba ambas positivas y en seis pacientes el resultado fue negativo. **Conclusiones:** Hasta un 76% de los pacientes presentan serología positiva a 4 semanas de la infección por SARS-CoV-2. La inmunidad mediada por anticuerpos persiste e incrementa por 6 meses. La inmunidad se relaciona de manera proporcional a la gravedad de la enfermedad y de manera inversamente proporcional a la edad.

Palabras clave: SARS CoV 2, COVID 19, anticuerpos neutralizantes, respuesta inmunitaria contra COVID 19 en niños.

ABSTRACT

Background: Different studies carried out during this pandemic have shown that the vast majority of patients with COVID-19 generate a strong antibody response against the SARS-CoV-2 virus, in particular directed towards protein N, protein S, and the binding domain (to the receptor). **Objective:** To characterize the response of protective antibodies against the SARS-CoV-2 virus in pediatric patients infected by SARS CoV 2. **Methodology:** Descriptive, longitudinal, prospective study. Two neutralizing antibody determinations against SARS CoV 2 were carried out, the first between 1 and 3 months from the positive test, and a second between 6 and 8 months, as well as serology in the first sample, in diagnosed patients under 18 years of age. with SARS-CoV-2 infection at the Hospital de Pediatría de CMN SXXI. **Results:** Between April 2020 and December 2021, samples were taken from 62 patients, 32 hospitalized and 30 outpatients. Neutralizing antibodies in the first sample reported IQR between 1.99 Log10 and 1.57 Log10 and MGT 1.50 Log10, in the second an IQR between 1.99 Log10 and 1.81 Log10 MGT 1.89 Log10 was recorded. It was observed that the neutralizing antibodies between hospitalized and ambulatory patients were similar (MGT 1.48 Log 10 vs 1.60 Log10). When classifying them by age group, it was found that they are higher in infants (MGT 1.76 Log10) and when stratifying them by severity, the highest magnitude in severe disease was recorded (MGT 1.67 Log10). The serology of 25 patients in the first sample reported that 76% of all patients presented positive IgG or IgM, 60% presented both positive and in six patients the result was negative. **Conclusions:** Up to 76% of patients present positive serology 4 weeks after SARS-CoV-2 infection. Antibody-mediated immunity persists and increases for 6 months. Immunity is related proportionally to the severity of the disease and inversely related to age.

Keywords: SARS CoV 2, COVID 19, neutralizing antibodies, immune response against COVID 19 in children.

DATOS DE TESIS

Datos del alumno	
(Autor)	
Apellido paterno Apellido materno Nombre Teléfono Universidad Facultad Carrera Número de cuenta	Escandón Velasco Déborah Karilú 961 132 73 18 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Especialidad en Infectología 517234406
DATOS DEL ASESOR	
Apellido paterno Apellido materno Nombre	Miranda Novales María Guadalupe
DATOS DE LA TESIS	
Título Número de páginas Año Registro	ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNITARIA PROTECTORA MEDIADA POR ANTICUERPOS EN PACIENTES PEDIATRICOS INFECTADOS CON SARS COV 2 51 2021 R - 2020 - 785 - 095

ANTECEDENTES

El 28 de febrero del 2020 se confirmó en México el primer caso de COVID-19. Hasta el 15 de octubre de 2021, se habían confirmado 3,749,860 casos positivos y 284,008 muertes, con una tasa de incidencia de casos acumulados de 2907.5 por cada 100,000 habitantes¹

Hasta la fecha a nivel mundial poco se conoce si la infección por SARS-CoV-2 induce inmunidad, tampoco se conocen las características de la respuesta inmunitaria protectora ni su duración. Una de las ramas efectoras importantes para la generación de inmunidad de larga duración contra patógenos y en especial contra los virus es la respuesta de anticuerpos. Sin embargo, no todos los anticuerpos que se generan en respuesta a una infección viral son capaces de inducir protección. No se conocen las características de la respuesta de anticuerpos protectora contra el virus SARS-CoV-2, es por tanto fundamental, investigar la correlación de la respuesta de anticuerpos con la inmunidad en contra de la infección y la duración de dicha respuesta, para así conocer el estado de inmunidad poblacional, y poder guiar el proceso de desarrollo de vacunas y otras inmunoterapias.

Distintos estudios realizados durante esta pandemia han demostrado que la gran mayoría de pacientes con COVID-19 generan una fuerte respuesta de anticuerpos en contra del virus SARS-CoV-2, en particular dirigida hacia la proteína N, la proteína S, y el dominio de unión (al receptor) de la misma^{2,3,4}. Algunos estudios reportan que la respuesta es medible tan temprano como 3 días después de la aparición de los síntomas; sin embargo, se ha observado que hay una gran variabilidad entre pacientes y hay quienes desarrollan dicha respuesta hasta 20 días después de la aparición de síntomas. Adicionalmente en un número muy pequeño de contactos asintomáticos con una prueba de RT-PCR negativa, se ha logrado detectar una respuesta de anticuerpos, lo que amerita una mayor investigación para conocer la respuesta de anticuerpos en dichos individuos⁴. Aún no se ha investigado a fondo si existe una posible correlación entre la respuesta de anticuerpos y la severidad de la enfermedad. Adicionalmente, aún no existen estudios donde se investigue la respuesta de anticuerpos que se genera en las poblaciones más susceptibles a complicaciones severas con COVID-19 como las personas con

hipertensión, diabetes, obesidad y adultos mayores. Se sabe que estas poblaciones pueden generar una respuesta de anticuerpos “sub-óptima”, por lo tanto, es importante saber si esto tiene alguna correlación con mayor susceptibilidad a la enfermedad.

Por otra parte, es de vital importancia investigar la duración a largo plazo de la respuesta de anticuerpos, ya que este factor será determinante en el comportamiento de la epidemia en los próximos años. Se ha observado que infecciones experimentales con el coronavirus humano 229E no genera inmunidad protectora contra re-infección a pesar de desarrollar una respuesta de anticuerpos a causa de la primera infección⁵. Por otro lado, pacientes que fueron infectados con SARS-CoV aún cuentan con anticuerpos circulantes hasta 12 años después de haber sufrido la infección⁶, aunque no se sabe si dichos anticuerpos tienen capacidad neutralizante contra el virus o son protectores contra la infección. Dilucidar estos detalles acerca de la infección por SARS-CoV-2 será útil para determinar si una persona ya recuperada cuenta con inmunidad y por lo tanto puede incorporarse a sus actividades normales aún cuando la pandemia continúa.

La identificación de anticuerpos funcionales derivados de infección por patógenos tiene potencial para el desarrollo de inmunoterapias. Dichos anticuerpos una vez identificados pueden ser producidos de manera monoclonal, y usados para tratar enfermedades infecciosas para las cuales no existen vacunas o tratamientos. Los anticuerpos monoclonales han sido particularmente útiles para combatir enfermedades virales emergentes, tales como la infección por los virus de Nipah, Hendra y Ebola ^{7,8,9}. Uno de los retos para la identificación de anticuerpos con potencial terapéutico es poder identificar aquellos que sean funcionales, y una de las estrategias más utilizadas es el estudio de anticuerpos en pacientes que hayan sobrevivido a la infección. Recientemente se ha observado que algunos pacientes que sufrieron infección por SARS-CoV-2 y se recuperaron de manera exitosa, poseen en su repertorio de anticuerpos clones con alta actividad neutralizante¹⁰. Estos anticuerpos tienen un gran potencial para el desarrollo e implementación de inmunoterapias que impactarían la atención de pacientes infectados con SARS-CoV-2 y por lo tanto disminuirían la magnitud de la presente pandemia.

Por último la validación de pruebas serológicas como el sistema de microchip, nos permite realizar el estudio de anticuerpos a nivel poblacional, lo que a su vez nos brinda una perspectiva más precisa de la proporción de individuos infectados en la población. Esto nos permitirá contabilizar casos asintomáticos que de otra forma permanecerían sin ser detectados. Una encuesta serológica amplia será la única manera de determinar la proporción de la población infectada, y de esta manera conocer los índices de letalidad y mortalidad del virus SARS-CoV-2¹¹.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hasta la fecha a nivel mundial poco se conoce si la infección por SARS-CoV-2 induce inmunidad, tampoco se conocen las características de la respuesta inmunitaria protectora ni su duración. Uno de las ramas efectoras importantes para la generación de inmunidad de larga duración contra patógenos y en especial contra los virus es la respuesta de anticuerpos, sin embargo, no todos los anticuerpos que se generan en respuesta a una infección viral son capaces de inducir protección. No se conoce las características de la respuesta de anticuerpos protectores contra el SARS-CoV-2 ni cuanto tiempo dura, tampoco si ésta respuesta correlaciona con el estado de inmunidad. Es muy importante conocer esta información ya que permitirá determinar: a) si la presencia de ciertos títulos de anticuerpos se puede utilizar como un marcador de inmunidad, b) la duración del estado inmune, c) la prevalencia de contagio, ya que permitirá determinar quienes han estado expuestos a pesar de no haber presentado síntomas, d) en las personas enfermas que se recuperen se podrá determinar el grado de inmunidad adquirida, e) en la población en general permitirá conocer quien ya ha estado expuesto y si ya se encuentra inmune para regresar a sus actividades, f) si la presencia de algún factor de riesgo personal, ambiental u ocupacional, hace diferente la respuesta inmune.

JUSTIFICACIÓN

Ante la falta de tratamientos y vacunas efectivos contra la infección por SARS-CoV-

2 es indispensable buscar alternativas terapéuticas que nos ayuden a hacer frente a la actual pandemia. Estudiando la inmunidad desarrollada a raíz de la infección en pacientes recuperados y sus contactos cercanos podemos identificar la respuesta protectora de anticuerpos y caracterizar a los mismos.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Cuáles son las características de la respuesta de anticuerpos protectores anti-SARS-CoV-2 en los pacientes pediátricos (capacidad neutralizante, clases)?
2. ¿Cuál es la correlación entre títulos de anticuerpos de unión (medidos por ELISA) con anticuerpos neutralizantes y con la inmunidad ante COVID-19?

HIPÓTESIS

La respuesta de anticuerpos neutralizantes en las personas infectadas con SARS-COV-2 correlacionará con el establecimiento y duración de la inmunidad contra COVID-19.

1. Se podrá determinar el título de anticuerpos que correlacione con la capacidad neutralizante del suero y la recuperación de los enfermos.
2. Entre el 50-70% de los contactos cercanos tendrá títulos de anticuerpos indicativos de la infección por SARS-CoV-2.
3. Mas del 50-70% de los anticuerpos contra SARS-CoV-2 tendrán capacidad neutralizante.

OBJETIVOS

Objetivo General

Caracterizar la respuesta de anticuerpos protectores contra el virus SARS-CoV-2 así como su relación con el estado de inmunidad.

Objetivos Particulares

1. Determinar la presencia y magnitud de la respuesta de anticuerpos de pacientes pediátricos
2. Determinar las características de la respuesta de anticuerpos (títulos, clases, capacidad neutralizante) anti-SARS-CoV-2 en los pacientes pediátricos.

METODOLOGÍA

Las muestras de sangre de los pacientes que serán para la obtención de suero, plasma y células. Estas muestras se utilizarán para:

- 1) Determinar los títulos de anticuerpos contra las proteínas virales.
 - a) Se realizará la prueba de ELISA contra el mismo antígeno usando kits comerciales que miden IgM e IgG
- 2) Determinar la capacidad neutralizante contra SARS-CoV-2 de anticuerpos en suero de pacientes y sus contactos.
 - a) Se establecerá el cultivo de virus infeccioso en las instalaciones BSL-3 del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.
 - b) Se estandarizarán las condiciones experimentales para llevar a cabo el ensayo de neutralización del virus SARS-CoV-2.
 - c) Se determinará la capacidad neutralizante de estos anticuerpos a través de un ensayo de neutralización del virus infeccioso en células Vero.

Diseño del Estudio

Estudio descriptivo, longitudinal, prospectivo.

Universo de trabajo

Se realizará un estudio de cohorte con los pacientes niños, que ingresen con la sintomatología asociada a COVID-19 (fiebre ≥ 38 C, tos, fatiga, cefalea, disnea) en la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Población en estudio

Se estudiarán pacientes e ingresados al Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI que decidan participar y firmen el consentimiento informado.

Muestra

La cohorte será una muestra por conveniencia, de acuerdo a la incidencia y quienes acepten participar del total de la población arriba mencionada y que firmen el consentimiento informado.

Criterios de inclusión

Pacientes pediátricos de ambos sexos, que ingresen UMAE Hospital de Pediatría del CMN SXXI que ingresen a consulta externa o que sean hospitalizados con síntomas de COVID-19, de todos los grupos se incluirán los que se corroboren mediante la prueba de RT-PCR, que deseen participar y firmen el consentimiento informado (Anexo 1).

Criterios de no inclusión

- Pacientes o representantes legales y personas que no acepten participar en el estudio.

Criterios de exclusión

- Pacientes que rechacen continuar participando en el estudio.
- Pacientes con expediente incompleto.
- Personas que no tengan completo el cuestionario y que no tengan las evaluaciones clínicas y de laboratorio completas.

Tamaño de muestra

Considerando las condiciones de la pandemia y el número de pacientes que recientemente se están diagnosticando, se considerará una muestra por conveniencia y se incluirán a todos los pacientes que cumplan los criterios de inclusión.

Procedimiento

En nuestro modelo de muestreo no probabilístico de casos consecutivos de pacientes que cumplen con los criterios de selección y que acepten participar en el estudio (o los representantes legales) mediante consentimiento informado (con firma en documento correspondiente y que en la sección de Anexos se muestra), se realizará el siguiente protocolo.

A los pacientes que cuenten con sintomatología de COVID-19, serán evaluados por los médicos encargados de Admisión Continua de Urgencias de pacientes con potencial infección por SARS-CoV2. Debido a la alta demanda de atención que generará la actual pandemia y el cambio de fases en el país, el área de Triage respiratorio los que acepten y firmen el consentimiento informado se les aplicará el cuestionario para su expediente clínico y datos.

Recolección de información

Historia clínica e información relevante sociodemográfica y características epidemiológicas (Anexo 2). Este será requisitado por el médico tratante.

Plan de análisis

Se realizará un análisis exploratorio de los datos para corregir, inconsistencias y errores de captura. Se hará el análisis univariado, para calcular medidas de tendencia central y de dispersión de las variables continuas y frecuencias simples de las variables categóricas. También se realizará el análisis de diferencias de

medias y de proporciones entre las distintas características epidemiológicas, sexo, comorbilidades, etc.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Diagnóstico molecular

Una vez hecho el diagnóstico clínico de presunción se tomará una muestra naso- y orofaríngea 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. Serán incluidos en el estudio aquellos pacientes que se ingresen a hospitalización en las unidades médicas participantes. (Ver Anexo de Flujograma de muestras COVID-19).

Obtención y procesamiento de la muestra:

Se realizará la toma de muestra de sangre por venopunción (o a través del catéter central en caso de contar con él); en tubos microtainers que permiten la obtención de 1mL de sangre; 1 tubos para extracción de sangre, sin EDTA, para obtención de suero y 2 tubos con EDTA para obtención de plasma y células. El suero y el plasma se utilizarán para la cuantificación de los títulos de anticuerpos, mientras que las células se utilizarán para la obtención de anticuerpos monoclonales. El procedimiento se realizará siguiendo los protocolos de protección para el paciente y para el personal médico. La toma de muestra se realizará a los 30 días por los médicos tratantes en la zona de contención en donde se encuentran los pacientes. Se solicitará a los pacientes recuperados muestra adicional de sangre a los 6 meses para estudiar la permanencia de los títulos de anticuerpos. Las muestras serán procesadas, alicuotadas y congeladas hasta su procesamiento en el laboratorio BSL2 y en el Biobanco de la UIMIQ.

Respuesta de anticuerpos

Se llevarán a cabo las pruebas de campo para evaluar con los sueros y plasmas para detectar la presencia de anticuerpos específicos (IgG e IgM) contra el virus SARS-CoV-2 en suero. La prueba se basa en la técnica de inmunoensayos ligado a enzima ELISA.

Determinación de anticuerpos que neutralizan al virus

Se realizará en las instalaciones de bioseguridad BSL-3 del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Se mezclan diluciones seriadas 1:2 de las muestras de suero (previamente diluidas 1:40) con un volumen igual de una solución con el SARS-CoV-2 a una concentración de 500 PFU/mL, la mezcla se incuba por 90 min a 37° C en una atmósfera con 5% de CO₂. Se transfieren 100 µL de la mezcla a una placa con una monocapa de células Vero y las placas se incuban a 37° C por 1 h. A la monocapa con el virus se le adicionan 100 µL medio DMEM con 1% de Metil-celulosa. Las placas se incuban durante 24 h a 37° C. Después de la incubación, se remueve el sobrenadante de las placas por decantación vigorosa y la monocapa de células se tiñe con una mezcla de 0.5% de cristal violeta disuelto en 5% de formaldehído, 50% de etanol, y 4.25% de NaCl. La dilución que muestra reducción a la mitad en el número de placas totales se toma como el título. Para determinar los títulos de IgG, el suero no diluido se trata con un volumen igual de una solución de 0.1 M de 2-Mercaptoetanol en medio MEM 1H, a temperatura ambiente para realizar la reducción de la IgM. Después de la reducción, la mezcla de reacción se somete a calentamiento en baño María 56°C, durante 30 min. Las muestras se utilizan de la misma forma que las muestras sin reducir.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizará estadística descriptiva con base en las variables de interés. Así para las variables categóricas se reportarán proporciones. Para variables cuantitativas discretas o continuas, se determinará la media, mediana y desviación estándar o rangos intercuartílicos según corresponda al caso. De acuerdo con su distribución

y varianza, se determinará el uso de estadísticos paramétricos o no paramétricos. El análisis comparativo entre las características sociodemográficas (hombre vs mujer), edad (categorías de edad), comorbilidades (enfermo vs no enfermo), gravedad; con el título de anticuerpos, ya sea frecuencias, medias o distribuciones de poblaciones, Los resultados se procesarán utilizando Excel el programa de análisis GraphPad Prisma y el software STATA v.14.

ASPECTOS ÉTICOS

Para la realización del presente protocolo se solicitará la aprobación por la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS. Se considera que los sujetos incluidos en este estudio tienen un riesgo mayor al mínimo, por lo que se solicitará la firma de una carta de consentimiento informado y de asentamiento 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, la Declaración de Helsinki y sus enmiendas, 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 garantiza que la información de las muestras biológicas, obtenidas de los sobrantes del laboratorio, utilizadas en este estudio no es trazable a los datos de identificación de los sujetos. Se considera que los sujetos sometidos a este estudio

se solicitará la firma de una carta de consentimiento informado antes de iniciar el mismo. La persona que solicitará dicho consentimiento será el investigador principal y/o alguno de los colaboradores que serán 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 (mayor que el mínimo).

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 realizará 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 ingresen al estudio serán tratados con apego estricto de confidencialidad, quedando prohibida la divulgación de sus datos personales y médicos. Las hojas de recolección de datos (Anexo 2) serán mantenidas en resguardo en la UMAE Hospital de Pediatría del CMN SXXI y unidades médicas participantes y únicamente serán utilizadas por los investigadores con los propósitos de la investigación en curso. Los datos obtenidos para la investigación serán anotados en la hoja de recolección de datos (Anexo 2). 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 explicará 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 Pediatría de CMN "Siglo XXI", acordes a la norma oficial mexicana vigente y la normativa del IMSS. Se seleccionarán a los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y que exenten los criterios de exclusión o eliminación.

ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

Los participantes cuentan con la capacitación adecuada para la toma, manejo, transporte, manipulación y almacenamiento de las muestras biológicas sobrantes de los laboratorios clínicos.

Se declara que se conoce, se ha leído y se cumplirán las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que apliquen al proyecto:

- a) Ley General de Salud.
- b) Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación Para La Salud.
- c) Bioseguridad en laboratorios biomédicos y microbiológicos 2009, (5ª Edición), Centro para el control y prevención de enfermedades (CDC), Institutos Nacionales de Salud, Departamento de Salud y Servicios Humanos, USA.
- d) Manual de Bioseguridad en el Laboratorio OMS (2005).
- e) Norma Oficial Mexicana NOM-087-SSA1-2002. Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
- f) OMS. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances. WHO/HSE/GCR/2015.

Transporte de muestras

Se utilizará un servicio externo de transporte de muestras de la empresa Laboratorios San Ángel, quién tiene convenio con el Laboratorio Central de Epidemiología del IMSS, la cual se rige por la guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020.

La clasificación de riesgo realizado para las muestras transportadas es la de “sustancia biológica categoría B”, por lo que se realiza un triple embalaje de acuerdo con las recomendaciones de la IATA. Este tipo de embalaje sigue las recomendaciones más estrictas para el transporte de muestras biológicas e infecciosas.

Eliminación de residuos biológicos y CRETI

De acuerdo con la reglamentación institucional y al manual interno de bioseguridad del LCE, los restos de las muestras, así como plásticos contaminados con residuos biológicos, serán eliminados en bolsa roja.

Para su eliminación se seguirá el procedimiento descrito en el manual de bioseguridad del LCE, el cual indica que se resguardarán en los contenedores apropiados hasta su retiro por parte de una empresa particular (TESSA, equipos y servicios)

La toma de muestra sanguínea para los pacientes y sus contactos cercanos la realizará 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.

Las muestras de sangre serán recolectadas en el área asignada para manejo de los pacientes con COVID-19 en los Hospitales participantes. Una vez colectadas serán colocadas en hieleras con doble embalaje, 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.

Las muestras de sangre serán obtenidas de pacientes que cumplan los criterios de selección. Todo el material punzocortante que haya sido empleado para la toma de muestras, así como el desecho de estas en el laboratorio serán 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.

Las muestras de plasma, suero y células serán almacenadas en ultracongeladores del biobanco de la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica de la UMAE Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI a -80°C hasta su procesamiento.

Los ensayos de neutralización se realizarán en la unidad BSL3 del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Estas unidades cuentan con las instalaciones, procedimientos y personal capacitado para el manejo y propagación del virus.

Este protocolo no contempla 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 explica con detenimiento en la carta de consentimiento y asentimiento.

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Los participantes en el proyecto, personal de base y médicos residentes de tienen amplia experiencia en la atención de pacientes con infecciones graves.

La Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica de la UMAE del HE del CMN

Siglo XXI, cuenta con 3 áreas de laboratorio de bioseguridad 2 para el trabajo con muestras infectocontagiosas, en ellas hay campanas de bioseguridad nivel II, centrifugas, microscopios, potenciómetro, agitadores orbitales de temperatura controlada, balanzas etc. Se cuenta con un área de Biobanco con área de recepción de muestra, área de procesamiento e inactivación de muestras, área de extracción de ácidos nucleicos, área de amplificación y área de ultracongeladores. También cuenta con área de laboratorio de bioseguridad 1 de inmunoquímica, uno de inmunología celular (con equipo para cultivo celular), un laboratorio dentro de una cámara fría, áreas convencionales para pesado y preparación de soluciones. Cuenta también con un área de lavado, acondicionamiento y despirogenización de material, autoclave. A su vez cuenta con acceso a los laboratorios de citometría, de microscopía avanzada y de secuenciación masiva del Centro de Instrumentos de la Coordinación de Investigación en Salud del IMSS, equipos que permitirán el desarrollo del proyecto. Las áreas de bioseguridad 1 y 2 tienen las condiciones para el procesamiento y manejo de las muestras, así como personal capacitado, y la instrumentación requerida para la determinación de anticuerpos. El grupo de colaboradores de la UIM en Inmunoquímica tiene amplia experiencia en la realización de análisis citómico de leucocitos humanos, como consta por los artículos publicados, cuenta con experiencia previa trabajando con coronavirus. En el 2009 trabajaron estudiando el fenómeno inflamatorio y la respuesta de anticuerpos en niños, adultos y embarazadas infectadas, así como en sus contactos cercanos. También realizaron un estudio clínico fase 2 de una vacuna contra influenza pandémica en 4550 voluntarios.

Se solicitará financiamiento en convocatorias para apoyo de protocolos de investigación en el IMSS, CONACYT e instancias internacionales para la compra de los materiales y reactivos necesarios para el proyecto.

RESULTADOS.

En un periodo comprendido entre abril del 2020 y diciembre del 2021, se tomaron muestras a 62 paciente diagnosticados con infección por SARS-CoV-2 en el hospital de Pediatría de CMN SXXI a través de realización de PCR-TR en muestras de exudado nasofaríngeo; de los cuales, 32 corresponden a pacientes hospitalizados y 30 a pacientes ambulatorios. A estos pacientes se les realizó una primera toma en un periodo comprendido entre 1 y 3 meses a partir de la prueba positiva, y una segunda entre los 6 y 8 meses de ésta.

Dentro de las características generales, se observa que el sexo predominante fue el femenino en pacientes hospitalizados y el masculino en pacientes ambulatorios. La mediana para la edad fue similar para ambos grupos, de 9 años y 10 meses en ambulatorios y 9 años 8 meses en hospitalizados. En cuanto el estado de nutrición se observa una mayor frecuencia de alteraciones en los pacientes hospitalizados tanto en desnutrición, como sobrepeso y obesidad. Observamos diferencias en cuanto a la frecuencia y naturaleza de las comorbilidades que se presentaron en ambos grupos, siendo más frecuentes en los pacientes hospitalizados, dentro de las cuales predominaron las patologías hemato-oncológicas, principalmente leucemia linfoblástica aguda (5 casos), seguidas por leucemia mieloide aguda (3 casos) y los tumores sólidos (4 casos: 2 hepatoblastomas, 1 meduloblastoma y tumor desmoplásico) (cuadro 1). Algunos pacientes presentaban más de una comorbilidad (un paciente con asma e insuficiencia arterial y uno con asma y LLA). Dentro de los pacientes ambulatorios la gran mayoría fueron previamente sanos, entre las comorbilidades observadas en este grupo, fueron cardiopatías (una atresia tricúspidea), epilepsia, parálisis cerebral infantil y acalasia.

Otro dato de relevancia fue la presentación de formas clínicas atípicas de infección por SARS-CoV-2 dentro de las cuales se encontraron cuatro casos de síndrome multisistémico inflamatorio y un paciente con encefalitis, estos casos fueron hospitalizados.

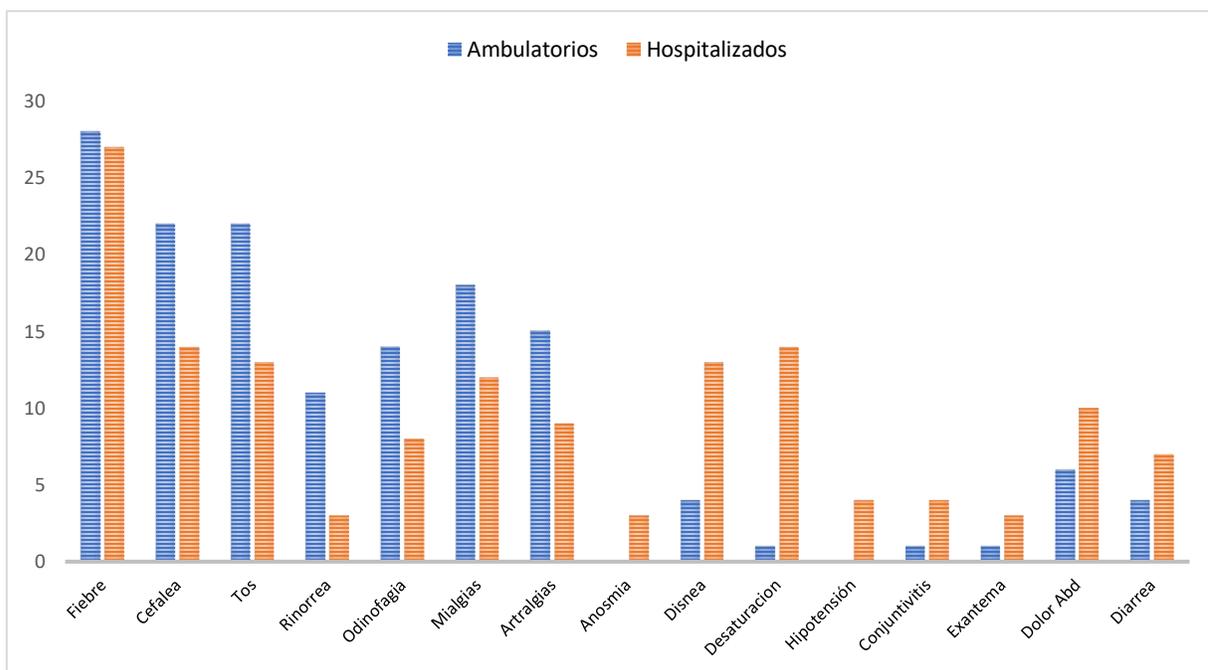
Cuadro 1. Características generales de los pacientes con infección por SARS-CoV-2.

	Hospitalizados n=32 (%)	Ambulatorios n=30 (%)	Total N=62 (%)
Sexo			
Hombres	15	17	32
Mujeres	17	13	30
Edad			
Mediana	9 años 10 meses	9 años 8 meses	9 años 8 meses
Rango intercuartílico	2 años 8 meses- 14 años	2 años 9 meses- 14 años 6 meses	2 años 4 meses- 14 años
Estado nutricional			
Normal	11	20	31
Desnutrición	3	2	5
Sobrepeso	10	6	16
Obesidad	8	2	10
Pacientes con comorbilidades	20 (32%)	4 (6.4%)	24 (38.4%)
Comorbilidades			
LLA	4	-	4
LMA	3	-	3
Tumor sólido	4	-	4
Cardiopatías	2	1	3
Asma	2	-	2
Sífilis	1	-	1
Dengue	1	-	1
Insuficiencia arterial	1	-	1
Parálisis cerebral infantil	1	1	2
Epilepsia	-	1	1
Acalasia	-	1	1
Hidrocefalia	1	-	1
Presentaciones atípicas de infección por SARS-CoV-2			
SMI*	1		
Encefalitis			

* Síndrome multisistémico inflamatorio.

Respecto a los datos clínicos al momento del diagnóstico, en el gráfico 1, se observa que la fiebre, cefalea y tos fueron los signos/ síntomas que se presentaron con mayor frecuencia en ambos grupos. En los pacientes hospitalizados fueron más frecuentes los síntomas gastrointestinales, así como desaturación y disnea que se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. En los pacientes ambulatorios, la frecuencia de mialgias, artralgias, odinofagia y rinorrea fue mayor. En pocos casos se reportaron alteraciones del olfato.

Gráfico 1. Síntomas y signos de infección por SARS-CoV-2 en pacientes hospitalizados y ambulatorios



En el grupo de hospitalizados, la mitad de los pacientes se clasificó con enfermedad leve, una tercera parte como enfermedad moderada y menos del 20% como enfermedad grave (que corresponde a 9.6% de la muestra total). Los pacientes que se hospitalizaron a pesar de clasificarse como enfermedad leve fueron debido a su enfermedad subyacente, para mantener vigilancia y detectar oportunamente complicaciones. Dieciséis pacientes ingresaron con un diagnóstico de cáncer, fiebre y neutropenia, diez se clasificaron con enfermedad moderada y seis con enfermedad severa. Respecto los días de estancia intrahospitalaria, la mediana fue de 11 días (RIQ 4.7 a 15.2 días). Con respecto al tratamiento en estos pacientes 56.2% requirieron oxígeno suplementario, 40.6 % esteroides y únicamente en cuatro casos se utilizó inmunoglobulina, los cuales correspondieron a los casos diagnosticados como síndrome multisistémico inflamatorio relacionado asociado a SARS-CoV-2. Solo se documentaron cuatro defunciones todas secundarias a patologías de base.

Cuadro 2. Características de 32 pacientes hospitalizados con COVID-19.

Días de estancia intrahospitalaria	
Mediana	11
Rangos IQ (25-75)	4.7-15.2
Clasificación de la enfermedad	N (%)
Leve	17 (51%)
Moderada	10 (30%)
Severa	6 (18%)
Tratamiento	
Oxígeno	18 (56.2%)
Gammaglobulina	4 (12.5%)
Esteroides	13 (40.6%)
Defunciones	4

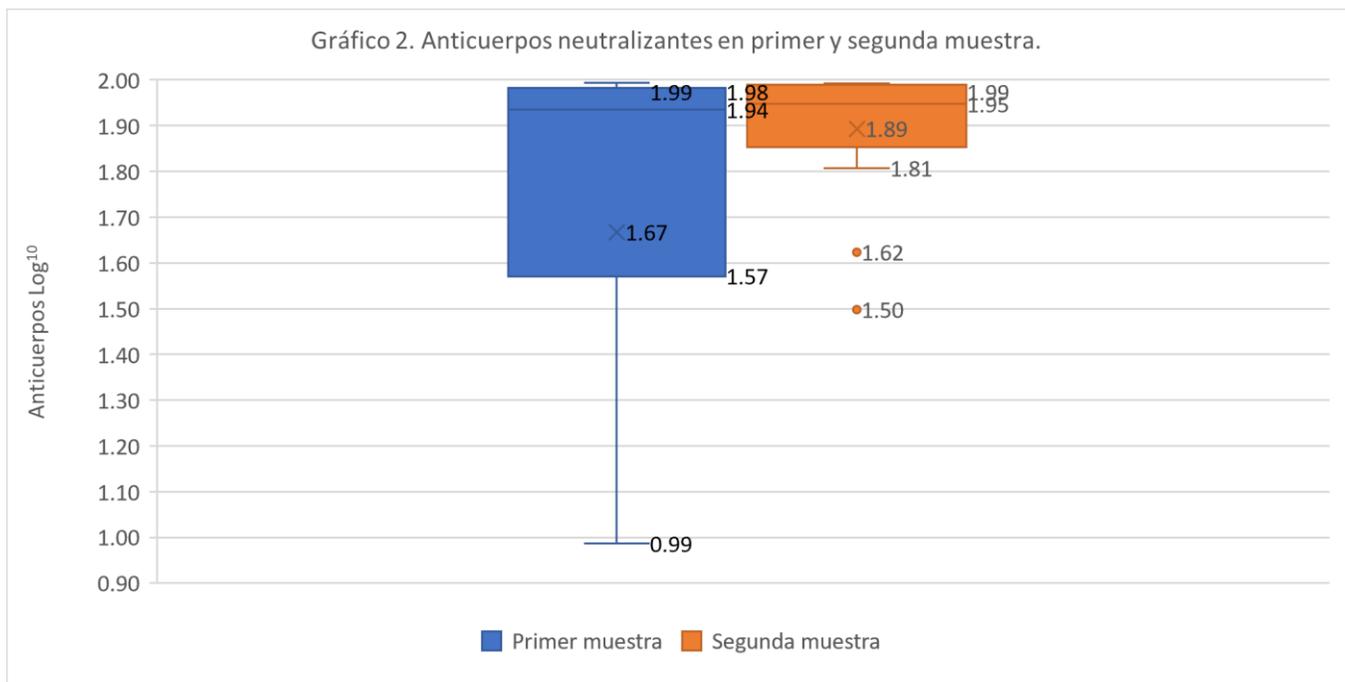
También se realizó la descripción de los laboratorios tomados al ingreso de estos pacientes, dentro de los que se consideraron de relevancia la biometría hemática, donde observamos que la principal alteración fue la linfopenia, sin embargo, hay que tomar en cuenta a los 16 pacientes que ingresaron con un episodio de fiebre y neutropenia. Respecto a los marcadores de inflamación, se observó un incremento en todos ellos, principalmente en la PCR con una media reportada en 25.7 mg/L (RIQ 7.8-56.3) y en lo que cabe a valores de la gasometría, estos permanecieron en límites normales.

Cuadro 3. Valores de los principales exámenes de laboratorio en 32 pacientes hospitalizados.

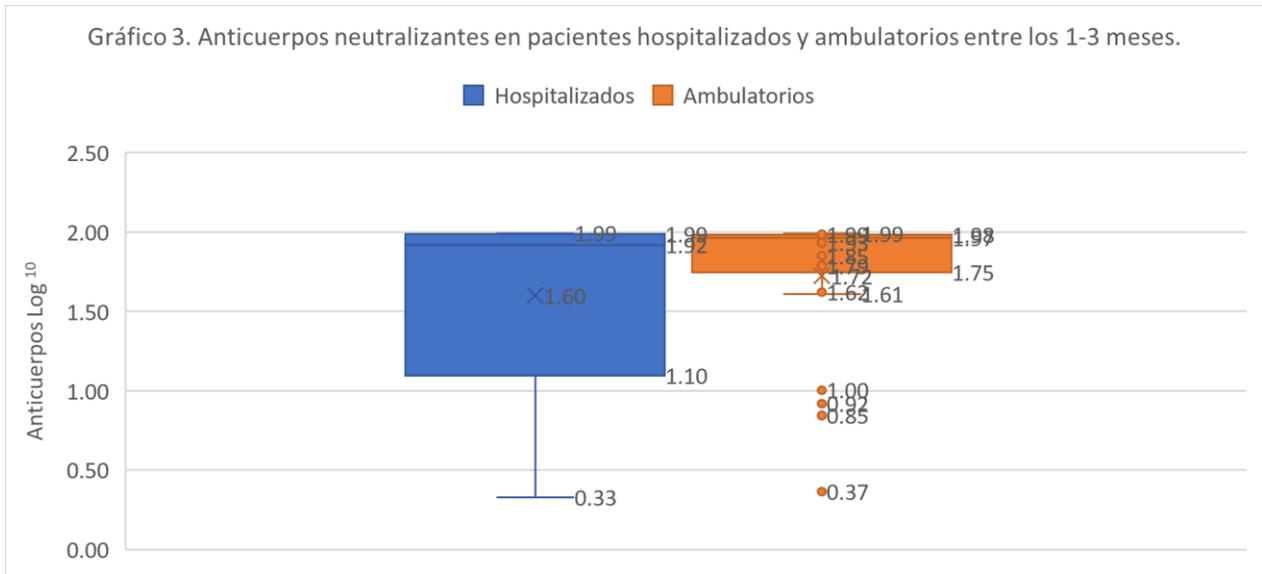
	Leu cel/mm ³	Hb g/dL	Plt cel/mm ³	Neu cel/mm ³	Lin cel/mm ³	Fer /mm ³	INR	PCR mg/L	DD mg/dL	Fib mg/dL	pH	PCO ² mmHg	PO ² mmHg	SAO ² %
Mediana	7205	13	175500	4370	1205	675.15	1.26	25.7	516.5	376	7.45	31	64	93.5
Cuartil 25	3037.5	11.07	93750	1577.5	540	419.85	1.06	7.85	287	322.5	7.42	27.5	49.25	87.5
Cuartil 75	9590	14.32	240750	7505	2277.5	1568.75	1.35	56.38	839.7	499	7.50	35.75	91.5	98

Abreviaturas: Leu: leucocitos, Hb: hemoglobina, Plt: Plaquetas, Neu: neutrófilos, Linf: linfocitos, Fer: ferritina, INR: PCR: Proteína C reactiva, DD Dímero D, Fib: fibrinógeno,

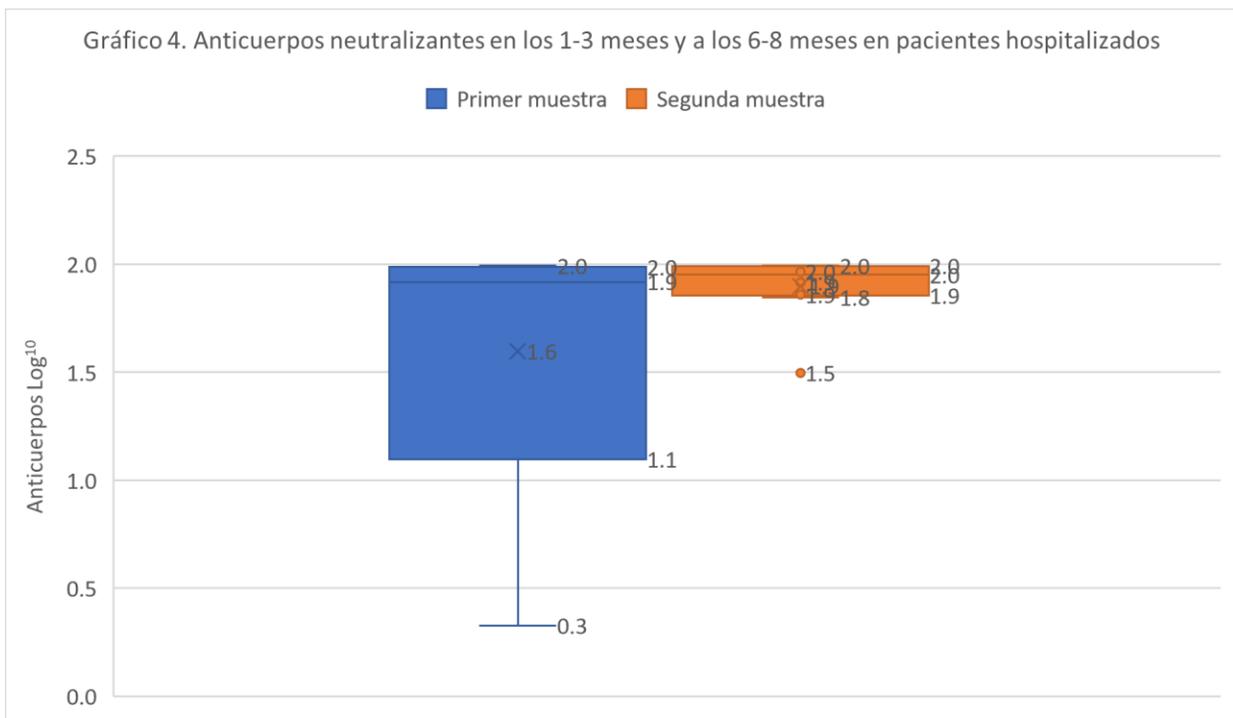
Se determinaron anticuerpos neutralizantes en la primera muestra de 62 pacientes y se realizó un control a 6 meses de la infección en 22 de los mismos. Encontramos que el primer control tomado, los rangos intercuartílicos obtenidos fueron de 1.99 Log^{10} y 1.57 Log^{10} en la primera muestra y de 1.99 Log^{10} y 1.81 Log^{10} para la segunda muestra, con una media geométrica de 1.50 Log^{10} y de 1.89 Log^{10} respectivamente. En la gráfica no. 2, se observa la distribución respecto a los cuartiles 25 y 75 así como el promedio aritmético de ambos grupos.



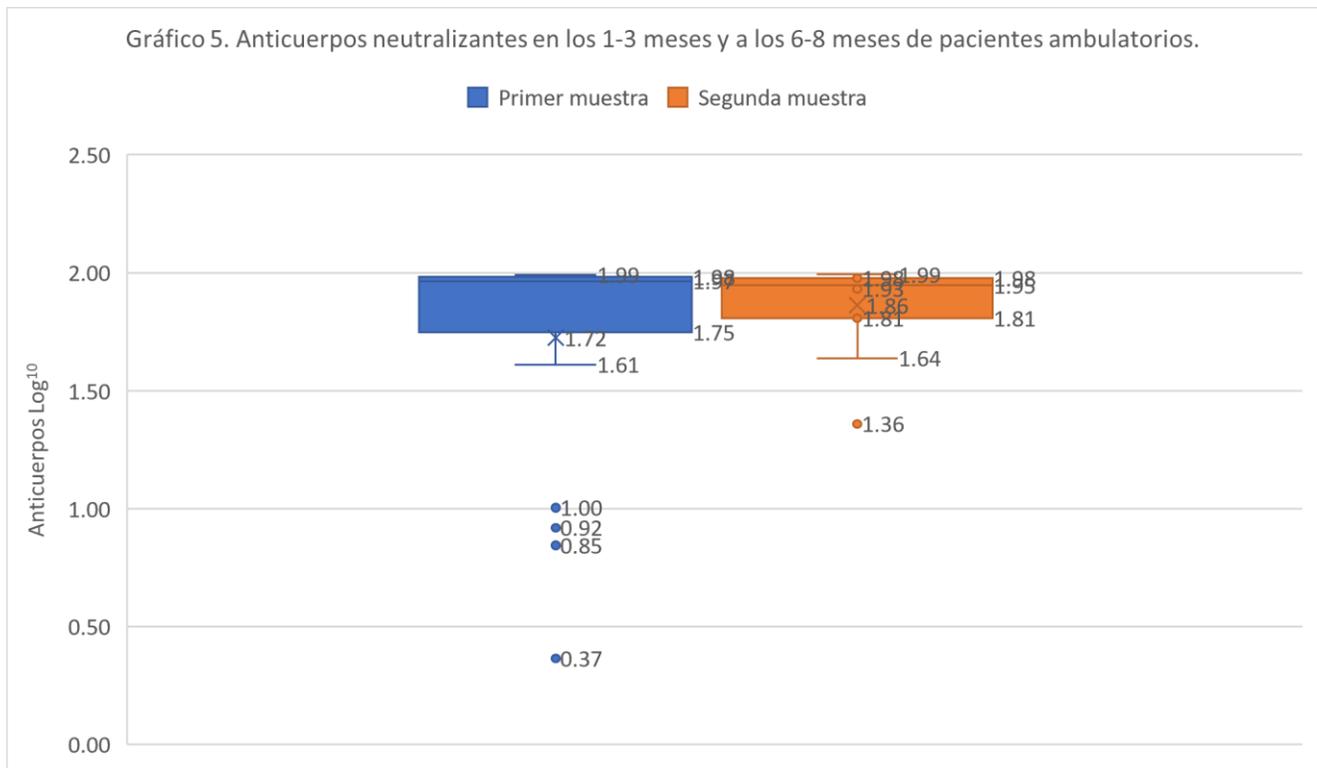
Respecto a las diferencias entre los pacientes hospitalizados y ambulatorios en los controles tomados entre el primer y tercer mes, se calcularon las medias geométricas (1.48 Log^{10} vs 1.60 Log^{10}) y aritméticas (1.60 Log^{10} vs 1.72 Log^{10}) para ambos grupos, permaneciendo similares. Sin embargo, rango distribución entre el percentil 25 y 75 que se puede observar en el siguiente gráfico que fue menos amplio en el grupo de los ambulatorios (1.99-1.10 Log^{10} vs 1.99-1.61 Log^{10}). (gráfico 3)



Al graficar a la capacidad neutralizante en diferente momento observamos que tanto en el caso de los pacientes hospitalizados se observa incremento en los valores de anticuerpos neutralizantes en la segunda muestra respecto a la primera, con una media geométrica de (1.48 Log^{10} vs 1.89 Log^{10}), media aritmética (1.60 Log^{10} vs 1.88 Log^{10}) y rangos intercuartílicos menos amplios observados en la segunda muestra. (gráfico 4)

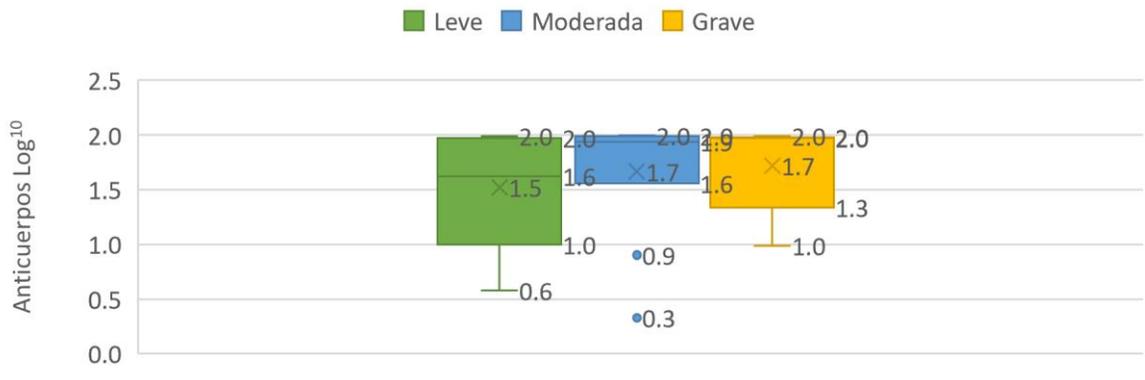


En el grupo de pacientes ambulatorios también observamos que los valores de la primera muestra son menores a los encontrados en la segunda, donde incrementan tanto la media geométrica (1.6 Log¹⁰ vs 1.85 Log¹⁰) como la aritmética (1.72 Log¹⁰ vs 1.86 Log¹⁰), sin embargo, los rangos intercuartílicos permanecen similares.



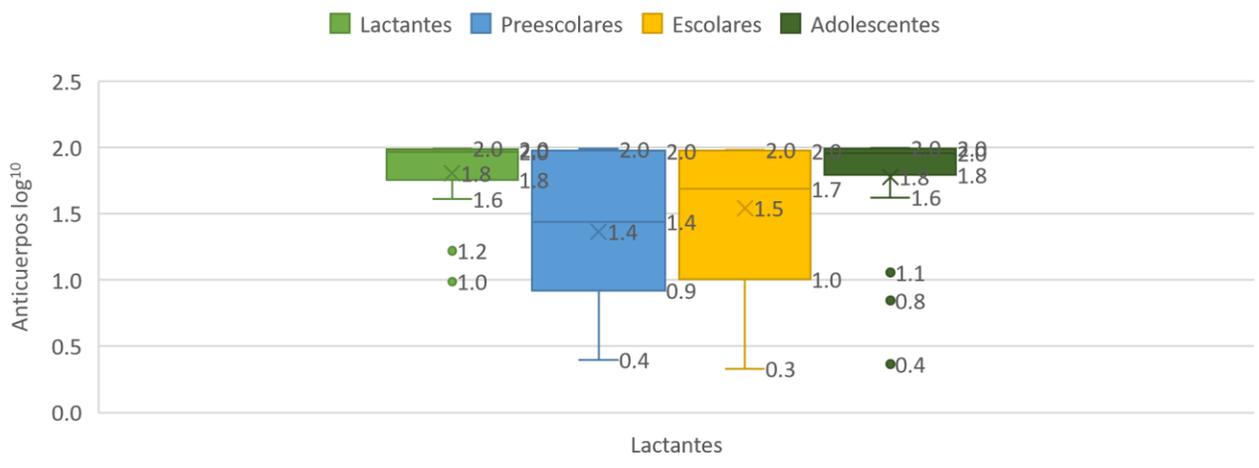
Ya que el comportamiento entre ambulatorios y hospitalizados, permaneció de manera similar, clasificamos también a los pacientes por gravedad de la enfermedad, en los pacientes con enfermedad leve, los anticuerpos neutralizantes fueron menores (media geométrica 1.42 Log¹⁰ media aritmética de 1.5 Log¹⁰), y al comparar las medias aritméticas entre pacientes con enfermedad grave y aquellos clasificados como pacientes con enfermedad moderada estos fueron similares (1.7 Log¹⁰) (gráfico 6), sin embargo al calcular la media geométrica se observa una mayor magnitud en los pacientes con enfermedad severa (media geométrica 1.67 Log¹⁰ vs 1.7 Log¹⁰)

Gráfico 6. Anticuerpos neutralizantes determinados en enfermedad leve, moderada y severa, en el primer y tercer mes.



Al dividir a los pacientes por grupo etario podemos observar en la representación gráfica se observa una distribución igual entre los grupos de lactantes y adolescentes, sin embargo al calcular la media geométrica vemos que el valor de los anticuerpos neutralizantes es superior en el grupo de menor edad, representada por el grupo de lactantes (media geométrica 1.76 Log¹⁰, media aritmética 1.8 Log¹⁰), seguido por los adolescentes (media geométrica 1.68 Log¹⁰, media aritmética 1.8 Log¹⁰) posteriormente los escolares (media geométrica 1.40 Log¹⁰), media aritmética 1.5 Log¹⁰) y al final los preescolares (media geométrica 1.18 Log¹⁰, media aritmética 1.4 Log¹⁰)

Gráfico 7 Anticuerpos neutralizantes determinados en el primer y tercer mes, por grupo etario



Se realizó determinación de IgM e IgG a 25 pacientes en la primera muestra tomada de 1 a 3 meses posterior al diagnóstico de la infección, se observa que en el 72% del total de pacientes presento IgG positivas y 64% IgM, y 60% presentaba ambas positivas, 19 de todos los pacientes presentaba una de las dos positivas (76%) y en seis pacientes el resultado fue negativo.

Cuadro 4. Valores de IgM e IgG en muestras tomadas 1-3 meses del diagnóstico de infección por SARS-CoV-2.

	Hospitalizados n=9 (%)	Ambulatorios n= 16 (%)	Total N=25 (%)
Valores de IgM			
Mediana	1.05	1.01	1.02
Min-Max	0.21-6.63	0.37-3.17	0.21-6.63
IgM positiva	6 (66.6)	10 (62.5)	16 (64)
IgM negativa	3(33.3)	6(37.5)	9 (56)
Valores de IgG			
Mediana	1.78	1.57	1.59
Min-Max	0.16-3.17	0.05- 3.78	0.05-3.78
IgG positiva	6 (66.6)	12 (75)	18 (72)
IgG negativa	3 (33.3)	4 (25)	7 (28)
IgG + IgM positivos	6 (66.6)	9 (56.2)	15 (60)
IgG + IgM negativos	3 (33.3)	3 (18.7)	6 (24)
Valor de corte de IgM e IgG > 0.9			

Respecto a los pacientes que no se seroconvirtieron en el periodo de 1 a 3 meses, realizamos una caracterización, que puede observarse en el siguiente cuadro, de estos 3 fueron hospitalizados y 3 ambulatorios. Dentro los hospitalizados, todos tenían comorbilidades oncológicas y de los ambulatorios, es importante destacar que las pacientes 5 y 6 eran hermanas. Por otro lado, en cuanto respecta a los anticuerpos neutralizantes, en la primer muestra únicamente en la paciente 5 se reportaron mayores al 50%, sin embargo en la segunda toma a los 3 pacientes a los que se les determino se registraron mayores a 50%.

Cuadro 5. Caracterización de los pacientes con IgM e IgG negativa.						
	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6
Clasificación	Ambulatorio	Hospitalizado	Hospitalizado	Hospitalizado	Ambulatorio	Ambulatorio
Sexo	Hombre	Hombre	Hombre	Hombre	Mujer	Mujer
Edad	5 años	12 años 9 meses	6 años 9 meses	7 años 1 mes	16 años 7 meses	7 años 4 meses
Estado nutricional	Normal	Obesidad	Sobrepeso	Normal	Normal	Normal
Comorbilidades	Ninguna	Meduloblastoma	Tumor desmoplásico	Linfoma de hodgkin	Ninguna	Ninguna
Severidad de la enfermedad	Leve	Moderada	Moderada	Leve	Leve	Leve
Tratamiento						
Oxígeno suplementario	No	Si	Si	No	No	No
Esteroides	No	Si	Si	No	No	No
Laboratorio						
IgM	0.5	0.25	0.21	0.21	0.05	0.04
IgG	0.7	0.64	0.16	0.37	0.05	0.05
Anticuerpos neutralizantes 1-3 meses	8.3% 0.91 Log ¹⁰	0.47% 0.32 Log ¹⁰	7.97% 0.90 Log ¹⁰	5.9% 0.77 Log ¹⁰	85.8% 1.93 Log ¹⁰	10.1% 1.0 Log ¹⁰
Anticuerpos neutralizantes 6-8 meses			70.4% 1.84 Log ¹⁰		88.6% 1.94 Log ¹⁰	95.1% 1.97 Log ¹⁰

DISCUSIÓN

Este trabajo se realizó con el principal objetivo de estudiar la respuesta inmune mediada por anticuerpos en pacientes pediátricos infectados por SARS-CoV-2, clasificados en ambulatorios y hospitalizados y estratificados por edad, mediante la determinación de anticuerpos neutralizantes contra la proteína S y títulos de IgM e IgG, en dos momentos, el primero en un periodo de 1-3 meses y el segundo a 6-8 meses posterior al diagnóstico de infección por PCR TR.

A diferencia de otros artículos publicados que evalúan la respuesta inmunitaria en niños, en la que los participantes son contactos de casos de COVID-19 o niños asintomáticos^{12,13}, nuestros pacientes fueron casos sintomáticos y con todo el espectro de la enfermedad (leve, moderada y grave). En el meta-análisis realizado por Christophers y cols.,¹⁴ se incluyeron 22 estudios, provenientes de 48 ciudades y provincias de China, Italia, Estados Unidos, Irán y Malasia, también se encontró que los síntomas principales al momento del diagnóstico son fiebre y tos, no se encontró anosmia o agusia en alguno de los estudios se incluyeron. En lo que respecta a las comorbilidades de los participantes, se observó una mayor frecuencia en nuestros pacientes (hasta del 38.4% vs 2.4%) con predominio de padecimientos hemato-oncológicos, mientras que en el metaanálisis refieren asma y epilepsia como principales comorbilidades. Esto se explica por ser la UMAE Hospital de Pediatría un centro de referencia para pacientes con cáncer. Respecto al análisis de pruebas de laboratorio estándar, encontramos que de manera consistente se observa incremento de los valores de proteína C reactiva, aunque con un valor mucho mayor en nuestra población, sin embargo, en la biometría hemática el principal hallazgo no fue leucocitosis, si no linfopenia, lo cual pudo ser secundario al número de pacientes con inmunosupresión secundaria a tratamiento citorreductor. En el caso de los pacientes hospitalizados, la media de días de internamiento es similar a la publicada (11 días contra 12 días), y en cuanto a la clasificación por presentación de la enfermedad, en nuestros pacientes se reportó

una frecuencia más alta de enfermedad severa, que en las series incluidas en este metaanálisis (9.6% vs 3.4%).

Respecto al objetivo principal de describir la dinámica de la inmunidad mediada por anticuerpos en pacientes pediátricos infectados por SARS-CoV-2, se registró que el 74% de los pacientes tuvieron serología positiva a partir de las 4 semanas, que concuerda con estudios similares publicados previamente ^{12,15,16}. Y en lo que cabe a la persistencia de la inmunidad en el tiempo, identificamos que los anticuerpos neutralizantes, persistieron en un periodo de al menos 6 meses, incluso con incremento de los valores en la segunda muestra con respecto a la primera (media geométrica 1.64 vs 1.87), similar a lo demostrado por Bonfante y colaboradores que observaron la persistencia e incluso aumento de anticuerpos a 236 días de la infección en pacientes pediátricos¹², contrario de lo observado en adultos, donde declinan hasta un 40% a partir de los 3 a 7 meses de la infección ¹⁷.

Respecto a las diferencias entre el comportamiento entre pacientes hospitalizados y ambulatorios, encontramos que la magnitud de los anticuerpos neutralizantes fue mayor en los pacientes ambulatorios, sin embargo, teniendo en cuenta que muchos de los pacientes hospitalizados, fueron ingresados a causa de su padecimiento de base y no por la gravedad propia de COVID-19, se dividió a los pacientes de acuerdo con la gravedad para comparar los valores. En la primera muestra el porcentaje de neutralización en pacientes fue mayor a medida que la enfermedad fue más grave (media geométrica en enfermedad leve:1.42, enfermedad moderada: 1.49, enfermedad grave: 1.66), lo cual, es similar a lo descrito previamente en adultos por Wang et al ¹⁸, donde compararon muestras de plasma de pacientes con enfermedad grave y no grave, observaron que los anticuerpos neutralizantes eran sustancialmente mayores en el primer grupo. Específicamente el rango de títulos fue de <100 a 3710 con media de 2545 en el grupo de los casos graves y de <100 a 1463 con media de 491 en los casos no graves, así, la respuesta de anticuerpos neutralizantes fue cinco veces mayor en los casos severos con un valor de p estadísticamente significativo (p= 0.015).

Al estratificar a los pacientes por grupo etario, se evidenció que los pacientes correspondientes al grupo de lactantes presentaron los porcentajes más altos de neutralización de anticuerpos (media geométrica 1.76), al igual que lo referido en el estudio de Bonfante y colaboradores¹² donde se observó que los anticuerpos neutralizantes se relacionan de manera inversamente proporcional a la edad particularmente en menores de 3 años. Se observó un comportamiento similar en el estudio realizado por Yang et al¹⁹, en donde se comparó el nivel de IgG de SARS-CoV-2, el nivel de anticuerpos totales (TAb), la actividad de anticuerpos neutralizantes sustitutos (SNAbs) y la avidéz de unión de anticuerpos entre niños (de 1 a 10 años), adolescentes (de 11 a 18 años) y jóvenes adultos (de 19 a 24 años) encontrando que todos estos parámetros se correlacionaron negativamente con la edad (p. Ej., IgG: $r = -0,51$; $P < 0,001$). También se registró esta asociación por Garrido G, et al²⁰ en un estudio donde compararon la actividad neutralizante de IgG específica para SARS CoV 2, encontrando una actividad neutralizante mayor en niños y adolescentes que en adultos a los 2 meses (Media ID_{50} 379 [RIQ 214-634] vs 161 [RIQ 44-212] $P=0.0003$) y a los 4 meses (Media ID_{50} 148 [RIQ 81-254] vs 64 [RIQ 52-162] $P=0.10$)

Llama la atención, sin embargo, que el segundo grupo etario en nuestro estudio con mayor porcentaje de anticuerpos neutralizantes fueron los adolescentes, esto puede estar favorecido por un mayor número de pacientes con enfermedad grave en esta clasificación.

Consideramos que la información obtenida de esta investigación es valiosa y útil, ya que nos permitió explorar la dinámica de la inmunidad posterior a la infección por SARS-CoV-2 en pacientes pediátricos, teniendo en cuenta que hasta el momento existe poca evidencia de este fenómeno en la literatura.

A partir de los hallazgos en este trabajo, se puede continuar con el estudio de la respuesta inmune, incluir niños vacunados y también incrementar el tamaño de

muestra para identificar los factores asociados a una mayor capacidad de respuesta a la infección por este virus.

Dentro de las limitaciones en esta investigación consideramos el sesgo que pudo suponer el número limitado de pacientes que se incluyeron y en los que pudieron completarse los ensayos de laboratorio.

CONCLUSIONES

- Hasta un 76% de los pacientes presentan serología positiva a 4 semanas de la infección por SARS-CoV- 2
- La inmunidad mediada por anticuerpos persiste e incrementa por 6 meses.
- La inmunidad se relaciona de manera proporcional a la gravedad de la enfermedad y de manera inversamente proporcional a la edad.

REFERENCIAS

1. Secretaria de Salud. Subsecretaria de prevención y promoción de la salud. Informe técnico diario COVID 19 México. Consultado el 17/10/2021 de www.gob.mx/salud/documentos/coronavirus-covid-19-comunicado-tecnico-diario238449
2. Amanat, F., Stadlbauer, D., Strohmeier, S., et al. (2020). A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. medRxiv, 2020.2003.2017.20037713. doi:10.1101/2020.03.17.20037713
3. Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., et al, (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. doi:10.1038/s41586-020-2196-x
4. Long, Q.-x., Deng, H.-j., Chen, J., et al, (2020). Antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: the perspective application of serological tests in clinical practice. medRxiv, 2020.2003.2018.20038018. doi:10.1101/2020.03.18.20038018
5. Callow, K. A., Parry, H. F., Sergeant, M., et al, (1990). The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. Epidemiol Infect, 105(2), 435-446. doi:10.1017/s0950268800048019
6. Guo, X., Guo, Z., Duan, C., et al, (2020). Long-Term Persistence of IgG Antibodies in SARS-CoV Infected Healthcare Workers. medRxiv, 2020.2002.2012.20021386. doi:10.1101/2020.02.12.20021386
7. Dang, H. V., Chan, Y.-P., Park, Y.-J., et al. (2019). An antibody against the F glycoprotein inhibits Nipah and Hendra virus infections. Nature Structural & Molecular Biology, 26(10), 980-987. doi:10.1038/s41594-019-0308-9
8. Lo, M. K., Feldmann, F., Gary, J. M., et al, (2019). Remdesivir (GS-5734) protects African green monkeys from Nipah virus challenge. Science Translational Medicine, 11(494), eaau9242. doi:10.1126/scitranslmed.aau9242
9. Mulangu, S., Dodd, L. E., Davey, R. T., et al, (2019). A Randomized, Controlled Trial of Ebola Virus Disease Therapeutics. New England Journal of Medicine, 381(24), 2293-2303. doi:10.1056/NEJMoa1910993
10. Chen, X., Li, R., Pan, Z., et al, (2020). Human monoclonal antibodies block the binding of SARS-CoV-2 spike protein to angiotensin converting enzyme 2 receptor. Cellular & Molecular Immunology. doi:10.1038/s41423-020-0426-7
11. Rodriguez-Moncayo, R., Jimenez-Valdes, R. J., Gonzalez-Suarez, A. M., et al, (2020). Integrated Microfluidic Device for Functional Secretory Immunophenotyping of Immune Cells. ACS Sens, 5(2), 353-361. doi:10.1021/acssensors.9b01786

12. Bonfante, F., DVM, Costenaro P., MD, Cantarutti A., et al, (2021) Mild SARS CoV 2 – Infections and neutralizing antibody titers. *Pediatrics.*; doi: 10.1542/peds.2021-052173. (1)
13. Cotugno N., Ruggiero, A., Bonfante, F., et al., (2021) Virological and immunological features of SARS-CoV-2-infected children who develop neutralizing antibodies. *Cell Reports*. Volume 34, Issue 11, 108852, ISSN 2211-1247, doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108852. (2)
14. Christophers, B., Gallo Marin, B., Oliva, R, et al. (2020) Trends in clinical presentation of children with COVID-19: a systematic review of individual participant data. *Pediatr Res*. <https://doi.org/10.1038/s41390-020-01161-3T> (3)
15. Wajnberg A, Amanat A, Firpo A, et al (2020) Robust neutralizing antibodies to SARS CoV 2 infection persist for months. *Science*; 7728: 1/7. Doi: 10.1126/science.abd7728 (4)
16. Wajnberg A, Mansour M, Leven E, et al, (2020) Humoral response and PCR positivity in patients with COVID-19 in the New York City region, USA: an observational study. *Lancet Microbe*. Nov;1(7):e283-e289. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30120-8. (5)
17. Lau, EHY, Tsang, OTY, Hui, DSC, et al (2021) Neutralizing antibody titres in SARS-CoV-2 infections. *Nat Commun* 12, 63. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20247-4> (6)
18. Wang P, Liu L, Nair MS, Yin MT, et al., (2020) SARS-CoV-2 neutralizing antibody responses are more robust in patients with severe disease. *Emerg Microbes Infect*. Dec;9(1):2091-2093. doi: 10.1080/22221751.2020.1823890. PMID: 32930052; PMCID: PMC7534308. (7)
19. Yang HS, Costa V, Racine-Brzostek SE, et al. 2020 Association of Age With SARS-CoV-2 Antibody Response. *JAMA Netw Open*. ;4(3):e214302. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.4302 (8)
20. Garrido C, Hurst J-H, Lorang C-G, et al, 2021. Asymptomatic or mild symptomatic SARS- CoV-2 infection elicits durable neutralizing antibody responses in children and adolescents. *JCI Insight*; 2021;6(17):e150909 <https://doi.org/10.1172/jci.insight.150909>

ANEXOS



ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Coordinación de Investigación en Salud

Comisión Nacional de Investigación Científica

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica

Hospital de Especialidades/ Hospital de Pediatría

Centro Médico Nacional Siglo XXI

Lugar: _____, Ciudad de México, a ___ del
mes _____ año _____

Por medio de la presente yo _____ en mi
calidad de paciente o representante legal, acepto participar en el estudio:

**“Estudio de la respuesta inmunitaria protectora mediada por anticuerpos en
los pacientes infectados con SARS-CoV-2 y sus contactos cercanos, para el
desarrollo inmunoterapias”**

Registrado ante la Comisión Nacional de Investigación Científica con el Número:

—

1. Propósito del estudio: 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) o ser un contacto cercano a enfermo(s) de este padecimiento.

Nuestro objetivo es determinar las características y duración de la respuesta de anticuerpos contra el virus SARS-CoV-2 así como su relación con el estado de protección contra la enfermedad, para conocer el comportamiento de la enfermedad desde el punto de vista molecular, esto es, a partir de muy pequeños componentes de su organismo. De esta forma queremos conocer si la producción de estos anticuerpos ayuda a defendernos y cuanto tiempo dura la protección.

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.

2. Procedimientos. Si usted acepta participar ocurrirá lo siguiente:

Le pediremos que nos permita tomarle de su brazo siete muestras de sangre, una al inicio de su evaluación, la segunda muestra de sangre al tercer día, la tercera muestra en el día siete, 30 días después de realizado el diagnóstico de infección por Coronavirus, a los 6, 12 y 24 meses posteriores a su alta. La cantidad de sangre que le tomaremos en cada ocasión equivale a tres cucharadas soperas regular. También requerimos que nos de autorización para tomar algunos datos de su expediente clínico que nos permitan saber detalles del proceso infeccioso.

De cada una las muestras de sangre obtendremos sus células, el suero y el plasma y las analizaremos.

3. Posibles riesgos y molestias: 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.

4. Disponibilidad de tratamiento médico: Usted recibirá el tratamiento adecuado para resolver la infección de COVID-19, en el remoto caso de presentarse complicaciones asociadas a su participación en el presente estudio, el IMSS otorgará y cubrirá todas las atenciones requeridas.

5. Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: Aunque directamente no obtendrá ningún beneficio de los datos obtenidos, estos permitirán comprender la capacidad del sistema de defensas del organismo durante la infección COVID-19.

6. Participación o retiro: 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 o de la Unidad Médica en donde se encuentra Usted. Es decir, que, si usted no desea participar en el estudio, su decisión, no afectará su relación con el proveedor de su servicio médico y su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del IMSS y las unidades médicas participantes. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted 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 derechohabiente del IMSS o de la unidad médica participante. 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. También queremos solicitar a través de este documento de autorización, que nos autorice a guardar las muestras que obtenemos al momento de tomar su sangre para poder realizar en un futuro análisis complementarios y otros estudios de interés biomédico a los que hoy estamos proponiendo. Lo anterior preservando la privacidad y confidencialidad.

7. 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.

8. Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio: Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 9:00 a 14:00 horas, de lunes a viernes con el Dr. Constantino III Roberto López Macías, matrícula IMSS 10229469, quien es el investigador responsable del estudio, a los teléfonos: 56-27-69-00, ext. 21476, en la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica de la UMAE Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación.

Si usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del IMSS, a los Tel. 56276900 extensión 21230, de 9 a 16:00 horas; o si así lo prefiere al correo electrónico: comiteeticainv.imss@gmail.com.

La Comisión de Ética se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México D.F.

Declaración de consentimiento informado.

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato. Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe y que, de la muestra obtenida:

Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.

[] Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

- Estoy de acuerdo en que se colecte información de mi expediente médico para ser utilizado en este y otros estudios de investigación biomédica futuros.

- Entiendo que mi información médica y genética codificada podrá ser usada para este y otros estudios de investigación biomédica en un futuro.

- Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria las muestras para este y otros estudios de investigación biomédica que surjan en un futuro, así como de su almacenamiento en la Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica por el tiempo que sea necesario.

Nombre del Padre o tutor

Teléfono

Firma de la madre o tutor

Fecha

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y Matrícula IMSS del encargado de obtener el consentimiento informado

Teléfono Firma del encargado de obtener el consentimiento Fecha

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre, firma y relación con el paciente del testigo 1 Fecha Teléfono

Nombre, firma y relación con el paciente del testigo 2 Fecha Teléfono

ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS



Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Pediatría "Dr. Silvestre Frenk Freund"
Centro Médico Nacional Siglo XXI



HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Protocolo: Estudio de respuesta de anticuerpos contra SARS CoV 2 en pacientes pediátricos.

FICHA DE IDENTIFICACIÓN.

- A. Fecha de atención
- B. Primera muestra
- C. Segunda muestra
- D. Nombre
- E. Clasificación (Hospitalizado/ Ambulatorio)
- F. Edad
- G. Sexo
- H. Peso
- I. Talla
- J. IMC
- K. Comorbilidad

SÍNTOMAS

L. Fiebre	M. Cefalea	N. Tos	O. Rinorrea	P. Odinofagia	Q. Mialgia	R. Artralgia	S. Anosmia
T. Disnea	U. Desaturación	V. Hipotensión	W. Conjuntivitis	X. Exantema	Y. Dolor Abdominal	Z. Diarrea	

LABORATORIOS.

AA. Leu	AB. Hb	AC. Plt	AD. Neu#	AE. Linf#	AF. Ferr	AG. INR
AH. PCR	AI. DD	AJ. Fibr	AK. pH	AL. PCO2	AM. PO2	AN. SpO2

EVOLUCIÓN.

AO. Defunción	AP. DEIH	AQ. Grado
---------------	----------	-----------

TRATAMIENTO

AR. Gamma	AS. O2	AT. Esteroides
-----------	--------	----------------

RESULTADO.

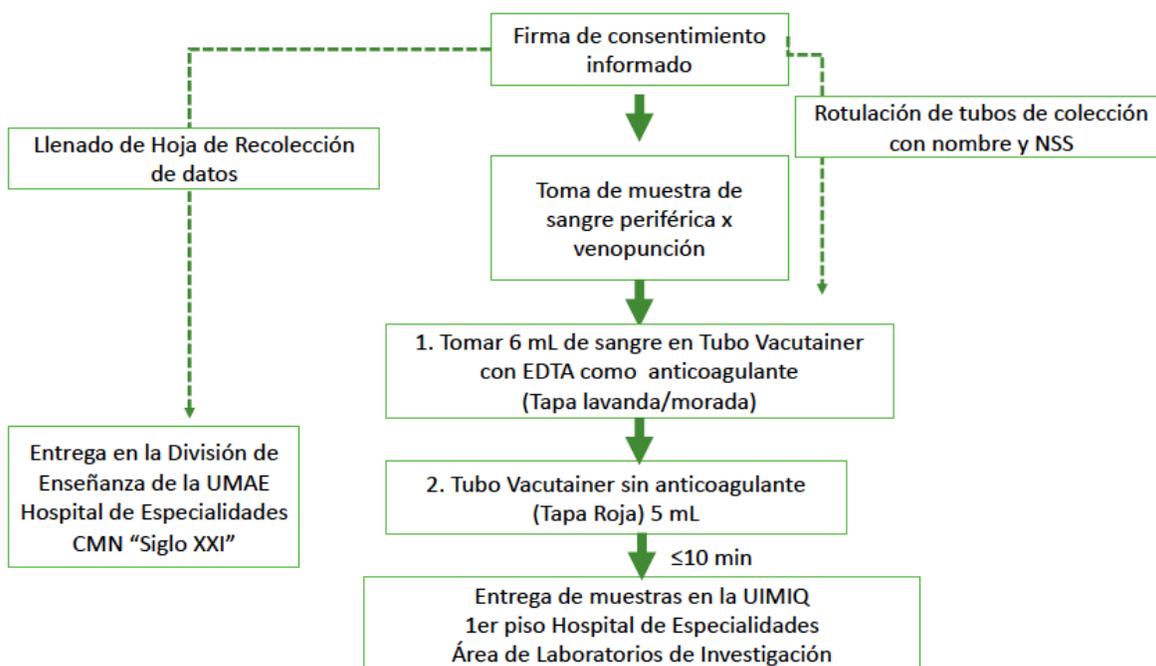
AU. Anticuerpos 1 a muestra: IgM IgG

AV. Anticuerpos 2 a muestra: IgM IgG

AW: Porcentaje de Anticuerpos neutralizantes 1ª muestra:

AX: Porcentaje de Anticuerpos neutralizantes 2ª muestra:

ANEXO 3. FLUJOGRAMA



ANEXO 3. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividad	04/20	04/20	05/20	05/20	06/20	07/20-08/21	08/21	09/21	10/21
Búsqueda de bibliografía									
Elaboración demarco teórico y protocolo									
Presentación del protocolo ante el Comité de Ética e Investigación									
Aprobación del protocolo.									
Recolección de datos / Elaborar base de datos									
Análisis de resultados.									
Discusión y elaboración de documento.									
Presentación de la tesis.									

