



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD

HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"

CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA.

"CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19"

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA.

PRESENTA

Dra. Leandra Leonor Méndez González

ASESORA DE TESIS

D en C. Laura Arcelia Montiel Cervantes

Número de Registro Institucional: R-2020-3501-194

Ciudad Universitaria. Ciudad de México, 2022





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.

CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”



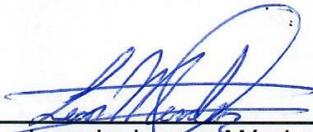
Dra. María Teresa Ramos Cervantes
Coordinación de Educación e Investigación en Salud
Unidad Médica de alta especialidad Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional La Raza.



Dr. Oscar Zamudio Chávez
Profesor Titular de la Especialidad de Patología Clínica
Jefe del Laboratorio clínico del Banco Central de Sangre
Centro Médico Nacional la Raza



D en C. Laura Arcelia Montiel Cervantes
Jefa del Laboratorio de Hematología Especial.
Unidad Médica de alta especialidad Hospital de Especialidades
“Dr. Antonio Fraga Mouret”
Centro Médico Nacional la Raz



Dra. Leandra Leonor Méndez González
Médica Residente de Tercer Año de la especialidad de Patología Clínica
Unidad Médica de alta especialidad Hospital General
“Dr. Gaudencio González Garza”
Centro Médico Nacional la Raza

“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”

PRESENTA

Dra. Leandra Leonor Méndez González

Médica Residente de Tercer Año de la especialidad de Patología Clínica
Ingreso a la UNAM: 1 de marzo 2019
Unidad Médica de alta especialidad Hospital General
“Dr. Gaudencio González Garza”
Centro Médico Nacional la Raza
Número de Cuenta UNAM: 519223103
Correo electrónico: leanmendez@hotmail.com
Calzada Vallejo S/N esquina con Jacarandas. Col. La Raza, Delegación
Azcapotzalco, Ciudad de México

ASESORA

D en C. Laura Arcelia Montiel Cervantes

Jefa del Laboratorio de Hematología Especial.
Unidad Médica de alta especialidad Hospital de Especialidades
“Dr. Antonio Fraga Mouret”
Centro Médico Nacional la Raza
Matrícula: 4334434
Correo Electrónico: lauramontielcervantes@outlook.com
Azcapotzalco s/n, Col. La Raza, Col. La Raza, Delegación Azcapotzalco, Ciudad
de México

Número de Registro Institucional: R-2020-3501-194

DICTAMEN DE AUTORIZACIÓN

8/9/2020

SIRELCIS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud 3501.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

Registro COFEPRIS 17 CI 09 002 047

Registro CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 09 CEI 033 2017121

FECHA Martes, 02 de septiembre de 2020

Dra. LAURA ARCELIA MONTIEL CERVANTES

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarte, que el protocolo de investigación con título **CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS CON RESPECTO A NIVELES DE MARCADORES DE INFLAMACIÓN (PCR) EN PACIENTES CON COVID-19 Y CONVALESCIENTES** 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 **A P R O B A D O**.

Número de Registro Institucional

R-2020-3501-194

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


José Arturo Velazquez Careis
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3501



Imprimir

IMSS

SICL, REVISY SUBORDINADY-GRUPA

ENMIENDA DE TÍTULO



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



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



"Dictamen de Enmienda Aprobada"

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD No. 3501
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

FECHA: Martes, 13 de octubre de 2020

Dra. LAURA ARCELIA MONTIEL CERVANTES
PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que la enmienda al protocolo de investigación en salud con título **CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS CON RESPECTO A NIVELES DE MARCADORES DE INFLAMACIÓN (PCR) EN PACIENTES CON COVID-19 Y CONVALESCIENTES** y número de registro institucional: R-2020-3501-194 que consiste en:

Modificar Título

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 **ENMIENDA APROBADA**

ATENTAMENTE


Jose Arturo Velazquez Garcia
Presidente del COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD No. 3501.

Imprimir

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



DICTAMEN DE TERMINADO

SIRELCIS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación en Salud 3501 con número de registro 17 CI 09 002 047 ante COFEPRIS y número de registro ante CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 09 CEI 033 2017121.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

FECHA Martes, 31 de agosto de 2021.

**Dra. LAURA ARCELIA MONTIEL CERVANTES
P R E S E N T E**

Le notifico que su INFORME TÉCNICO DE SEGUIMIENTO, el cual tiene un estado actual de **Terminado**, correspondiente al protocolo de investigación con título:

CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19

fue sometido a evaluación de este Comité Local de Investigación en Salud y de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, recibió el dictamen de **A P R O B A D O**.

ATENTAMENTE


Jose Arturo Velazquez Garcia
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3501

IMSS
SEGURIDAD Y SALUD PARA TODOS

AGRADECIMIENTOS.

Éste trabajo se los dedico a mis padres Don Francisco Méndez Cruz y Doña Felipa González Bravo, por todo el apoyo, cuidado y amor que durante toda mi vida me han mostrado. Gracias por inculcarme valores y educación. Ustedes son mi fuente de inspiración y mi mayor tesoro.

A la Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes por las enseñanzas que me brindó.

A la Dra. Laura López Pelcastre. Jefa del Laboratorio de Especialidades por el apoyo que me proporcionó para la realización de este trabajo.

A mis hermanos y amigos.

A todos mis maestros que me han transmitido sus conocimientos.

Y a Emanuel Mendoza por acompañarme todos los días y escuchar la evolución y conclusión de este trabajo ¡Gracias!

ÍNDICE

“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”	10
RESUMEN.....	11
MARCO TEÓRICO.....	13
VIRUS SARS-COV-2	13
INFECCIÓN POR SARS-COV-2	15
SARS-COV-2 Y LA RESPUESTA DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS	17
PROTEÍNA C REACTIVA	18
CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD COVID-19	19
JUSTIFICACIÓN.	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA.	23
HIPÓTESIS	23
OBJETIVO.....	24
MATERIAL Y MÉTODOS.....	24
DISEÑO DE ESTUDIO:	24
UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL	24
CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA	24
CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MUESTRA	25
Criterios de Inclusión:.....	25
Criterios no inclusión:	26
Criterios de eliminación:	26
CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA	27
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	28
FORMA DE MUESTREO	35
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO	35
FLUJOGRAMA DE TRABAJO	37

RECURSOS	38
Recursos humanos	38
Recursos materiales	38
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	40
ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	41
CONCLUSIONES.....	71
REFERENCIAS	72
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	75
TÉCNICAS UTILIZADAS	76
DETERMINACIÓN POR CITOMETRIA DE FLUJO PARA CUANTIFICACION DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN PACIENTES CONVALESCIENTES Y PACIENTES CON COVID 19 GRAVE Y CRÍTICOS.	76
DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE PROTEÍNA C REACTIVA MEDIANTE EL MÉTODO DE INMUNONEFELOMETRÍA.	78
ANEXOS.....	80
HOJAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.	80
CARTA DE COSENTIMIENTO INFORMADO	82
AVISO DE PRIVACIDAD.	84

**“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES
LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A
CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN
PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES
CON COVID-19”**

RESUMEN.

Marco teórico: SARS-CoV-2 es un virus ARN positivo perteneciente al género Betacoronavirus causa la pandemia de COVID-19. Diferentes estudios han observado la disminución en la producción de linfocitos T en sangre periférica, se ha cuantificado la población linfocitaria de células T CD4⁺, células T CD8⁺, células B, células NK; sugiriendo a estos parámetros como factor predictor y pronóstico en la evolución de la enfermedad, por otra parte, se ha observado que el paciente infectado se recupera al aumentar sus niveles de linfocitos totales, sin embargo no se ha estudiado con precisión en pacientes convalecientes si todas las subpoblaciones de linfocitos se recuperan a los niveles normales presentes antes de la infección y el comportamiento de las concentraciones de proteína C reactiva (PCR) durante y después de la infección.

Objetivo: Se correlacionó las concentraciones de proteína C reactiva con las concentraciones de subpoblación de linfocitos (B, T, NK y NKT) en pacientes graves, críticos y convalecientes por COVID-19 como factor predictor de la enfermedad.

Material y métodos: Se Realizó determinaciones de subpoblaciones linfocitarias por citometría de flujo en pacientes críticos, graves y convalecientes por COVID-19. Se buscó en la base de datos digital del laboratorio del hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” las concentraciones de Proteína C reactiva de pacientes hospitalizados críticos y graves por COVID-19, mientras que se determinaron las concentraciones de Proteína C reactiva en pacientes convalecientes.

Recursos e infraestructura: El estudio se realizó en el Laboratorio de Hematología Especial del Hospital de Especialidades “Dr, Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional la Raza. El proyecto estuvo a cargo de la D en C. Laura Arcelia Montiel Cervantes.

MARCO TEÓRICO

VIRUS SARS-COV-2

El SARS-CoV-2 causante de la pandemia que aqueja a nuestro planeta ha puesto en jaque a los sistemas de salud y a la economía mundial; cambiando drásticamente nuestro comportamiento como humanidad. En enero de 2020 la agencia responsable para determinar la etiología de los casos de neumonía severa presentados en Wuhan, China identificó al virus llamándolo Nuevo Coronavirus. El 11 de febrero de este año el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV por su acrónimo en inglés) le dio el nombre de Coronavirus 2 el cual provoca el síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2, por sus siglas en inglés) en el mismo día la Organización Mundial de la Salud (OMS) llamó a la enfermedad por coronavirus, (COVID-19, Coronavirus disease-19,). El número 19 se debe al año donde se reportaron los primeros casos¹. Para el 11 de marzo la OMS da la declaratoria de pandemia ²

El SARS-CoV-2 pertenece al género *Betacoronavirus*, familia *Coronaviridae*^{3,4}. subgénero *Sarbecovirus*³. Es un virus con material genético ARN positivo ⁵ con 29,903 nucleótidos³, mide de 60 a 140 nm ¹ La familia *Coronaviridae* cuenta con 4 géneros: Alfa, Beta, gama y delta¹ Siete tipos de coronavirus pueden afectar al humano, siendo zoonóticos; y se clasifican como alta y bajamente patógenos⁵. Dentro de los coronavirus bajamente patógenos se encuentran los virus 229E, NL63, OC43, HKU1. los cuales no causan síndrome respiratorio agudo grave, mientras que en el grupo de los altamente patógenos se encuentra el virus SARS-CoV-1 identificado en 2002; el virus MERS-CoV, que ocasiona el Síndrome

Respiratorio de Oriente Medio, aislado en junio de 2012 y actualmente el SARS-CoV-2⁵. La tasa de mortalidad es de 9.5 %, 34 % y 6.7 % respectivamente⁴

SARS-CoV-2 cuenta con una alta infectividad, el número de reproducción básica (R0), fue estimada en 3.77, mucho más alta que SARS-CoV-1; 2.7 y MERS-COV menor a 1 ⁶. Cuenta con una envoltura que consiste en una capa bilipídica que expresa proteínas en forma de espigas llamadas en inglés Spike (S); la cual está asociada a la internalización del virus a la célula, Proteína de envoltura (E), cuya función es la formación de canales iónicos, proteína de membrana (M); que es la responsable de dar curvatura al virus y es la proteína más abundante, también cuenta con nucleoproteínas (N)⁵ que se utilizan en la transcripción del virus. El coronavirus utiliza el receptor de la enzima convertidora de Angiotensina 2 (ACE2) para penetrar en la célula blanco, el receptor es expresado ampliamente en las células epiteliales de pulmón, intestino, riñón corazón y vasos sanguíneos⁷⁻⁸. Esto provoca un incremento de angiotensina II, ocasionando vasoconstricción e inflamación; aumentando el daño a pulmón. La proteína S se une a ACE2 provocando un desdoblamiento en dos subunidades, la proteína S₁ y S₂, a su vez, esta última subunidad, es activada por una proteasa transmembrana de Serina 2 (TMSRSS2) permitiendo el ingreso por endocitosis a la célula infectada y utilizar la maquinaria de la célula para producir sus propias proteínas⁵. SARS-CoV-2 infecta a células T a través de CD47- Proteína S, también conocida como Basigina ó EMMPRIN⁵ Los epítomos virales son presentados a través del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHCI) a las células T citotóxicas CD8⁺ las cuales se activan y se dividen mostrando una expansión clonal, las células T CD8⁺ lisan a las

células del tejido infectadas por el virus, mientras que al mismo tiempo las células presentadoras de antígenos muestran el péptido viral a través del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (MHCII) a las células T cooperadoras CD4⁺, donde las células B interactúan con las células T CD4⁺ para la producción de inmunoglobulinas.

INFECCIÓN POR SARS-COV-2

La entrada al cuerpo humano de SARS-CoV-2 es vía área y ocular. Algunos investigadores sugieren que el virus puede ingresar al sistema nervioso central a través de la ruta nasal y llegar al bulbo olfatorio ocasionando síntomas neurológicos como hiposmia, hipogeusia y cefalea, mientras que en ojos también puede existir como ruta de propagación del virus, pasando de la conjuntiva a través del conducto lagrimal al sistema gastrointestinal provocando síntomas digestivos.⁹ El periodo de incubación del virus es de 1 a 13 días¹⁰.

Los pacientes con COVID-19 reportan síntomas como mialgias, expectoraciones, apnea, tos seca, fiebre, fatiga, cefalea, hemoptisis, síntomas gastrointestinales; como anorexia, vómito, náusea, dolor abdominal y sangrado gastrointestinal que puede ocurrir en las etapas iniciales⁹⁻¹¹. Todos los pacientes desarrollan neumonía; alrededor de la mitad cursa con disnea y una tercera parte requiere unidad de cuidados intensivos.¹⁰ Se han observado en niños infectados lesiones maculopapulares, vesículas, urticaria, exantema, petequias, livedoreticularis, lesiones acrales por el estado de hipercoagulabilidad con elevación de dímero D¹².

SARS-COV-2 puede presentarse de forma asintomática o desarrollar COVID-19 de forma leve, grave o crítica. Los pacientes con enfermedad leve pueden presentar síntomas como fiebre, tos seca, fatiga entre otros síntomas ya mencionados con tomografías de tórax anormales pero con buen pronóstico¹³, en contraste con los pacientes que desarrollan COVID-19 grave donde se observa alguno de los siguientes criterios: dificultad respiratoria, respiraciones mayor a 30 por minuto, oximetría de pulso (SpO₂) menor de 93 %, razón de Presión arterial de Oxígeno sobre la Fracción inspirada de oxígeno (PaO₂/FiO₂) menor de 300 mmHg y la enfermedad crítica presentando uno de estas tres las siguientes alteraciones: falla respiratoria con necesidad de asistencia ventilatoria, shock o falla multiorgánica con necesidad de unidad de cuidados intensivos (UCI)¹⁴. Investigadores han observado que casos de pacientes críticos fallecen entre el día 15, 18 y 21 después de iniciados los síntomas¹³. La mayoría de los que cursan con COVID-19 desarrollan la enfermedad leve pero puede evolucionar dentro 8 a 9 días después de iniciados los síntomas un síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA)⁵ que es una enfermedad pulmonar inflamatoria y difusa que condiciona incremento de la permeabilidad vascular, peso pulmonar, disminución del parénquima pulmonar aereado, hipoxemia, infiltrados pulmonares bilaterales, incremento del espacio muerto y corto circuito intrapulmonar, así como disminución de la distensibilidad pulmonar¹⁵. SIRA causado por COVID -19 es más común en personas mayores con alguna comorbilidad como hipertensión, enfermedades cardiacas, enfermedades cerebrovasculares, enfermedades metabólicas y enfermedades pulmonares¹⁴. Algunos estudios concluyen, que los hombres que desarrollaron COVID-19 grave la mortalidad es más alta que en las mujeres⁶. En la mujer embarazada puede causar

consecuencias como aborto espontáneo, parto pretérmino, restricción del crecimiento intrauterino y óbito. No hay evidencia científica de la transmisión vertical de SARS-CoV-2. En el recién nacido puede incrementar la susceptibilidad de la infección viral debido a la inmadurez del sistema inmunológico¹⁶. En niños se reporta que las manifestaciones clínicas son leves y se piensa que pudiera haber algunas características en el sistema inmune que evita que sufran COVID-19 grave¹⁷. En inmunosuprimidos se ha observado que al retirar los fármacos inmunosupresores el paciente es capaz de montar una eficiente respuesta inmune¹⁸.

SARS-COV-2 Y LA RESPUESTA DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS.

SARS-COV-2 causa una significativa disminución en la producción de linfocitos T en sangre periférica¹⁹. La linfopenia puede ser causada por el ataque del virus al sistema inmune o por exudación de los linfocitos dentro del tejido pulmonar²⁰⁻²¹. La población linfocitaria de células T CD4⁺, células T CD8⁺, células B, células NK pudieran proporcionar pronóstico para la enfermedad COVID-19 en casos graves sugiriendo, que el conteo absoluto de células T CD4⁺ y células T CD8⁺, pueden ser biomarcadores valiosos en el pronóstico de la severidad y recuperación de pacientes con COVID-19²¹, mientras que estudios sugieren que el uso de plasma de donadores convalecientes pueden tener grandes efectos en las cargas virales de SARS-Cov-2 infectantes²², siendo actualmente el tratamiento más específico ante la enfermedad, de este modo permitiendo la disminución de reactantes de fase aguda mediadas por citocinas como la interleucina 6 (IL-6), IL-1, Factor de necrosis

tumoral α , e interleucina gama.²³ Las anomalías en laboratorios que se ha observado son hipoalbuminemia, elevación de proteína C reactiva y aumento de lactato deshidrogenasa².

PROTEÍNA C REACTIVA.

La proteína C reactiva es una proteína pentamérica que tiene función en la opsonización de agentes infecciosos y células dañadas, aunque su función exacta *in vivo* no se conoce con exactitud. Los niveles en individuos sanos son normalmente menos de 10 mg/L, pero en estado de enfermedad los niveles se aumentan en las primeras 6 a 8 horas y pudiendo alcanzar valores que superan 30 veces su valor normal después de aproximadamente 48 horas²⁴.

Los niveles séricos de PCR mayores o iguales a 100 mg/L después de 4 días de estancia hospitalaria pueden ser predictivo de complicaciones. Por otra parte, la falta de disminución en un 50% o más después de 4 días de estancia se asocia con un riesgo significativamente más alto de mortalidad en 30 días²⁵.

Los niveles de PCR entre 3 y 10 mg/L por varias semanas sin tener algún síntoma se han traducido como modelos inflamatorios crónicos leves, recientemente se ha propuesto como un marcador de aterogénesis y como un predictor para el desarrollo de eventos cardiovasculares adversos a futuro, valores <1, 1 a 3 y >3mg/L se consideran como grupos de bajo, moderado y alto riesgo para desarrollar eventos coronarios agudos a futuro ²⁶.

CLASIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD COVID-19

La Organización Mundial de la Salud (OMS) a clasificado a la enfermedad COVID-19 de acuerdo a su gravedad como se especifica en el siguiente cuadro²⁷

GRAVEDAD COVID -19 (OMS)		CARACTERÍSTICAS
Enfermedad leve.		Paciente sintomático que se ajusta a la definición de caso de COVID-19 pero no presenta neumonía vírica ni hipoxia.
Enfermedad Moderada	Neumonía	Con signos clínicos de neumonía (fiebre, tos, disnea, taquipnea) pero sin signos de neumonía grave, en particular SpO2 ≥ 90% con aire ambiente
Enfermedad grave	Neumonía grave	Con signos clínicos de neumonía (fiebre, tos, disnea, taquipnea) más alguno de los siguientes: frecuencia respiratoria > 30 inspiraciones/min, dificultad respiratoria grave o SpO2 < 90% con aire ambiente.
Enfermedad Crítica	Síndrome de dificultad respiratoria aguda.	<p>Inicio: en la semana siguiente a una lesión clínica conocida (neumonía) o aparición de nuevos síntomas respiratorios o empeoramiento de los existentes.</p> <p>Radiología torácica (radiografía, TC o ecografía pulmonar): opacidades bilaterales que no se explican totalmente por sobrecarga de volumen, colapso lobar o pulmonar ni nódulos.</p> <p>Origen de los infiltrados pulmonares: insuficiencia respiratoria que no se explica totalmente por insuficiencia cardíaca o sobrecarga de líquidos. Si no hay factores de riesgo es necesaria una evaluación objetiva (por ejemplo, ecocardiografía) para descartar una causa hidrostática de los infiltrados o edema.</p> <p>Oxigenación deficiente en adultos•</p> <p>SDRA leve: 200 mm Hg < PaO2/FiO2a ≤ 300 mm Hg (con PEEP o CPAP ≥ 5 cm H2O).</p> <p>SDRA moderado: 100 mm Hg < PaO2/FiO2 ≤ 200 mm Hg (con PEEP ≥ 5 cm H2O).</p> <p>SDRA grave: PaO2/FiO2 ≤ 100 mm Hg (con PEEP ≥ 5 cm H2O).</p>
	Septicemia	Disfunción orgánica aguda y potencialmente mortal causada por una desregulación de la respuesta del huésped a una infección presunta o demostrada. Signos de disfunción orgánica: alteración del estado mental, disnea o taquipnea, SpO2 baja, oliguria, taquicardia, pulso débil, extremidades frías o hipotensión arterial, piel jaspeada, datos de coagulopatía en las pruebas de laboratorio, trombocitopenia, acidosis, hiperlactatemia o hiperbilirrubinemia.
	Choque séptico	Lactato sérico > 2 mmol/l e hipotensión persistente que, pese a la reposición de la volemia, necesita vasopresores para mantener una TA media ≥ 65 mm Hg

Es importante establecer la correlación que existe entre proteína C reactiva con respecto a las subpoblaciones linfocitarias de pacientes con la infección en fase aguda y en convalecencia para poder utilizarlo como factor pronóstico e intervenir tempranamente en el manejo del paciente.

JUSTIFICACIÓN.

No está claro porque los niveles de linfocitos disminuyen en casos de COVID-19 grave y mucho menos se conoce cuál es el comportamiento de las subpoblaciones linfocitarias en pacientes graves críticos y convalecientes.

Es importante conocer el comportamiento de dichas células durante y después de la infección y la correlación que existe entre proteína C reactiva, debido a que la determinación de dicha proteína es mucho más asequible, rápida y fácil de hacer pudiendo inferir en una probable infección de SARS-COV-2 y el estado de gravedad de la enfermedad, favoreciendo a una intervención temprana en la detección de casos graves; evitando mortalidad y en casos de pacientes convalecientes al estar elevada esta proteína se identificaría un estado inflamatorio crónico a causa de este virus.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

COVID-19 es una nueva enfermedad que ha aquejado a nuestra comunidad en los últimos meses, causando la muerte frecuentemente en adultos mayores y con comorbilidades. Se ha descrito a nivel mundial que las concentraciones linfocitarias disminuyen mientras aumentan las concentraciones de proteína C reactiva en casos graves y críticos de COVID-19, sin embargo, en nuestra población mexicana desconocemos cuál es el comportamiento de las subpoblaciones linfocitarias durante y después de haber padecido dicha enfermedad; además, si las concentraciones de proteína C reactiva disminuyen a sus niveles normales tras eliminar el virus y que concentraciones se tienen durante la fase infectante.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA.

¿Cómo se correlacionan las concentraciones de proteína C reactiva con las concentraciones de subpoblaciones linfocitarias en pacientes graves, críticos y convalecientes por COVID-19 en un centro de tercer nivel?

HIPÓTESIS

Hipótesis alterna.

Las concentraciones de proteína C reactiva se relacionan inversamente y mayor al 60% con las concentraciones de las subpoblaciones de linfocitos en pacientes graves-críticos y no hay relación en convalecientes por COVID-19, en un centro de tercer nivel.

Hipótesis nula.

Las concentraciones de Proteína C reactiva no se relacionan significativamente con las concentraciones de subpoblaciones de linfocitos en pacientes graves y críticos ni hay relación con convalecientes por COVID-19, en un centro de tercer nivel

OBJETIVO.

Correlacionar las concentraciones de proteína C reactiva con las concentraciones de subpoblación de linfocitos (B, T, NK y NKT) en pacientes graves, críticos y convalecientes por COVID-19 en un centro de tercer nivel

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DE ESTUDIO:

Observacional, ambispectivo, transversal y analítico.

UBICACIÓN ESPACIO-TEMPORAL

El estudio se realizó en el Laboratorio de Hematología Especial del Hospital de Especialidades “Dr, Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza, y se recabaron datos desde el mes de abril a noviembre de 2020 una vez que fue aprobado por el comité de investigación y ética de este hospital.

CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

Población hospitalizada con infección activa por COVID-19 graves y críticos con concentraciones de proteína C reactiva (PCR) y con análisis de subpoblaciones linfocitarias

Población convaleciente por COVID-19 leve o grave, trabajadores IMSS con concentraciones de proteína C reactiva (PCR) y con análisis de subpoblaciones linfocitarias.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MUESTRA

Criterios de Inclusión:

GRUPO CON ENFERMEDAD ACTIVA DE COVID-19

- Paciente hospitalizado en terapia intensiva o medicina interna por COVID-19 con resultado positivo RT-qPCR SARS-CoV-2.
- Con concentraciones de subpoblaciones linfocitarias por citometría de flujo
- Que contó con medición proteína C reactiva (PCR).
- Género: hombres y mujeres
- Edad: 18 o más.

GRUPO CONVALECIENTE POR COVID-19 TRABAJADORES IMSS

- Trabajador IMSS convaleciente por COVID-19 que haya sufrido infección asintomática leve o grave con RT-qPCR SARS-CoV-2 positivo y segunda prueba negativa o presencia de anticuerpos positivos para SARS-CoV-2.
- Que cuente con determinación de proteína C reactiva (PCR)
- Que cuente con análisis de subpoblaciones linfocitarias por hematología especial.
- Género: hombres y mujeres
- Edad: 18 o más años.

Criterios no inclusión:

- Persona con enfermedades de tipo inmunológico
- Trasplantados.
- Uso de fármacos que modulan el sistema inmunitario
- Personas que en los últimos 6 meses hayan sido vacunadas.
- Embarazo o lactancia
- Procesos neoplásicos.
- Menores de 18 años.

Criterios de eliminación:

- Paciente hospitalizado por probable COVID-19 con prueba de RT-PCR SARS-CoV 2 negativa.
- Pacientes hospitalizados con SARS-CoV-2 que no cuenten con determinación de proteína C reactiva.
- Pacientes convalecientes por SARS-CoV-2 que no cuenten con determinación de proteína C reactiva.
- Muestras sanguíneas con menos de 2 mL de suero
- Muestras sanguíneas en EDTA con menos de 2 mL
- Muestras coaguladas.
- Problemas en la identificación de la muestra.

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Para dicho estudio se contempló como mínimo la participación de 19 personas trabajadores IMSS convalecientes y 19 personas con COVID-19 grave o críticos Se realizó el cálculo con la fórmula de correlación de dos variables numéricas.

$$n = \left(\frac{z_{\alpha} + z_{\beta}}{\frac{1}{2} \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right)^2 + 3$$

Dónde:

Donde:

Z_{α} = 1.96 cuando se trabaja con un intervalo de confianza del 95%.

Z_{β} = 0.842 con un 80 % de confianza.

r = 0.6 (60 % de correlación)

Sustituyendo valores:

$n = 19$

$$n = \left(\frac{1.96 + 0.842}{\frac{1}{2} \ln \left(\frac{1+0.6}{1-0.6} \right)} \right)^2 + 3$$

$$n = (2.802/.69)^2 + 3 = (4.043)^2 + 3 = 19$$

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES.

Variables independientes.

Variable independiente	<i>Paciente Convaleciente de COVID-19 leve</i>
Definición conceptual	Persona que haya cumplido un mes después de la recuperación total de una infección confirmada por el virus SARS-CoV-2. o que cuente con anticuerpos IgG o IgM contra SARS-CoV-2 (FDA,2020,WHO,2020)
Definición operacional	Trabajador IMSS que haya contado en una primera instancia con prueba RT-PCR positiva (fase activa de la enfermedad sin haber estado hospitalizado) y que 15 días después presente RT-PCR negativa ó anticuerpos IgG o IgM contra SARS-CoV-2. Positiva.
Tipo de Variable	Cualitativa
Escala de medición	Nominal
<i>Variable independiente</i>	<i>Paciente COVID-19 grave</i>
Definición conceptual	Paciente con prueba RT- PCR positiva para SARS-CoV-2 con signos clínicos de neumonía (fiebre, tos, disnea, taquipnea) más alguno de los siguientes: frecuencia respiratoria >30 inspiraciones/min, dificultad respiratoria grave o SpO2 <90% con aire ambiente. (OMS 27 de Mayo 2020)

Definición operacional	Paciente con prueba RT-qPCR SARS-CoV-2 positiva hospitalizado en medicina interna. que no haya requerido durante su estancia hospitalaria ventilación mecánica asistida.
Tipo de Variable	Cualitativa.
Escala de medición	Nominal.
Variable independiente	<i>Paciente COVID-19 Crítico</i>
Definición conceptual	Paciente con prueba RT-PCR positiva para SARS-CoV-2 que presente durante su estancia hospitalaria síndrome de dificultad respiratoria aguda (SIRA leve: PaO ₂ /FiO ₂ <300 mmHg, SIRA moderado: PaO ₂ /FiO ₂ <200, SIRA grave: PaO ₂ /FiO ₂ <100), o septicemia (alteración del estado mental, disnea, taquipnea, oliguria, taquicardia, pulso débil, extremidades frías, hipotensión arterial, datos de coagulopatía, trombocitopenia, acidosis, hiperlactatemia, o hiperbilirrubinemia) o choque séptico (Lactato sérico >2 mmol/l e hipotensión persistente que pese a la reposición de la volemia, necesita vasopresores para mantener una TA media ≥ 65 mm Hg) (OMS 27 de Mayo 2020)
Definición operacional	Paciente con prueba RT-PCR positiva para SARS-CoV-2 que presente durante su estancia hospitalaria necesidad de ventilación mecánica asistida.
Tipo de Variable	Cualitativa.
Escala de medición	Nominal.

VARIABLES DEPENDIENTES.

Variable Dependiente	Linfocito B (CD19⁺)
Definición conceptual	Célula derivada de la médula ósea o del equivalente de la bolsa de Fabricio, que expresan inmunoglobulinas de superficie (receptores de antígenos de los linfocitos B) y secretan anticuerpos específicos tras la interacción con el antígeno. (Principios de medicina interna, Harrison 20 ^a edición)
Definición operacional	Célula linfoide madura que expresa en su superficie antígeno CD-19 ⁺ y que son identificados a través de un anticuerpo monoclonal unido a un fluorocromo CD-19-FITC (Fluoresceína). Medida la reacción por inmunocitofluorometría detectado a 520 nanómetros (nm)
Tipo de Variable	Cuantitativa
Escala de medición	Células por microlitro (cel/ μ L)
Variable Dependiente	Linfocito T cooperador (CD3⁺/CD4⁺)
Definición conceptual	Subgrupo de linfocitos T que participa en la inmunidad de adaptación y ayuda a los linfocitos B a producir anticuerpos. (Principios de medicina interna, Harrison 20 ^a edición)

Definición operacional	Célula linfoide madura que expresa en su superficie antígeno CD-3 ⁺ como marcador común de linfocitos de estirpe T presenta además antígeno CD4 ⁺ , la primera proteína mencionada es identificada con el anticuerpo monoclonal CD3 ⁺ - PerCP (Peridinina- clorofila proteína) cuya emisión es detectada a 678 nm mediante inmunocitofluorometría. El anticuerpo monoclonal CD4 ⁺ - APCH7 (Aloficocianina) detectado a 785 nm.
Tipo de Variable	Cuantitativa
Escala de medición	Células por microlitro (cel/ μ L)
Variable Dependiente	Linfocito T citotóxico (CD3⁺/CD8⁺)
Definición conceptual	Subgrupo de linfocitos T citotóxico que destruye células tumorales o infectadas con patógenos intracelulares.(Principios de medicina interna, Harrison 20 ^a edición)
Definición operacional	Célula linfoide madura que expresa en su superficie antígeno CD-3 ⁺ como marcador común de linfocitos de estirpe T presenta además antígeno CD8 ⁺ , la primera proteína mencionada es identificada con el anticuerpo monoclonal CD3 ⁺ - PerCP (Peridinina- clorofila proteína) cuya emisión es detectada a 678 nm mediante inmunocitofluorometría. El anticuerpo monoclonal CD8 ⁺ - APC (Aloficocianina) detectado a 660 nm.
Tipo de Variable	Cuantitativa

Escala de medición	Células por microlitro (cel/ μ L)
Variable Dependiente	Linfocitos citolíticos naturales (NK, natural killer) (CD3⁻/CD16⁺ CD56⁺).
Definición conceptual	Linfocitos granulocitos grandes que destruyen las células sobre las que actúan. y que expresan pocas o no expresan moléculas de antígeno leucocito humano (HLA, human leukocyte antigen) clase I, como las células con transformación maligna y las infectadas por virus. Los linfocitos citolíticos naturales expresan receptores que inhiben la función de los linfocitos citolíticos cuando éste presente el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase I propio(Principios de interna, Harrison 20 ^a edición)
Definición operacional	Célula linfoide madura que se caracteriza por contar con proteínas de superficie CD 56 ⁺ y CD16 ⁺ y por la ausencia de CD3 y el receptor T (TCR) Para su identificación se utiliza el anticuerpo monoclonal CD16 ⁺ CD56 ⁻ PE (Ficoeritrina) que es detectado mediante inmunocitofluorometría a 578 nm.
Tipo de Variable	Cuantitativa
Escala de medición	Células por microlitro (cel/ μ L)

Variable Dependiente	Células NKT clásica o de tipo I también llamada como Célula Asesina Natural invariante (CD3⁺/CD16⁺ CD56⁺).
Definición conceptual	<p>Linfocitos innatos que usan una cadena invariable del receptor de linfocitos T (TCR, T cell receptor) α combinada con un conjunto limitado de TCR-β y expresan al mismo tiempo receptores que suelen encontrarse sólo en las células NK. Las NKT reconocen antígenos lipídicos de agentes infecciosos bacterianos, virales, micóticos y protozoarios.</p> <p>Se han definido como linfocitos T con características únicas, desde su selección y diferenciación en el Timo hasta su respuesta a estímulos específicos.</p> <p>(Principios de interna, Harrison 20^a edición)</p>
Definición operacional	<p>Célula linfoide que se caracteriza por el fenotipo CD3⁺/CD16⁺ CD56⁺.</p> <p>Para su identificación se utiliza el anticuerpo monoclonal CD16+CD56- PE (Ficoeritrina) que es detectado a 578 nm al igual que CD3⁺-PerCP (Peridinina- clorofila proteína) cuya emisión es detectada a 678 nm mediante inmunocitofluorometría.</p>
Tipo de Variable	Cuantitativa
Escala de medición	Células por microlitro (cel/ μ L)

Proteína C reactiva (PCR)	
Variable dependiente.	Proteína C reactiva (PCR)
Definición conceptual	Es una pentraxina corta, sintetizada en el hígado, codificada en el cromosoma 1, su papel fundamental es defensivo tanto en su interacción con microorganismos y favoreciendo la eliminación de células apoptóticas o necróticas, es una proteína de fase aguda
Definición operacional	Proteína de fase aguda que se encuentre mayor a 4 mg/L.
Tipo de Variable	Cuantitativa
Escala de medición	mg/L

Variables demográficas.

Variable demográfica	Sexo
Definición conceptual	Características fisiológicas y sexuales con las que nacen mujeres y hombres. Características fenotípicas del individuo
Definición operacional	Hombre o Mujer
Tipo de Variable	Cualitativa
Escala de medición	Nominal, dicotómica.

FORMA DE MUESTREO.

La muestra de la población fue de tipo no probabilístico muestreo deliberado crítico o por juicio.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.

El estudio se realizó en instalaciones del Hospital de Especialidades “Dr, Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza del CMN del IMSS, la tesista médico residente de Patología Clínica bajo la colaboración, supervisión y apoyo de los asesores comentados previamente.

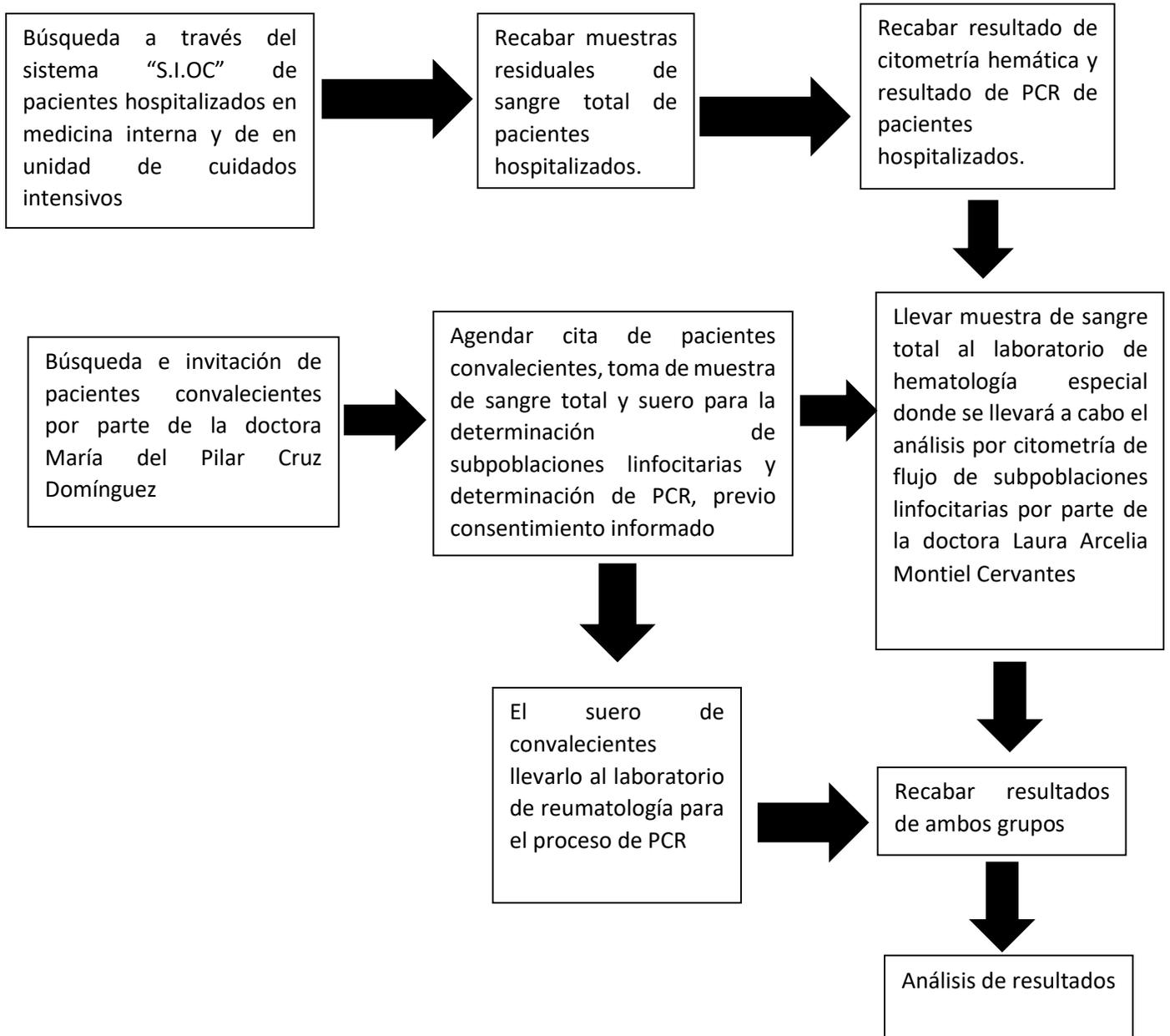
Se inició seleccionando pacientes hospitalizados que se encuentren en el piso de medicina interna o en terapia intensiva con diagnóstico de COVID-19 y que su médico tratante le solicitó citometría hemática, una vez procesada la muestra, la sangre residual fue tomada para la realización de subpoblaciones linfocitarias y se buscó en el sistema informático de laboratorio central de Especialidades el resultado proteína C reactiva si es que fue requerido.

En el caso de la recolección de muestras sanguíneas de pacientes trabajadores IMSS convalecientes por COVID-19 se contactó con ellos para invitar al protocolo y se agendó cita para obtención de muestras sanguíneas, realización de subpoblaciones linfocitarias y determinación de proteína C reactiva, previo consentimiento informado se recolectó sangre en tubos con aditivo EDTA (ácido etilendiaminotetraacético por sus siglas en inglés) con muestra mínima de llenado 2 ml (2 terceras partes del tubo) y un tubo seco con 4 mL para la realización de

proteína C reactiva. Se analizó la sangre total en el laboratorio de hematología especial donde se determinó las subpoblaciones linfocitarias y las muestras recolectadas en el tubo seco se llevó a laboratorio de reumatología para la determinación de PCR en pacientes convalecientes. (Se hace referencia del método por citometría de flujo para la cuantificación de subpoblaciones linfocitarias y para la determinación de proteína C reactiva en el apartado de anexos)

Posterior a tener los resultados por citometría de flujo de las subpoblaciones linfocitarias y de recabó las concentraciones de proteína C reactiva de ambos grupos y se procedió a hacer el análisis de resultados. Previa autorización del proyecto de investigación por el Comité Local de Investigación, CLIEIS.

FLUJOGRAMA DE TRABAJO



RECURSOS

Recursos humanos.

Responsable del proyecto: D en C. Laura Arcelia Montiel Cervantes. Realizó toma de muestra y cuantificación de subpoblaciones linfocitarias por citometría de flujo.

Dra. María del Pilar Cruz Domínguez reclutamiento de pacientes convalecientes.

Dra. Laura López Pelcastre. Autorización y proveedora de insumos.

Residente de Patología Clínica Dra. Leandra Leonor Méndez González.

Recolección de muestras, realización de técnica de citometría de flujo, búsqueda de resultados de PCR en el sistema de laboratorio del hospital y análisis de resultados.

Recursos materiales

Computadora y hoja de captura de datos.

Clitómetro de flujo marca Becton Dickinson modelo FACSCanto II, con programa FACSDiva v8.1.1

Instrumento Image 800 Inmunochimistry System de Beckman Coulter para la determinación de proteína C reactiva ultrasensible.

Insumos necesarios para la inmunofenotipificación y realización de Proteína C reactiva para convalecientes.

Recursos financieros.

El costo de la investigación fue absorbido por la institución hospitalaria, ya que esta cuenta con los recursos humanos, físicos y materiales para llevarla a cabo.

MÉTODO ESTADÍSTICO.

Se realizó medidas de tendencia central mediana y de dispersión en percentiles (25-75%) de las concentraciones determinadas de proteína C reactiva y de las subpoblaciones linfocitarias (B, T, NK y NKT) graves, críticos y convalecientes por COVID-19.

Se correlacionó los valores de las medianas de los niveles de linfocitos B, T, NK, NKT con respecto a la concentración de proteína C reactiva de pacientes graves, críticos y convalecientes de COVID-19. Se utilizó la prueba de correlación de Spearman.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el programa SPSS versión 21 considerando una $P < 0.05$ como significativo.

CONSIDERACIONES ÉTICAS.

FACULTAD Y ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio se fundamenta en la experiencia previa realizada a nivel mundial. Se contempla de acuerdo a los lineamientos éticos de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial Helsinki, Finlandia, Junio 1964 y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial Tokio, Japón, Octubre de 1975. 35ª Asamblea Médica Mundial Venecia, Italia, Octubre de 1983. 41ª Asamblea Médica Mundial Hong Kong, Septiembre 1989, 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, Octubre 1996 y la 52ª Asamblea General Edimburgo, Escocia, Octubre 2000. Nota de Clarificación del Párrafo 29, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002. Nota de Clarificación del Párrafo 30, agregada por la 59ª Asamblea General de la AMM, Seúl Corea 2008, 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, Octubre 2013 y a lo establecido en el Reglamento de la Ley General de Salud mexicana en materia de investigación para la salud.

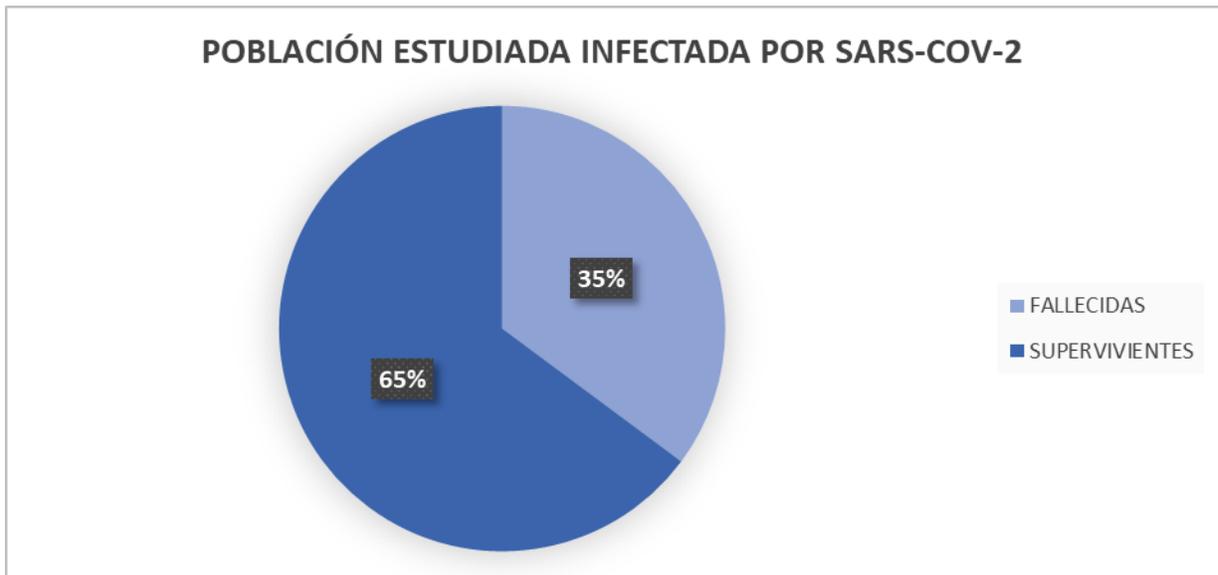
- ✓ Una vez aprobada la investigación por el comité de Enseñanza e Investigación y Bioética del Hospital de Especialidades “Dr. Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional “La Raza”, se procederá.
- ✓ El estudio será realizado por profesionales de la salud, con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del paciente bajo la responsabilidad de una Institución que cuenta con los recursos humanos y materiales necesarios para que garanticen su bienestar. Prevalciendo siempre el criterio de respeto a la dignidad y protección de sus derechos.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

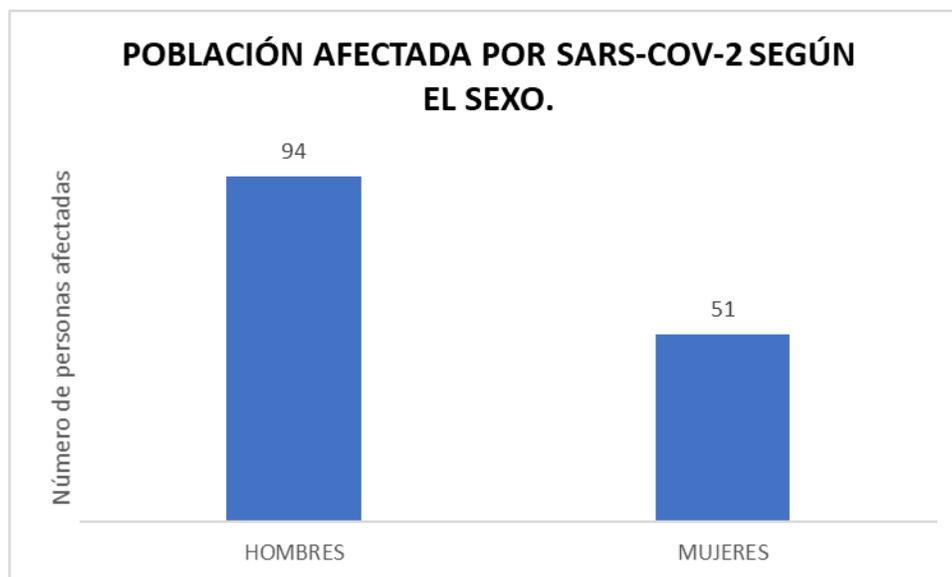
ANÁLISIS DE DATOS.

POBLACION ESTUDIADA.

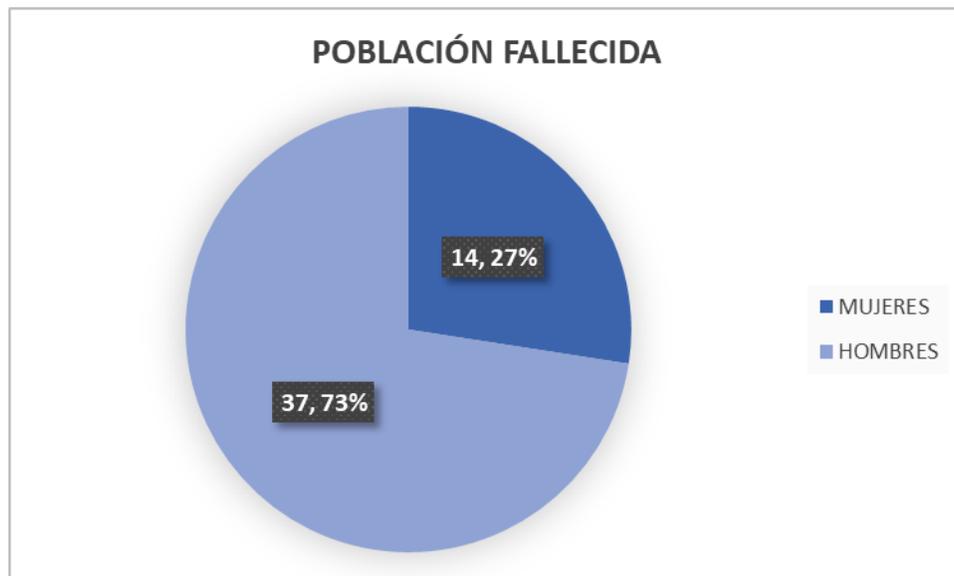
Se estudiaron 145 personas infectadas por SARS-CoV-2 todos contaron con RT-PCR positiva, de esta población estudiada 51 pacientes fallecieron y 94 personas sobrevivieron. La edad promedio de la población estudiada fue de 54 años.



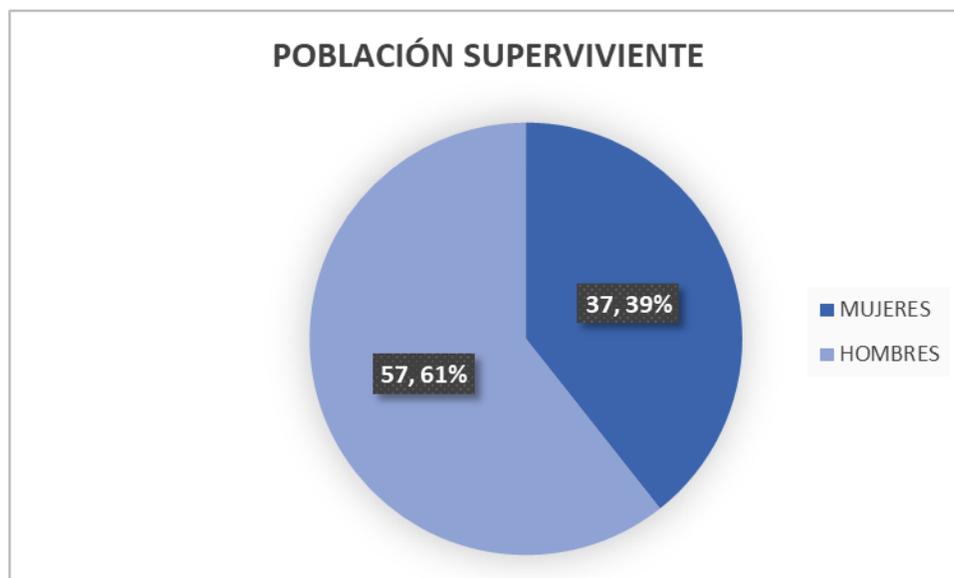
De las 145 personas infectadas por SARS-COV-2. 51 pacientes fueron mujeres y 94 fueron hombres, siendo los hombres los más afectados en un 65 %.

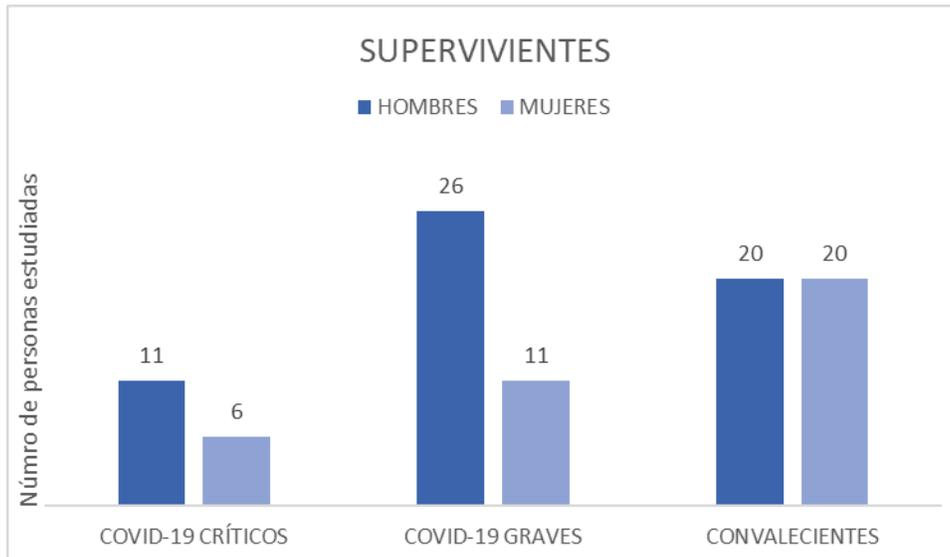


De las 51 personas fallecidas, 37 fueron hombres (73 %), mientras que el 27% correspondieron a 14 mujeres, con una edad promedio de 60.7 y 64.5 años respectivamente. Todas las personas fallecidas cursaron con la enfermedad de COVID-19 crítico, permaneciendo intubadas, con una estancia hospitalaria promedio de 20 días. Este grupo de personas contaba en promedio con una edad de 61.8 años. Siendo el sexo masculino en los que se registró mayor número de fallecimientos.

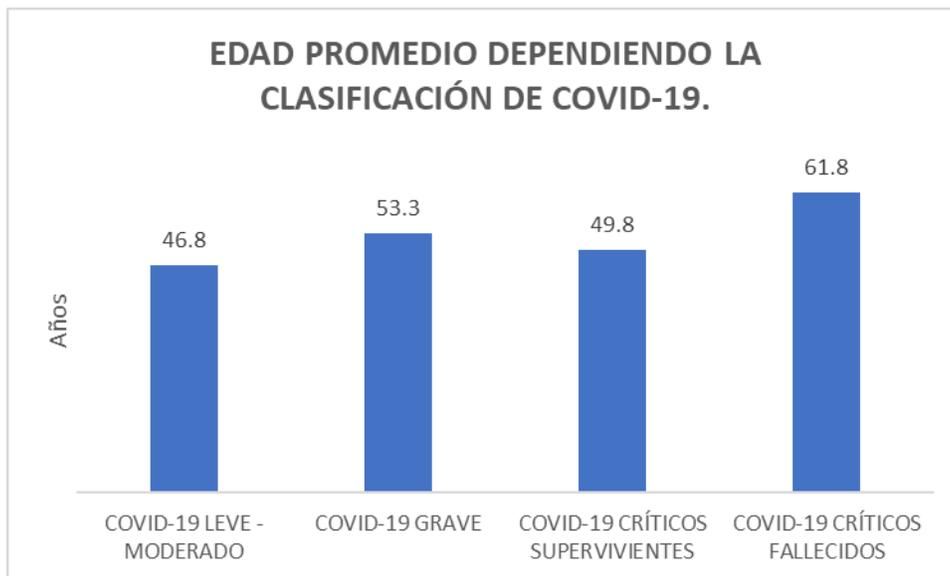


De las 94 personas que sobrevivieron a la infección, 57 fueron hombres y 37 mujeres, con una edad promedio de 49.9 años; 40 estos no necesitaron ingreso a hospitalización cursando con una infección leve y moderada siendo nuestro grupo de personas convalecientes, 54 personas requirieron estancia hospitalaria permaneciendo en promedio 14.66 días.



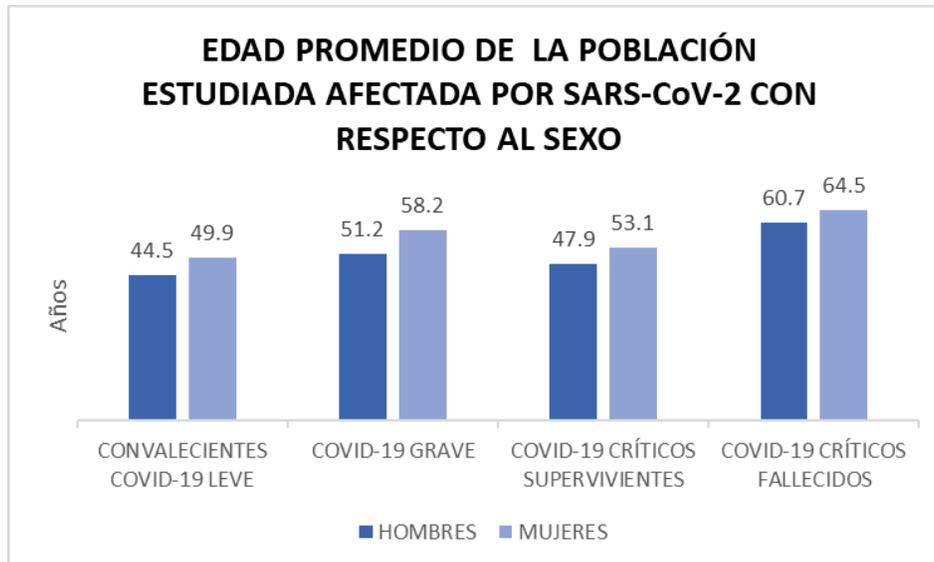
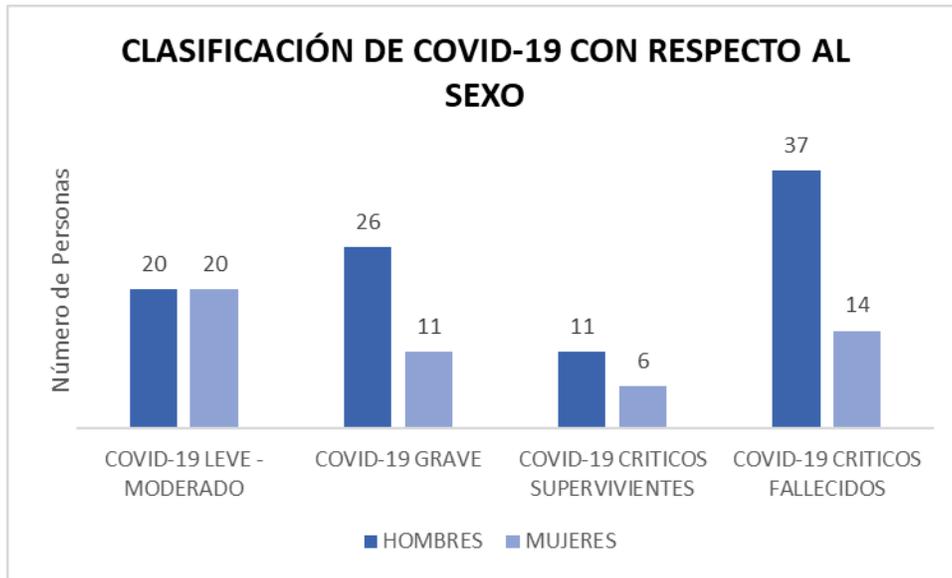


De la población superviviente 17 personas cursaron con COVID-19 Crítico (11 hombres y 6 mujeres) con una estancia hospitalaria en promedio de 23 días, con una edad promedio 49.8 años.

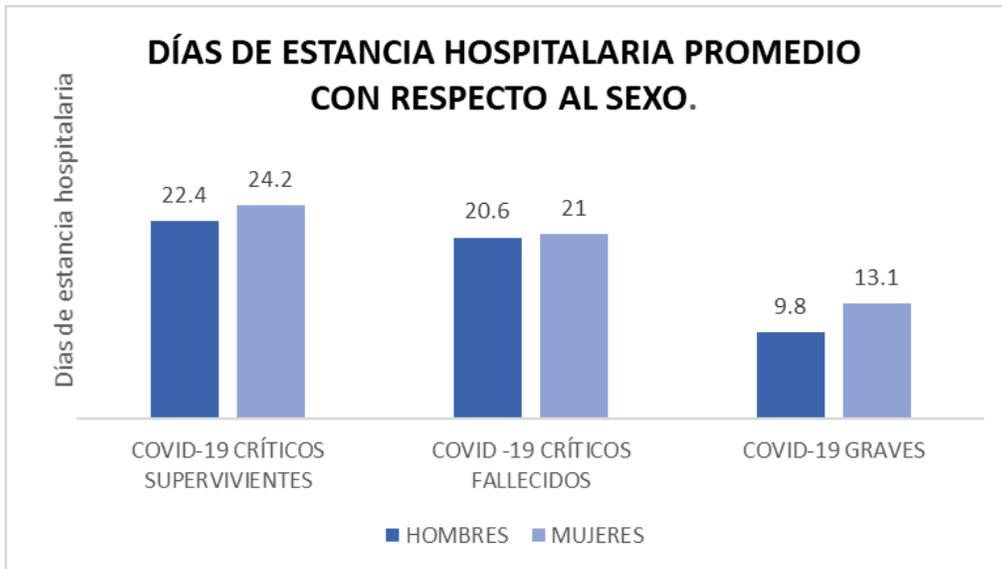


37 personas sufrieron COVID -19 Grave, este grupo presentó datos de neumonía, sin embargo, no requirieron ayuda ventilatoria mecánica, con una edad promedio de 53.3 años y con una estancia promedio de 10.8 días. Contando en este grupo 26 hombres y 11 mujeres.

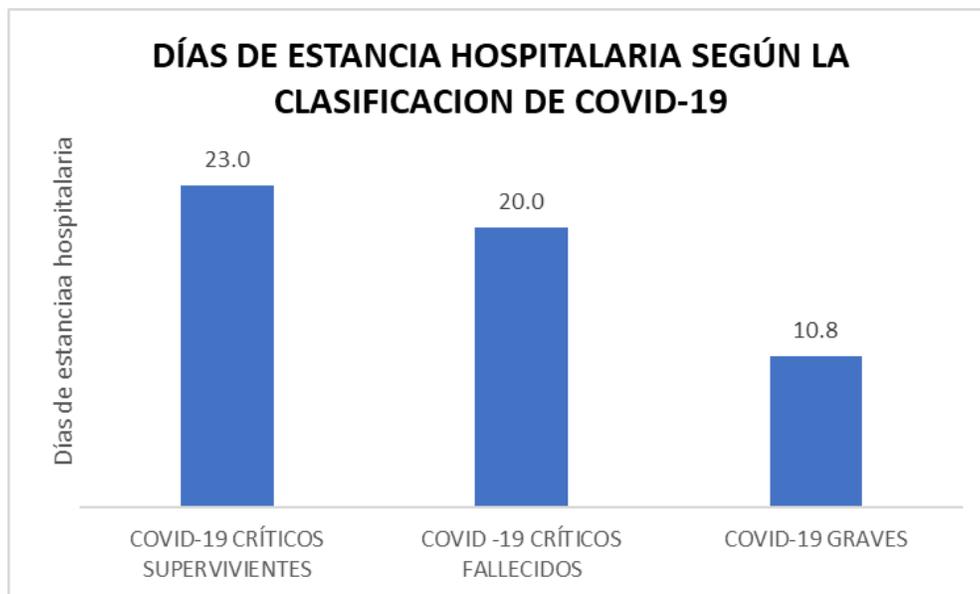
40 personas con enfermedad COVID-19 leve y moderado fueron seleccionadas, las cuales no requirieron hospitalización. 20 hombres y 20 mujeres con una edad promedio de 46.8 años.



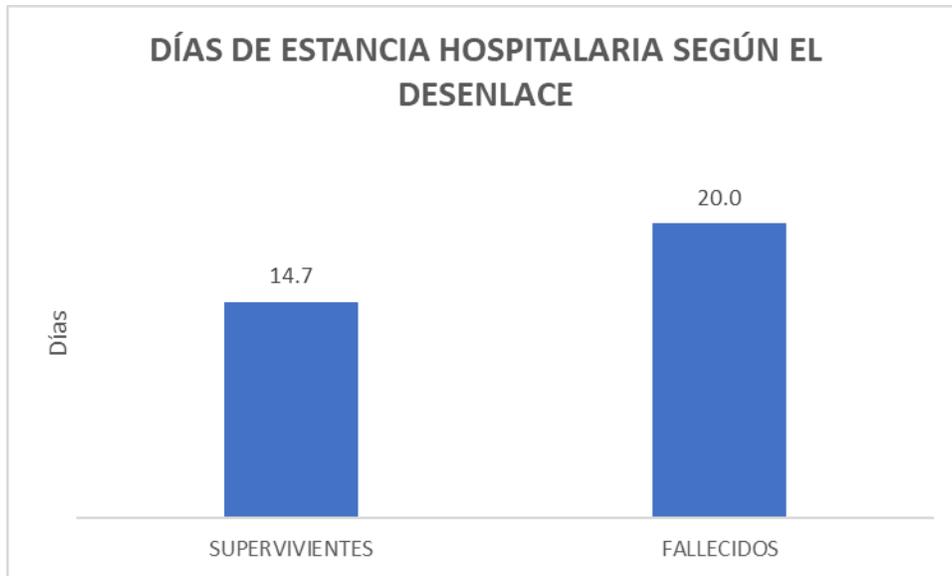
En la gráfica superior se observa que las personas que sufrieron COVID-19 crítico presentan mayor edad con respecto a las personas que sufrieron COVID-19 leve a moderado.



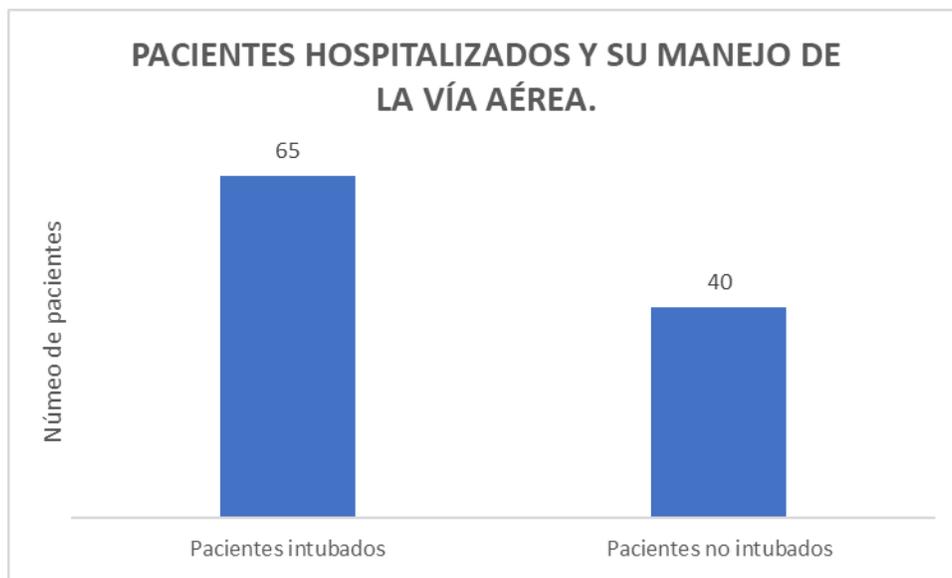
Igualmente, en esta gráfica se observa que los pacientes con COVID-19 grave permanecen menos días en hospitalización con respecto a los pacientes con COVID-19 críticos que sobrevivieron, en general las mujeres permanecen más días hospitalizadas con respecto a los hombres.



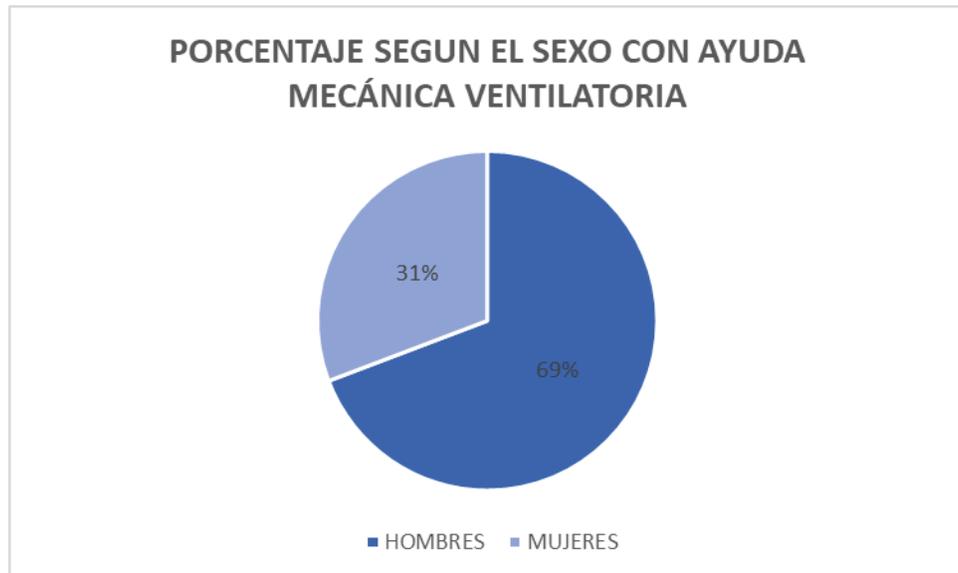
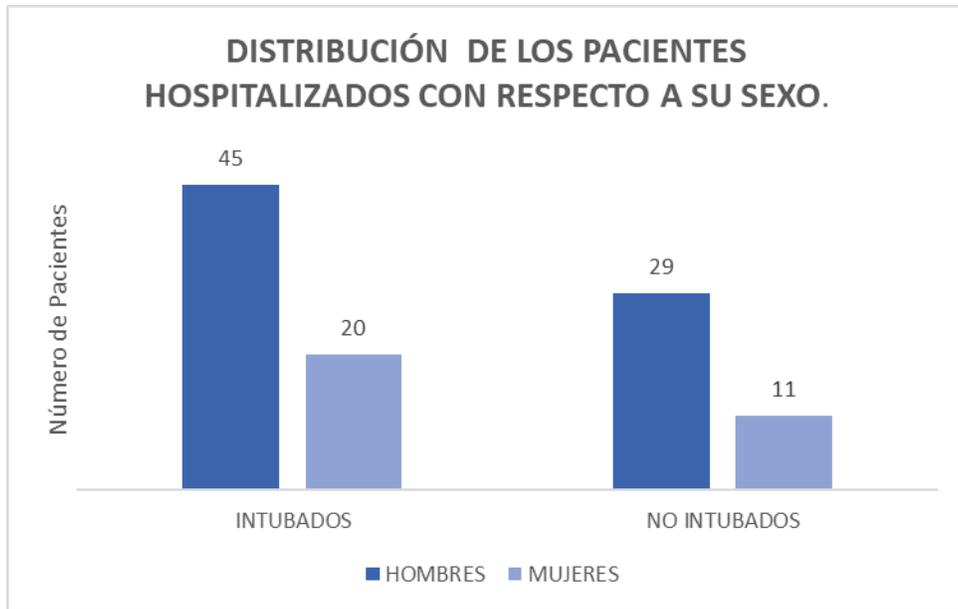
Las personas que tuvieron un desenlace fatal permanecieron más días hospitalizadas que las personas que sobrevivieron.



Al clasificar a los pacientes que estuvieron hospitalizados encontramos que de los 145 pacientes infectados con SARS-CoV-2. 65 pacientes requirieron ventilación mecánica invasiva y 40 pacientes no se intubaron.



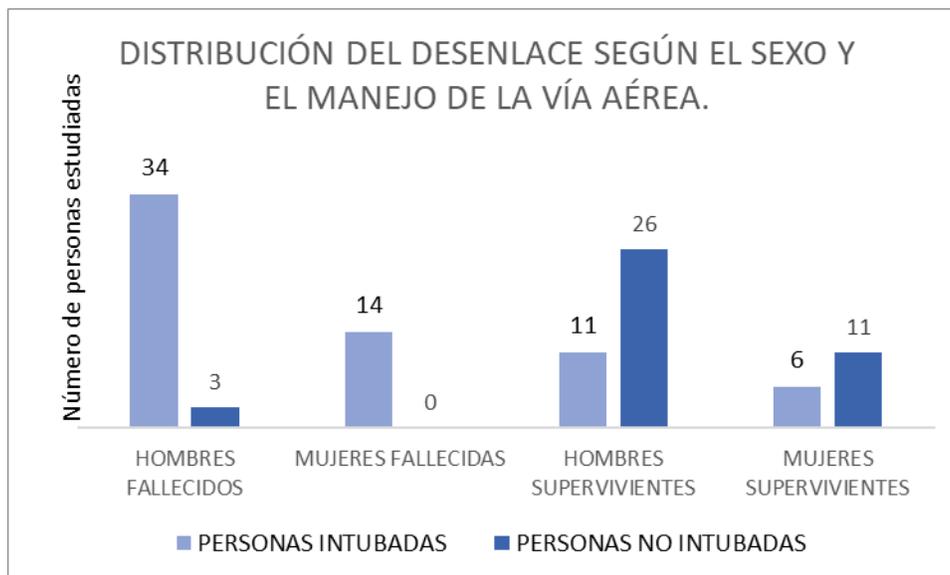
De acuerdo al manejo de la vía aérea se observa en la gráfica de abajo que el sexo masculino es el más afectado en los pacientes hospitalizados. 45 hombres requirieron ventilación mecánica y 29 no; mientras que las mujeres intubadas fueron 20 y 11 no requirieron ser intubadas.



De los 45 hombres intubados 34 de ellos fallecieron y 11 fueron supervivientes. Mientras que de las 20 mujeres intubadas 14 fallecieron y 6 sobrevivieron

Las personas que no se intubaron durante el periodo de estudio fueron de 40 correspondiendo a 29 hombres y 11 mujeres; de los 29 hombres no intubados 26

sobrevivieron y 3 fallecieron mientras que todas las mujeres no intubadas sobrevivieron.



ANÁLISIS DE DATOS DE PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)

CONCENTRACIONES DE PCR EN PACIENTES CON COVID-19 GRAVE

Se observa en los hospitalizados con COVID-19 grave una disminución de las concentraciones de proteína C reactiva a medida que transcurren los días de hospitalización, debemos recordar que este grupo de pacientes no necesitó ayuda mecánica ventilatoria.

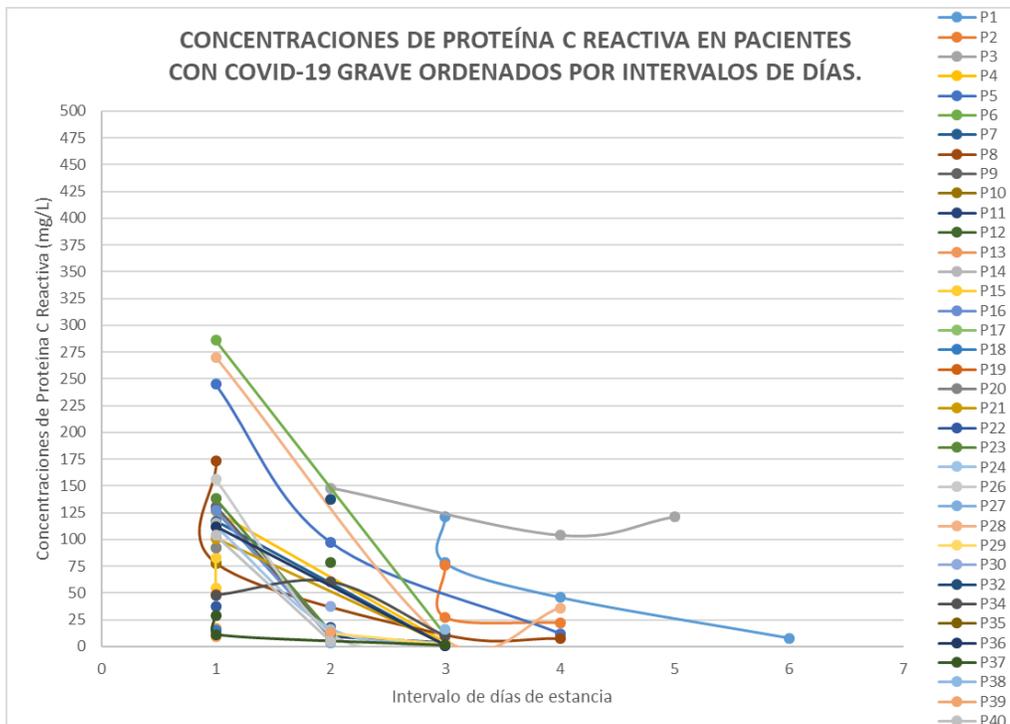
En la tabla se ordenaron los días de estancia hospitalaria en intervalos de 3 días cada uno quedando organizados de la siguiente manera.

INTERVALO DE DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA	DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA
1	0-3
2	4-7
3	8-11
4	12-15
5	16-19
6	20-23

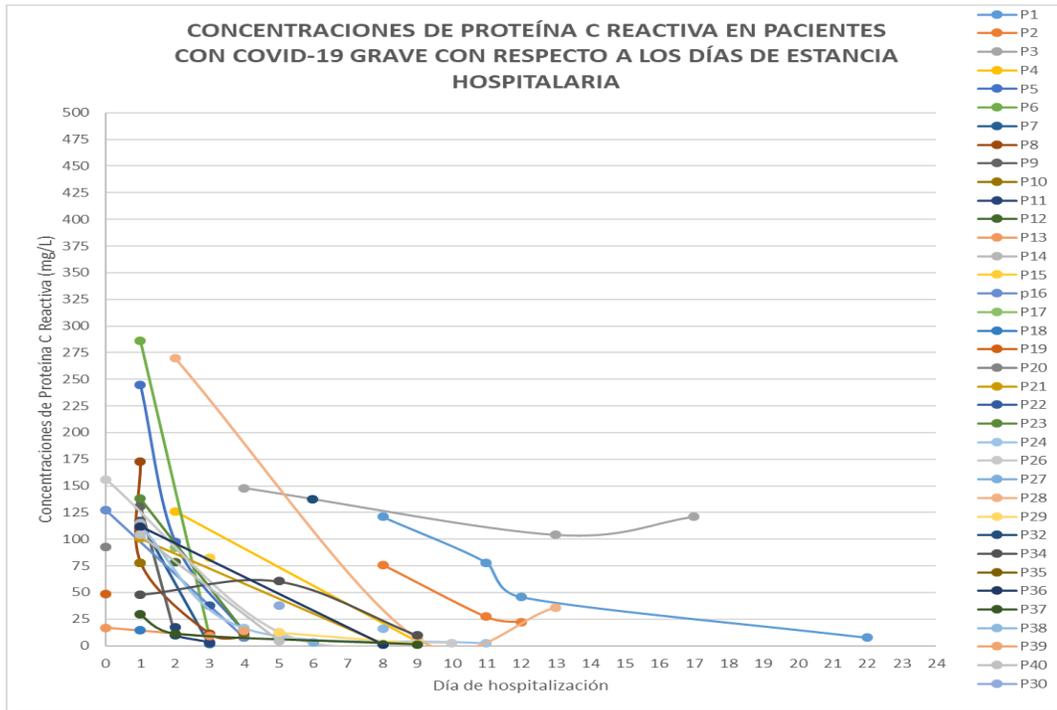
De las concentraciones de PCR la mínima observada fue en el paciente 36 (P36) con 1.09 mg/L en su octavo día de hospitalización, en total el paciente permaneció 9 días hospitalizado con 112 mg/L de PCR en su primer día.

Mientras que el valor más elevado de PCR fue en el paciente 6 (P6) con 286 mg/L en su segundo día de hospitalización, permaneciendo en total 10 días sin ayuda de ventilación mecánica asistida, observándose en su penúltimo día de estancia 10.5 mg/L.

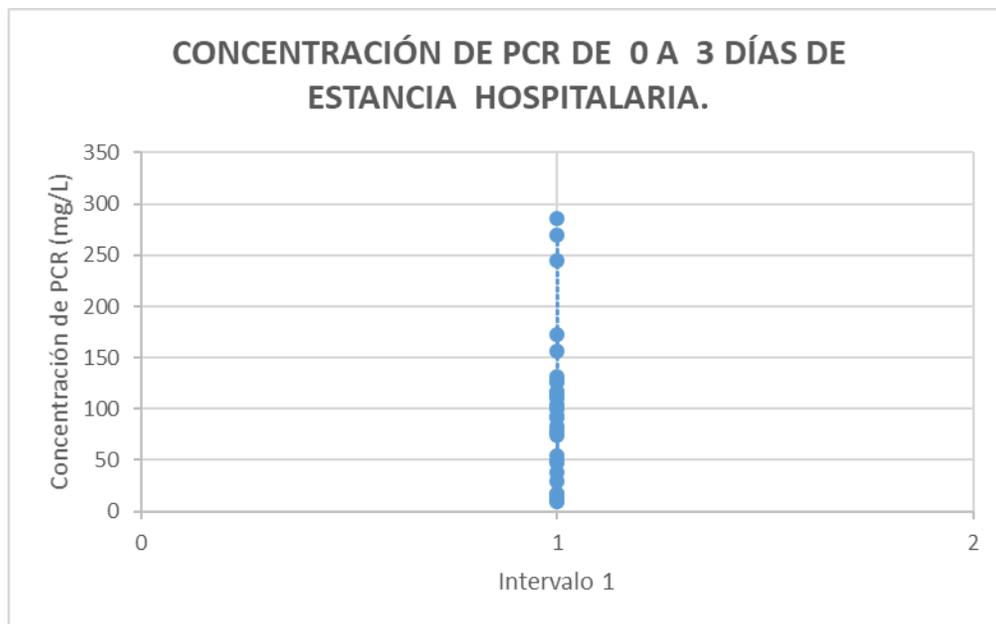
También se observa que los pacientes que se encuentran en el intervalo de 4 correspondiente a los días 12-15 de hospitalización las concentraciones de PCR se encuentran por arriba de 7.78 mg/L estos pacientes coinciden con haber contado con las concentraciones más altas de proteína C reactiva en los primeros días de hospitalización.



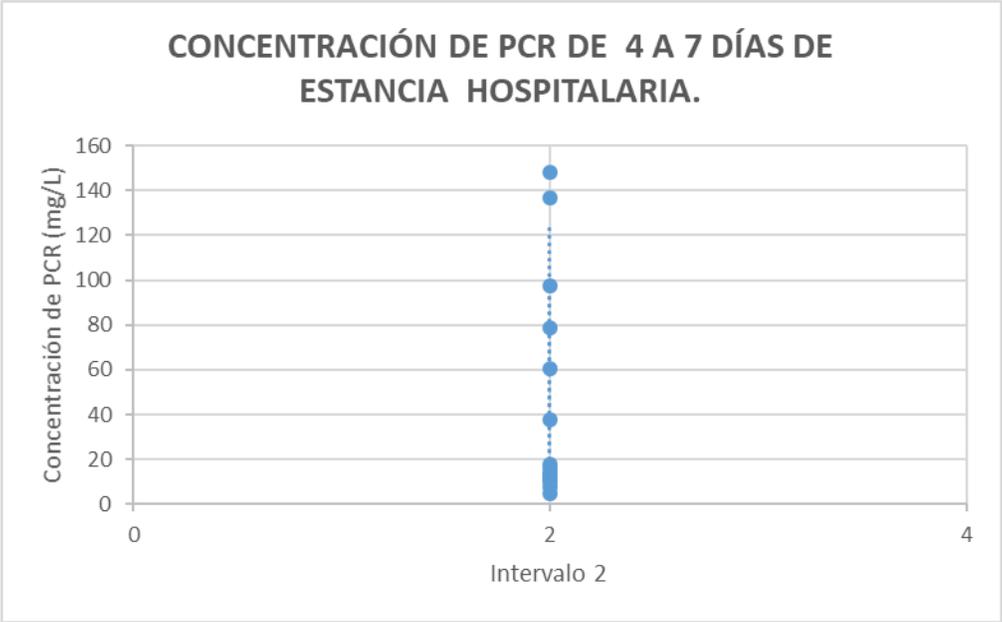
En la gráfica abajo se representan las concentraciones de PCR de acuerdo a sus días de hospitalización



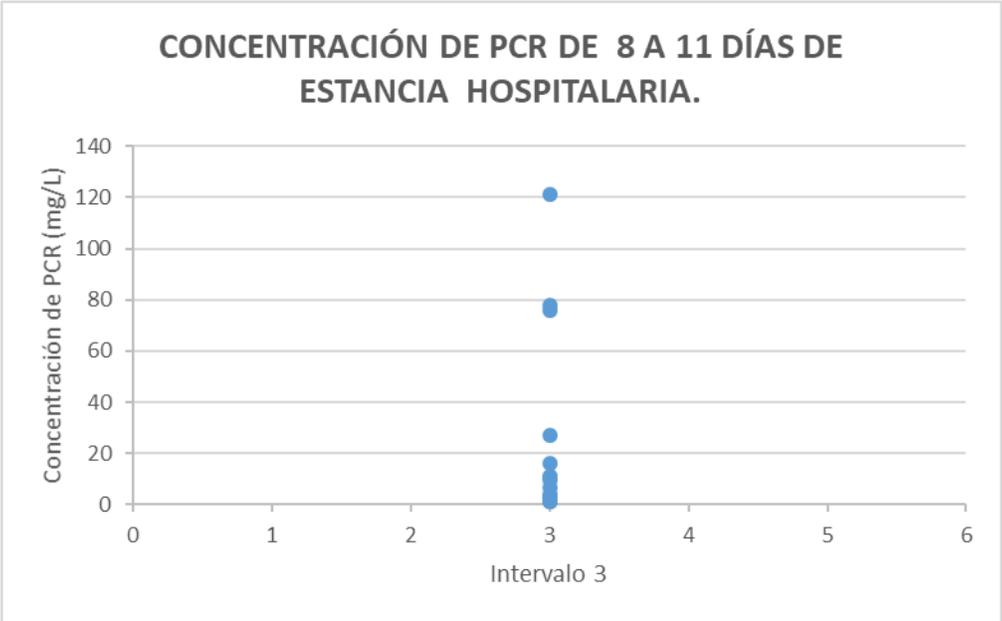
Ordenando los datos de acuerdo a la concentración de PCR y los intervalos de días de estancia hospitalaria se aprecia que la mayoría de pacientes con COVID-19 grave presentan concentraciones por debajo de 150 mg/L. Se obtuvieron 32 datos de PCR determinados entre los días 0 y 3 de estancia hospitalaria con una media de 99.29mg/L



Mientras para pacientes con 4 a 7 días de estancia hospitalaria la mayoría de las concentraciones de PCR oscilaron por debajo de 20 mg/L con una media de 40.61 mg/L se realizaron 17 determinaciones en este intervalo de días.

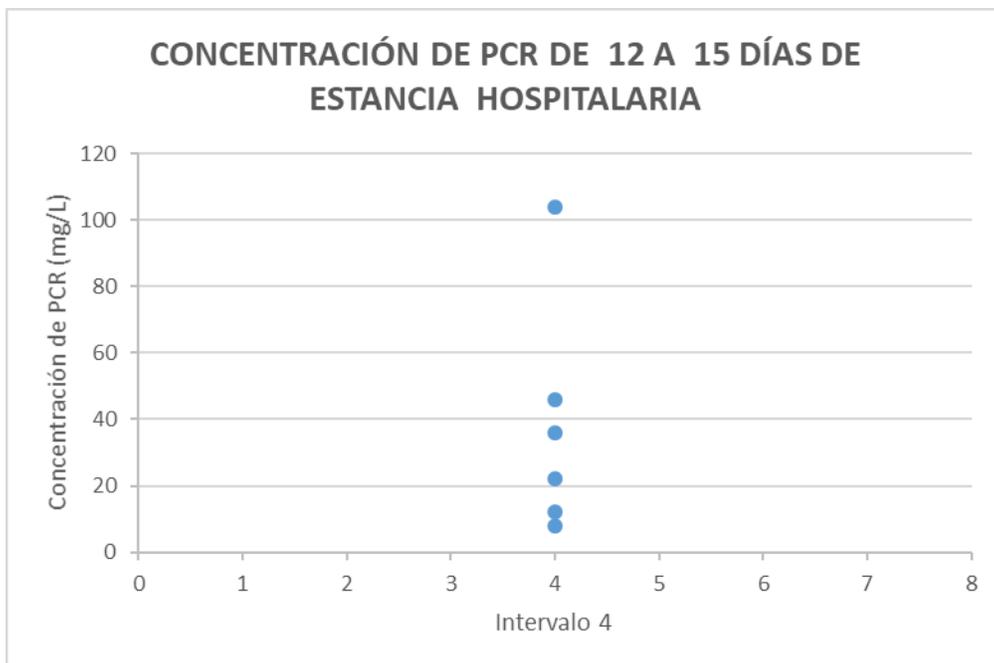


18 pacientes se les determinó PCR entre el día 8 y 11 de estancia hospitalaria con una media de 20.92 mg/L

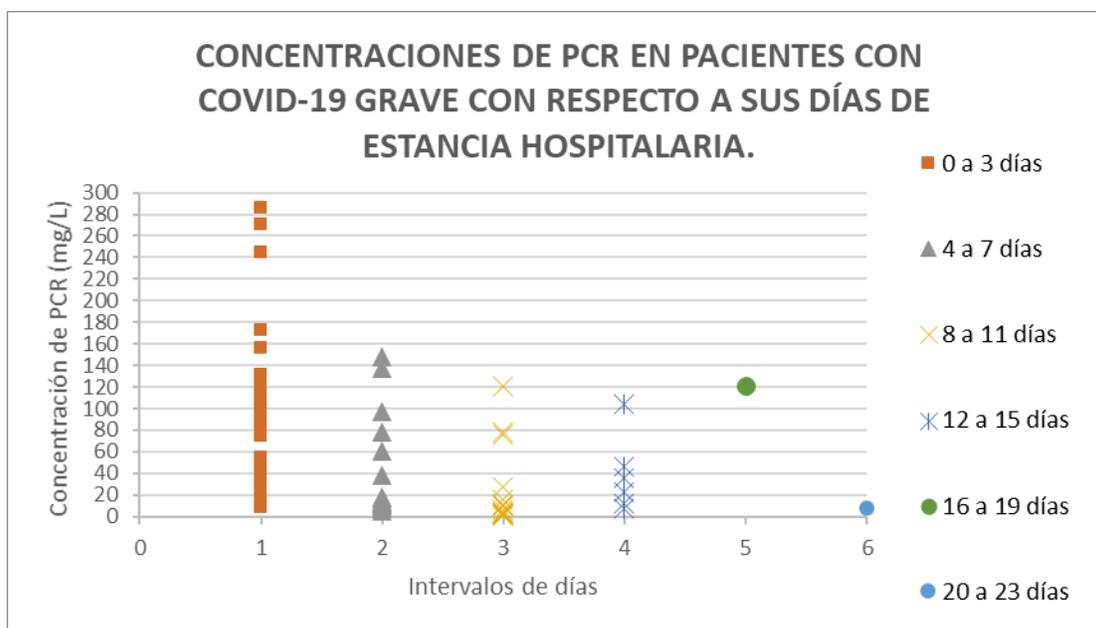


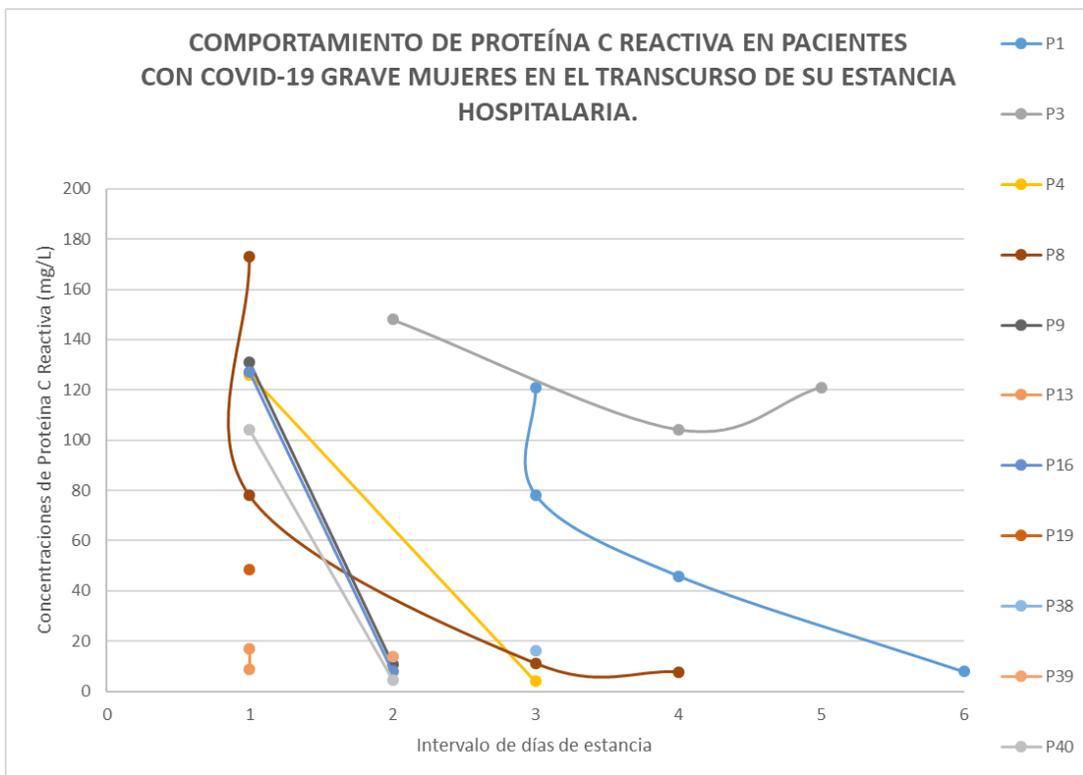
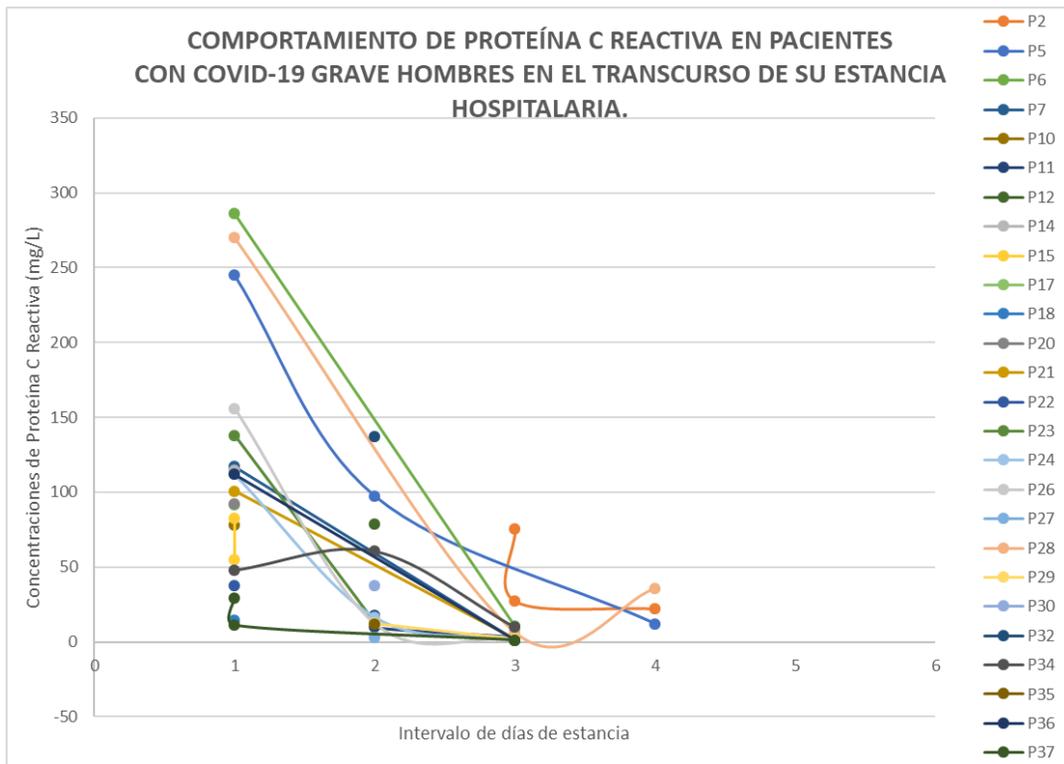
6 pacientes se les determinó por parte de sus médicos tratantes PCR con una media de 38.01 mg/L se redujo el número de pacientes con más determinaciones al

aumentar sus días de estancia hospitalaria debido a que todos estos pacientes fueros supervivientes y dados de alta en promedio alrededor 10.8 días



Únicamente se cuenta con una determinación de PCR en un paciente entre 16 y 19 días y otra determinación para los 20 a 23 días. Se muestra la distribución de las concentraciones de PCR con respecto a sus días de estancia hospitalaria.

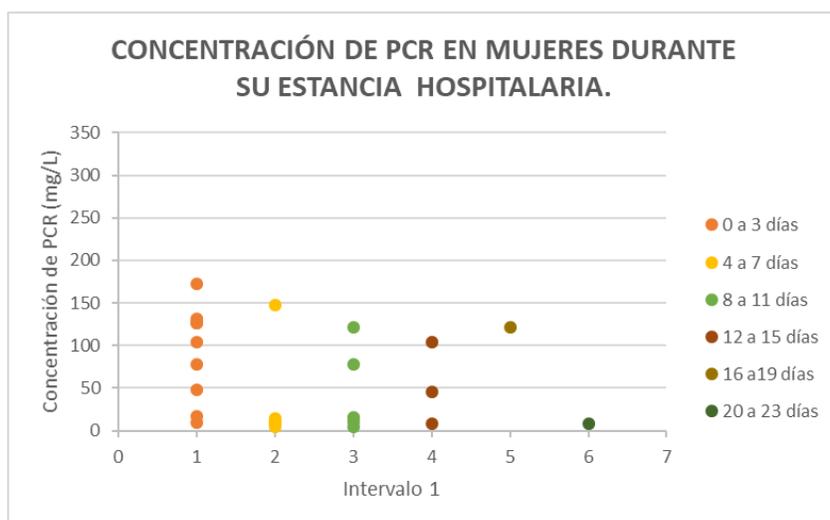
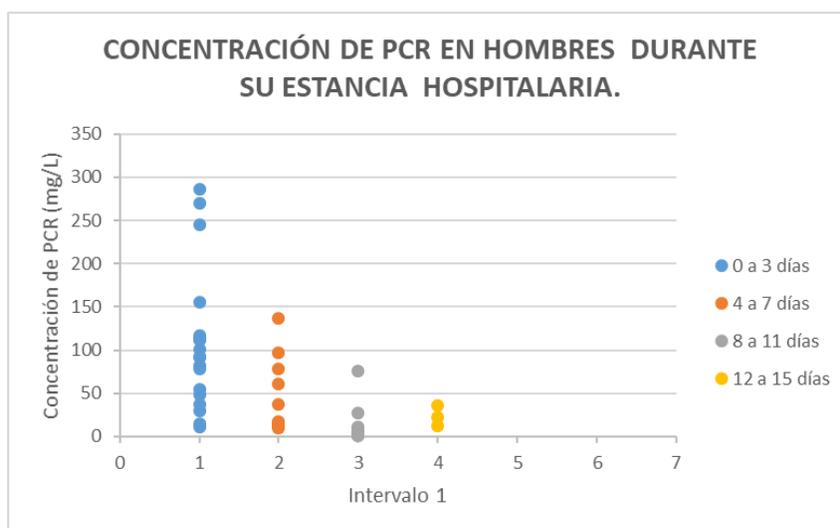




Se observa en las gráficas siguientes la distribución de las concentraciones de PCR con respecto a su estancia hospitalaria en hombres y mujeres respectivamente, al

obtener las medias de ambos grupos se aprecia que la concentración PCR en hombres es mayor con respecto a mujeres en entre los días entre los días 0 a 7 sin embargo entre los días 8 al 15 la situación se invierte siendo las concentraciones de PCR mayores en mujeres.

INTERVALO DE DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA	DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA	CONCENTRACIONES PROMEDIO DE PCR EN HOMBRES mg/L	CONCENTRACIONES PROMEDIO DE PCR EN MUJERES mg/L
1	0-3	108.12	90.32
2	4-7	42.10	37.02
3	8-11	11.25	46.04
4	12-15	23.46	52.56



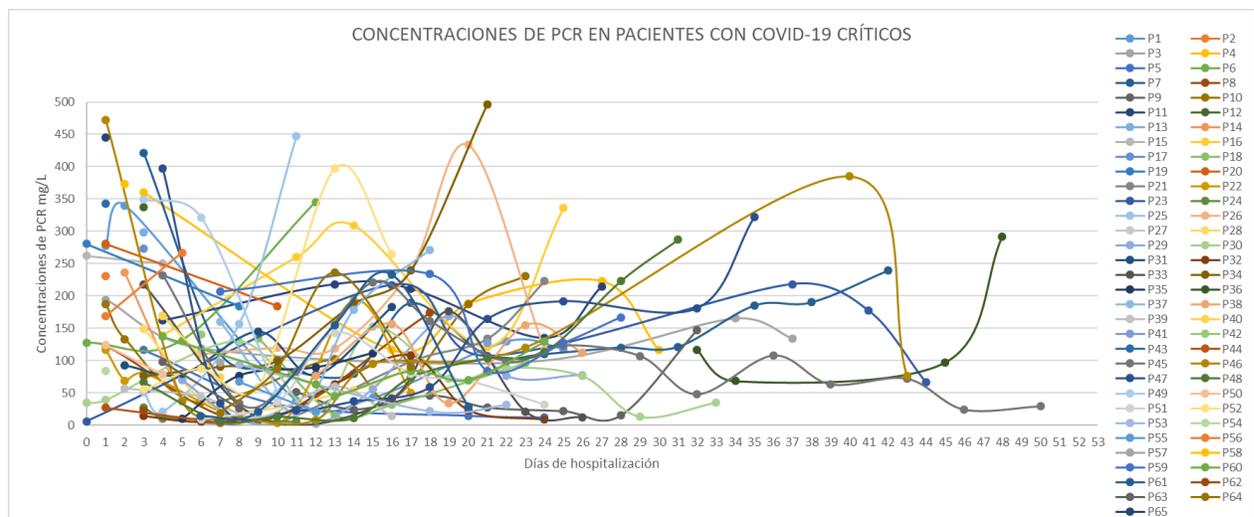
CONCENTRACIONES DE PCR EN PACIENTES CON COVID-19 CRÍTICO

Este grupo de pacientes todos necesitaron la ayuda de ventilación mecánica asistida.

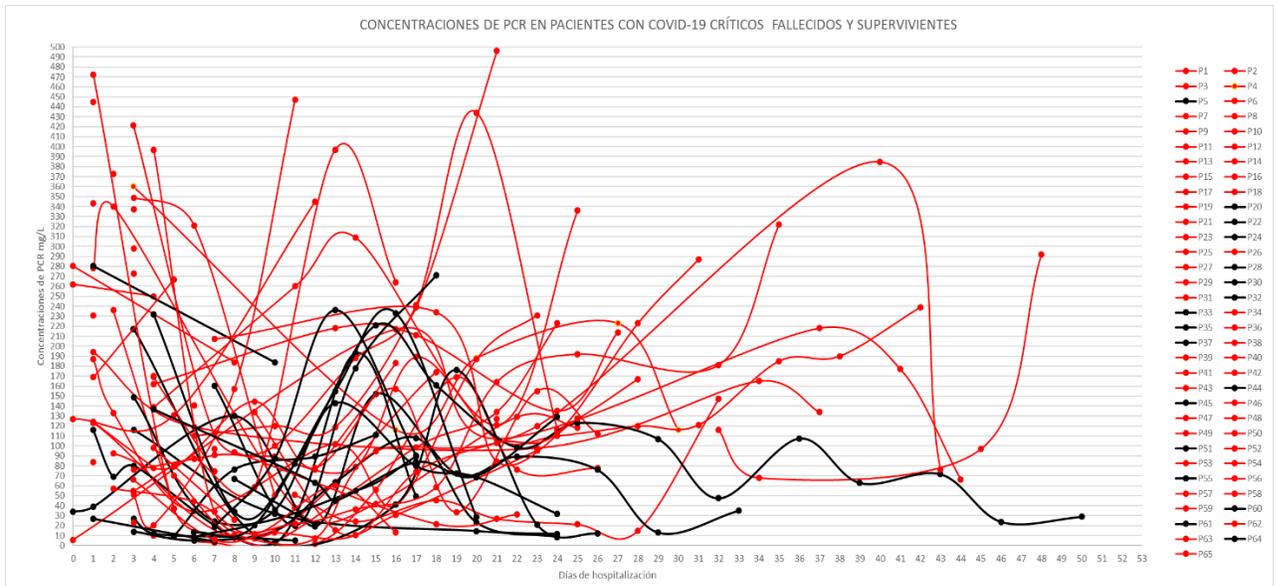
Del grupo de pacientes fallecidos por COVID-19 críticos la concentración de PCR máxima fue de 496 mg/L cuantificada en su 21 día de hospitalización. (Paciente 34). y la concentración mínima observada en este grupo fue de 1.7 mg/L (Paciente 29) en su 12 día de hospitalización.

Los pacientes supervivientes con COVID-19 crítico la concentración mínima observada fue del paciente 22 con 2.77 mg/L en su décimo día de hospitalización dado de alta en el día 17; la concentración máxima fue del paciente 20 en su primer día de hospitalización con 280.3 mg/L con una estancia hospitalaria de 6 días.

Se graficaron todos los valores de PCR de cada paciente con respecto a su día de hospitalización y se obtuvo el siguiente gráfico donde se observa que la mayoría de los pacientes mantuvieron concentraciones elevadas de proteína C reactiva.



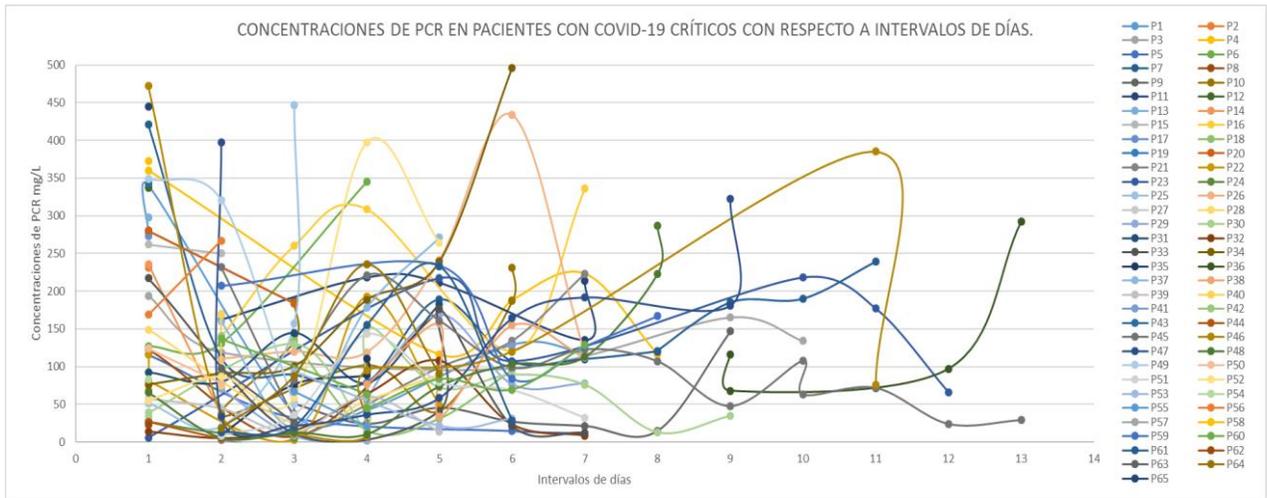
Se marcaron con línea roja los pacientes fallecidos con COVID-19 críticos y con líneas negras los pacientes supervivientes, se observa claramente que los pacientes fallecidos mantuvieron concentraciones de proteína C reactiva mucho mayores que los pacientes con COVID-19 críticos supervivientes.



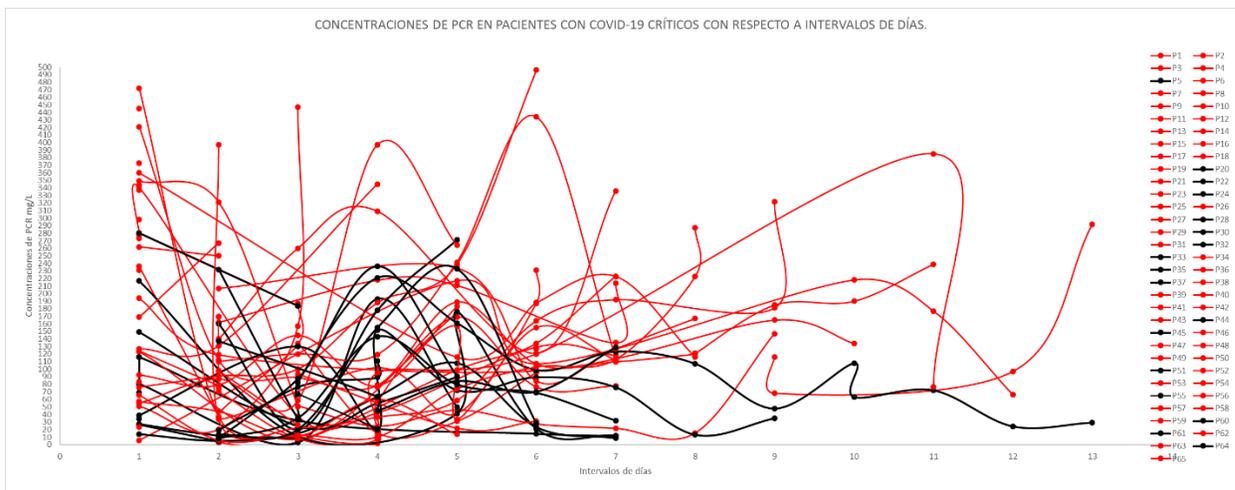
Igualmente se ordenaron los datos con respecto a intervalos de días de hospitalización quedando organizados de la siguiente manera.

INTERVALO DE DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA	DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA
1	0-3
2	4-7
3	8-11
4	12-15
5	16-19
6	20-23
7	24-27
8	28-31
9	32-35
10	36-39
11	40-43
12	44-47
13	48-51

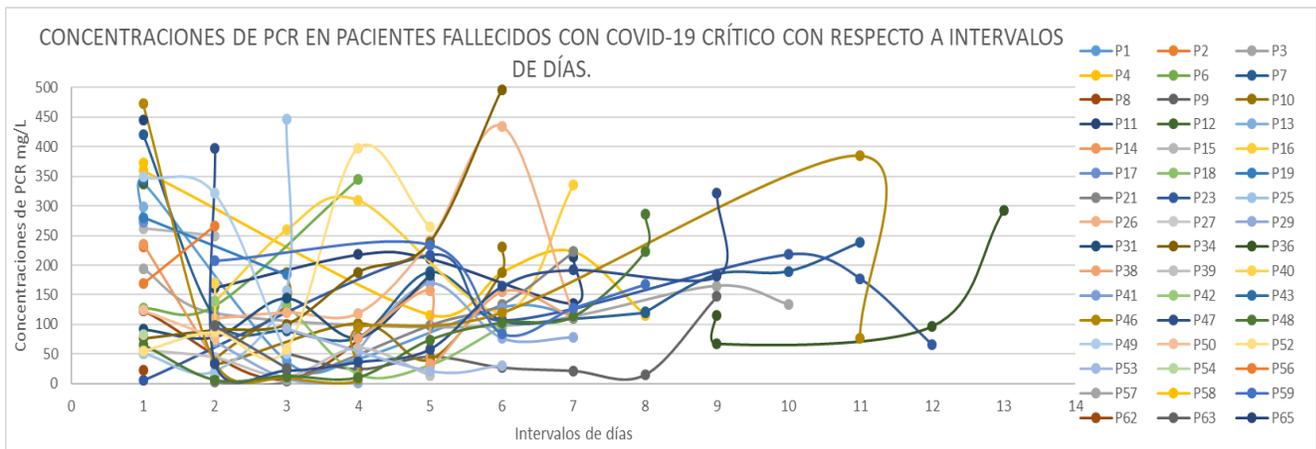
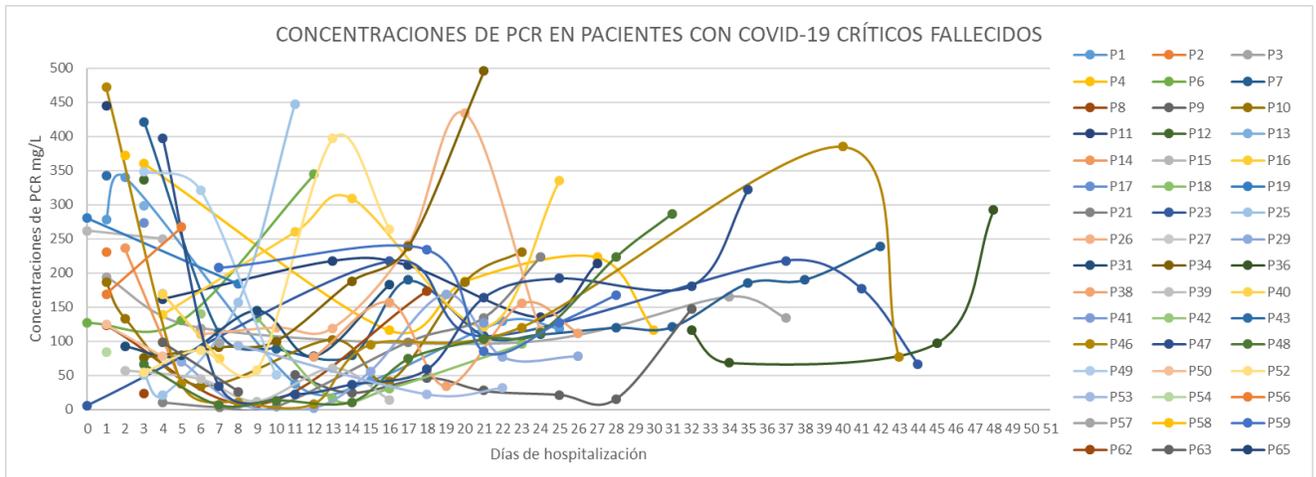
Obteniendo la siguiente gráfica.



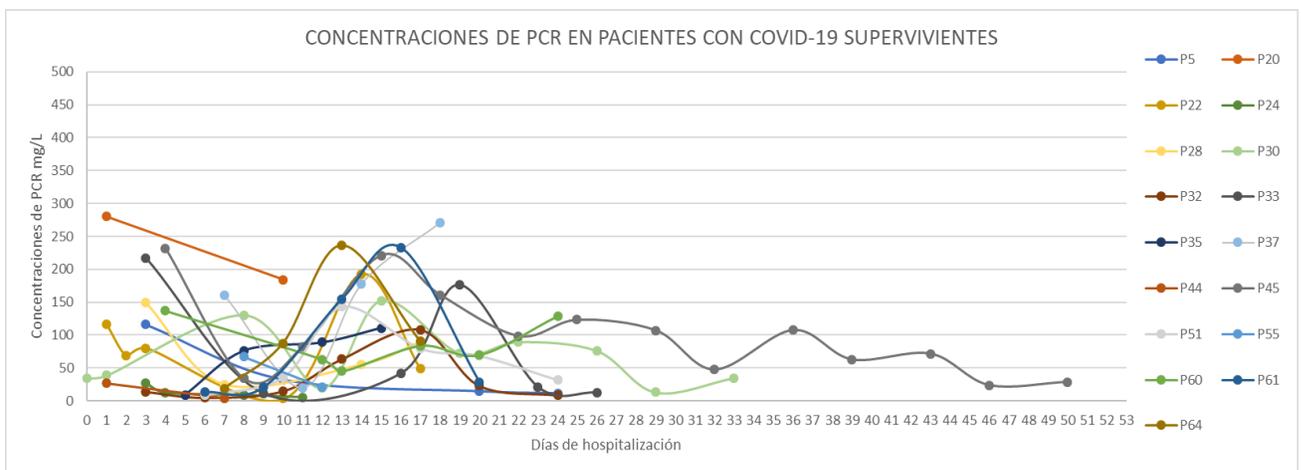
Se marcó también en línea roja los pacientes fallecidos y con línea negra los supervivientes se ordenaron los resultados de PCR por intervalos de días.



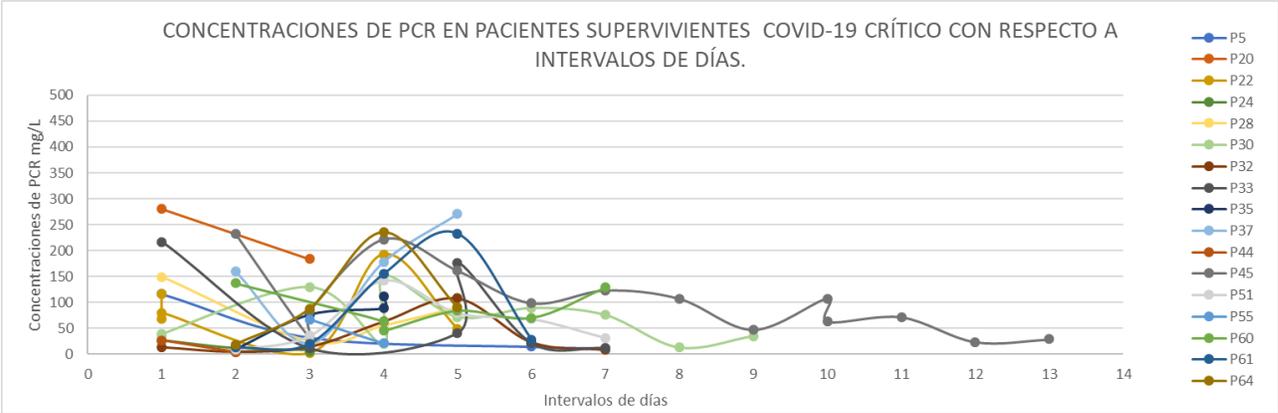
Los siguientes dos gráficos muestran únicamente los pacientes fallecidos; en uno se organizó por días de estancia y en el otro por intervalos de días hospitalarios.



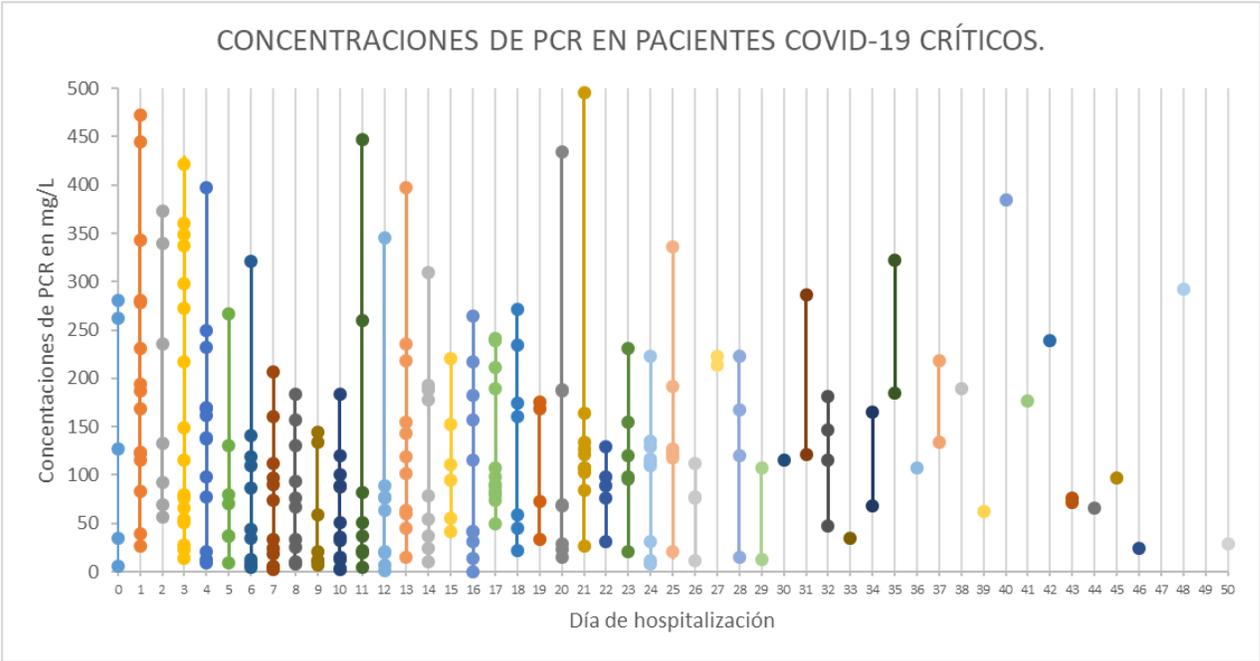
El mismo procedimiento se realizó con pacientes supervivientes con COVID-19 Críticos.



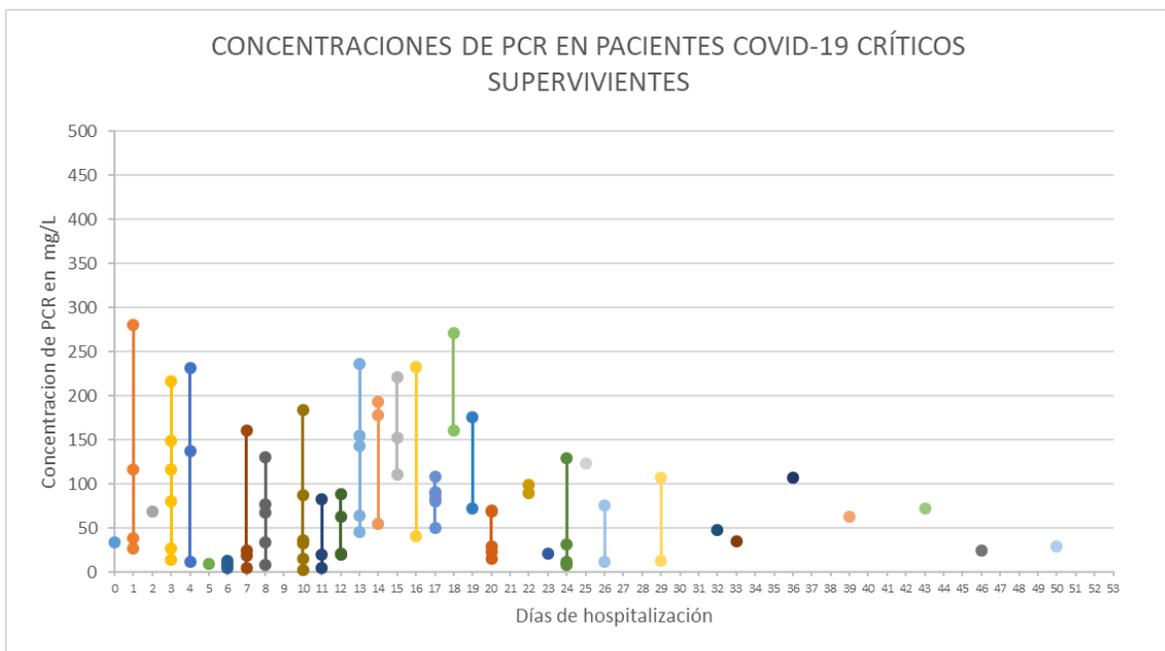
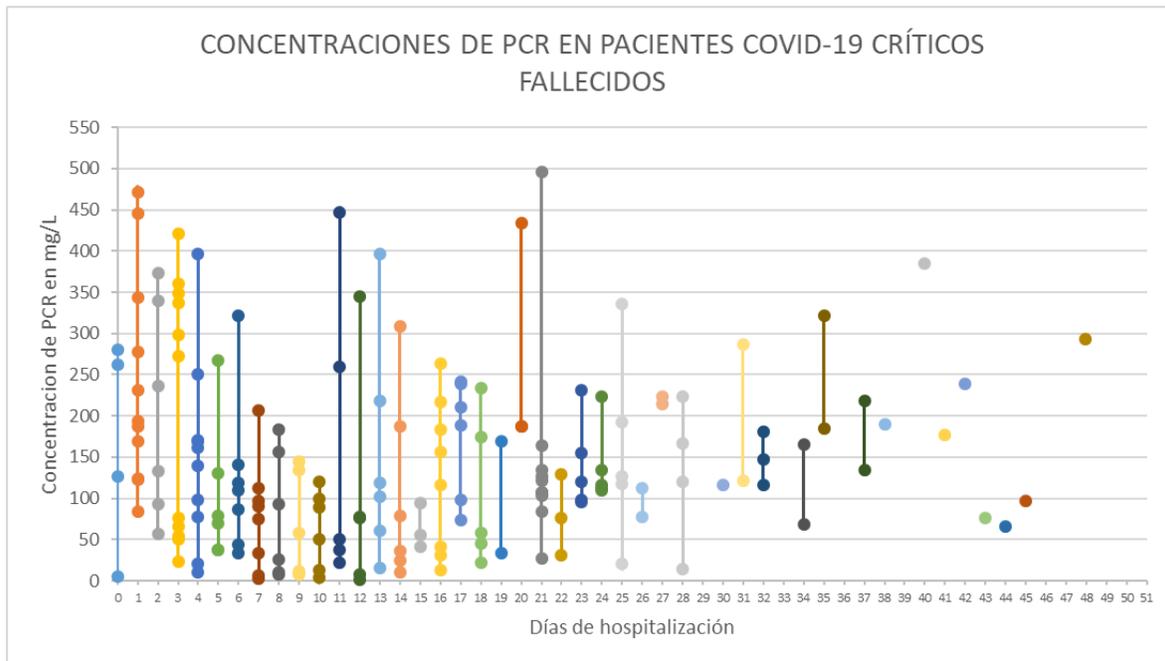
Se observa que las concentraciones de PCR en los pacientes supervivientes intubados disminuyen conforme transcurren los días, sin embargo, se aprecia posteriormente un incremento entre los días 8 al 23 de hospitalización para finalmente descender. Es importante mencionar que las concentraciones de pacientes supervivientes con COVID -19 crítico no rebasó los 300 mg/L, como en los pacientes fallecidos.



Se organizaron los resultados de proteína C reactiva de acuerdo a los días en donde se determinó el analito por ejemplo en el día 0 de hospitalización solamente se le determinó el analito a 5 pacientes, cada paciente se marca con un punto en este caso de color azul; en el día uno de hospitalización se analizó a 13 pacientes marcado cada uno con color naranja.

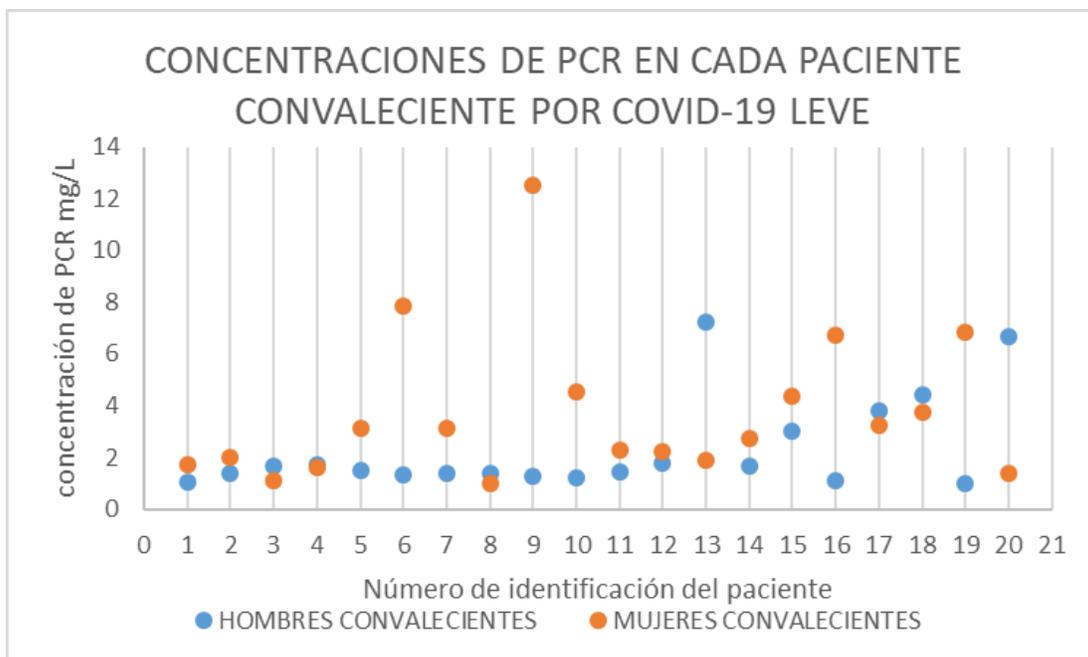


Se muestra nuevamente en los siguientes gráficos que las concentraciones en pacientes fallecidos intubados son mucho mayores con respecto a los pacientes supervivientes intubados.



CONCENTRACIONES DE PCR EN PACIENTES CONVALECIENTES CON COVID-19 LEVE.

Este grupo contó con 40 personas, las cuales fueron 20 mujeres y 20 hombres con edad promedio de 49 años y 44 años respectivamente. Todos ellos contaron con COVID-19 leve y no necesitaron atención médica intrahospitalaria. Se obtuvo muestra para determinar subpoblaciones linfocitarias y su concentración de proteína C reactiva en suero; en promedio la determinación de dichos parámetros fue a los 49.9 días posterior a sufrir los síntomas de COVID-19 en el caso de los hombres y 44.5 días en las mujeres. Las concentraciones promedio de Proteína C reactiva fue de 2.3 mg/L en hombres y 3.7 en mujeres.



Se ordenaron los datos de las concentraciones de PCR obtenidas en los diferentes días de hospitalización tanto de pacientes con COVID-19 críticos y graves clasificándolos por intervalos de días obteniendo las de las siguientes tablas:

PROMEDIO POR INTERVALOS DE DÍAS DE PCR (mg/L) EN PACIENTES CON COVID-19 CRÍTICOS FALLECIDOS

Intervalo de días	Días comprendidos	Promedio 1	Promedio 2	Promedio 3	Promedio 4	Promedio del intervalo de días.
1	0 a 3	168.8	240.9	205.3	209.9	206.2
2	4 a7	149.3	103.6	122.2	78.0	113.3
3	8 a 11	79.9	71.3	62.7	163.6	94.4
4	12 a 15	101.7	152.0	107.9	64.2	106.4
5	16-19	127.8	175.5	106.8	101.3	127.8
6	20-23	269.7	147.0	78.8	139.8	158.8
7	24-27	139.4	158.9	94.8	218.5	152.9
8	28-31	131.3		116.0	204.0	150.4
9	32-35	148.0		116.6	253.5	172.7
10	36-39		176.0	190.0		183.0
11	40-43	385.0	177.0	239.0	76.3	219.3
12	44-47	66.2	97.0			81.6
					PROMEDIO	147.2

PROMEDIO POR INTERVALOS DE DÍAS DE PCR (mg/L) EN PACIENTES CON COVID-19 CRÍTICOS SUPERVIVIENTES

Intervalo de día	Días comprendidos	Promedio mg/L	Promedio mg/L	Promedio mg/L	Promedio mg/L	Promedio del intervalo de días mg/L.
1	0 a 3	34.3	115.5	69	100.6	79.8
2	4 a7	127.1	9.3	8.9	51.9	49.3
3	8 a 11	63.3	15.9	59.4	35.7	43.6
4	12 a 15	48.1	128.5	142.0	161.3	120.0
5	16-19	137.2	83.5	216.0	124.2	140.2
6	20-23	41.0		93.9	21.1	52.0
7	24-27	45.2	123	44.0		70.7
8	28-31		60.1			60.1
9	32-35		35			35.0
10	36-39	107.5			62.9	85.2
11	40-43				71.7	71.7
12	44-47			23.9		23.9
13	48-51			28.9		28.9
					PROMEDIO	66.2

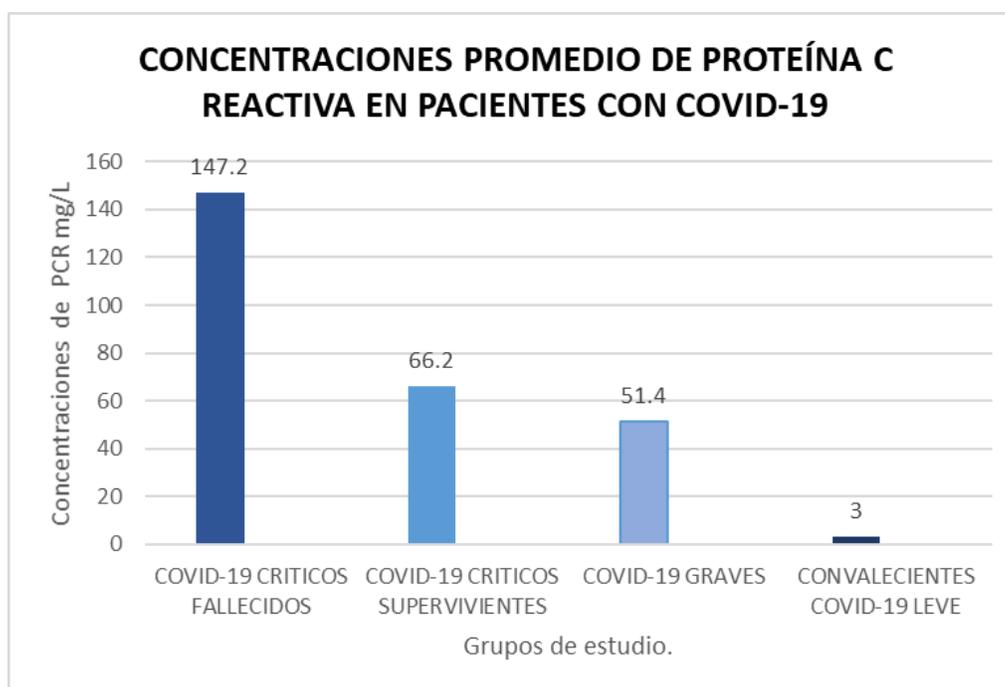
PROMEDIO POR INTERVALOS DE DÍAS DE PCR (mg/L) EN PACIENTES CON COVID-19 GRAVES.

INTERVALO DE DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA	DÍAS DE ESTANCIA HOSPITALARIA	CONCENTRACIONES PROMEDIO DE PCR EN HOMBRES	CONCENTRACIONES PROMEDIO DE PCR EN MUJERES	PROMEDIO
		mg/L	mg/L	
1	0-3	108.12	90.32	99.2
2	4 a7	42.1	37.02	39.6
3	8 a 11	11.25	46.04	28.6
4	12 a 15	23.46	52.56	38.0
			PROMEDIO	51.4

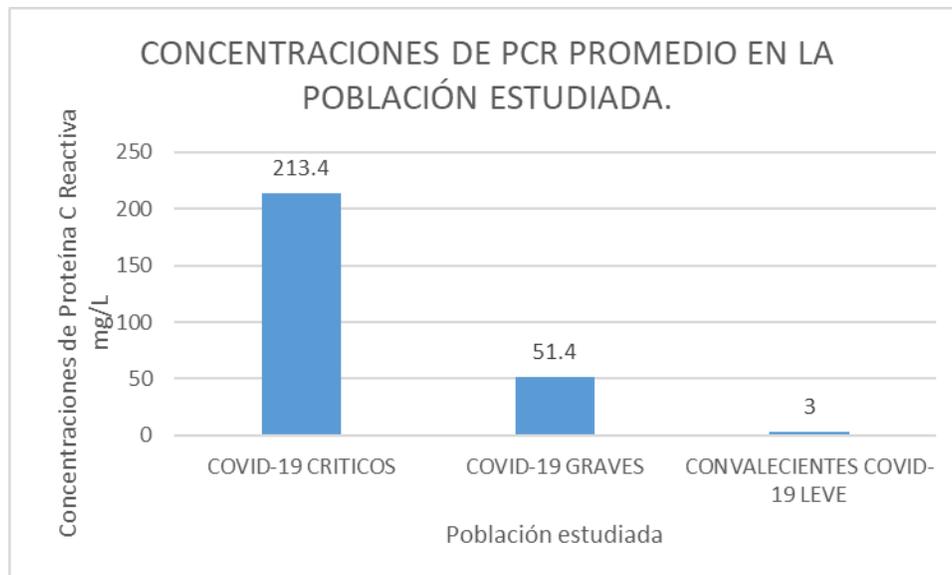
PROMEDIO DE PCR (mg/L) EN PACIENTES CONVALECIENTES CON COVID-19 LEVE.

HOMBRES	2.3 mg/L
MUJERES	3.7 mg/L
PROMEDIO	3.0 mg/L

En la gráfica se representa las concentraciones promedio de proteína C reactiva de los grupos estudiados, en el grupo de los pacientes críticos se marca la diferencia de concentraciones que existen en los pacientes con COVID-19 críticos fallecidos (barra amarilla).

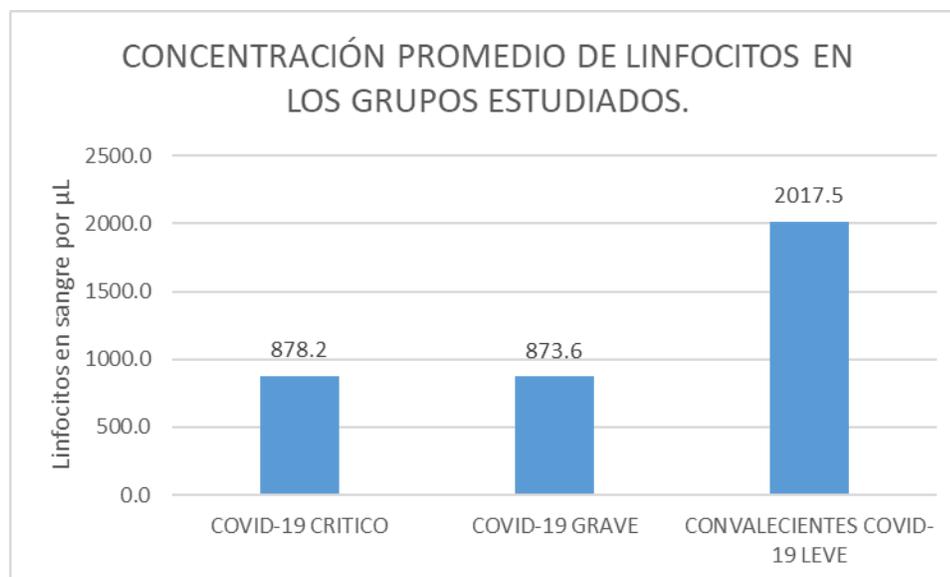


Comparando las tres poblaciones estudiadas se puede observar claramente que el mayor incremento de proteína C reactiva en los pacientes intubados mientras que el grupo de pacientes graves hay aumento de esta proteína sin embargo los pacientes convalecientes por COVID-19 leve regresan a sus niveles normales.



ANÁLISIS DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS.

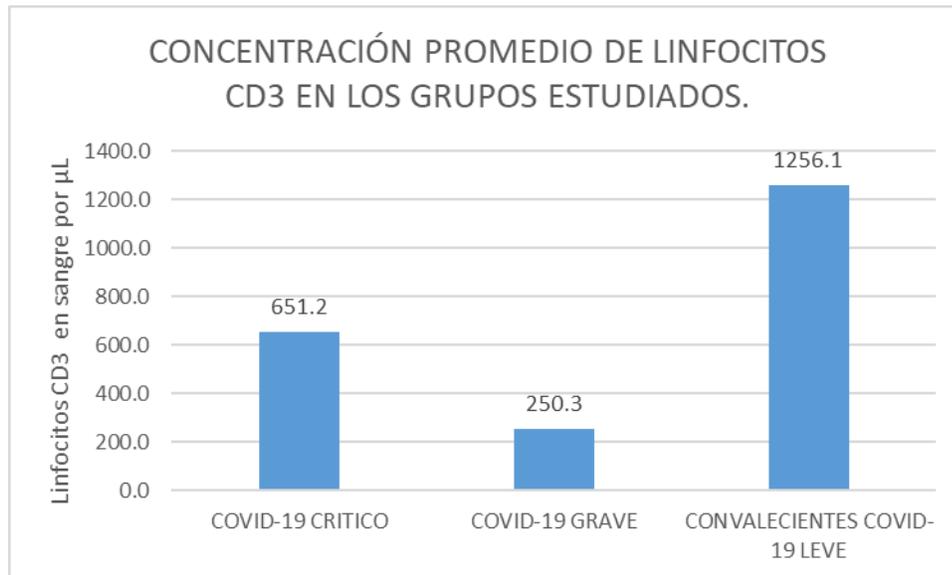
En general en los pacientes hospitalizados con COVID-19 grave y críticos se observa linfopenia mientras que los pacientes convalecientes con COVID-19 leve el número de linfocitos se encuentran dentro de parámetros normales.



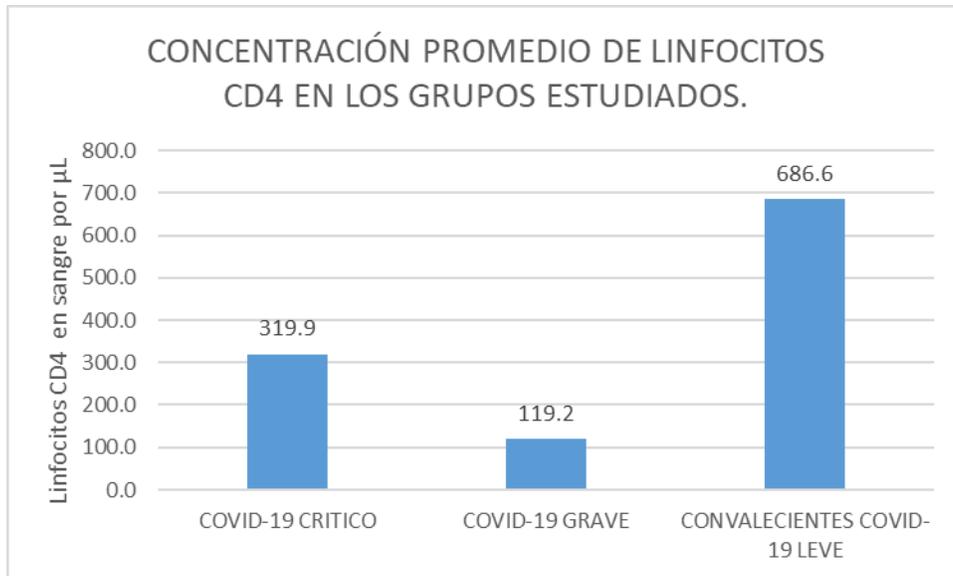
Los resultados obtenidos por citometría de flujo de las subpoblaciones linfocitarias describen a continuación:

Las concentraciones de CD3 que es un marcador para todo tipo de linfocitos están por debajo de las concentraciones normales reportadas en la población mexicana (852 a 3264 cel/ μ L) para los pacientes con COVID-19 grave y críticos, datos obtenidos de “determinación de concentración de subpoblaciones de linfocitos en donadores adultos sanos CMN 20 de noviembre”

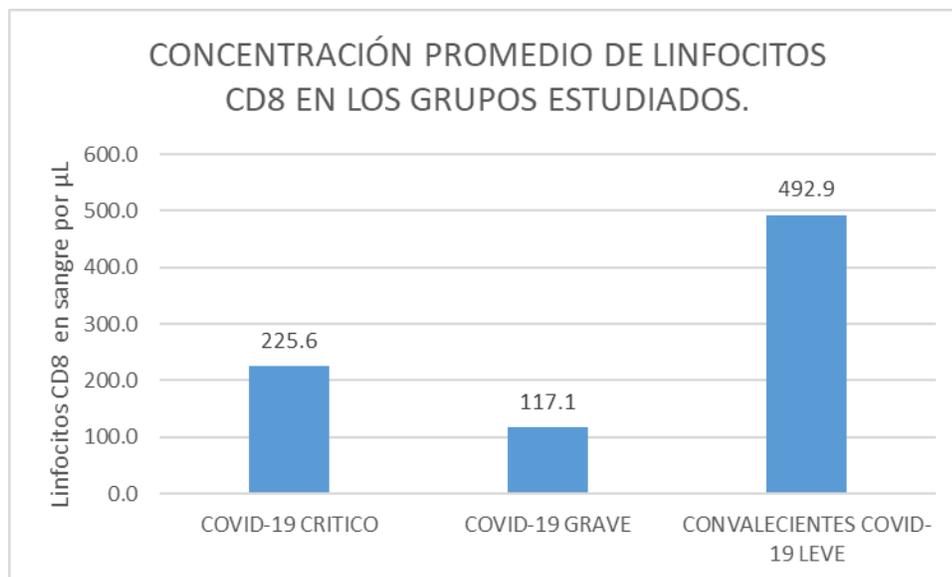
Observándose una disminución de dichas células en los pacientes con COVID-19 grave en lugar que los pacientes con COVID-19 crítico como se esperaba.

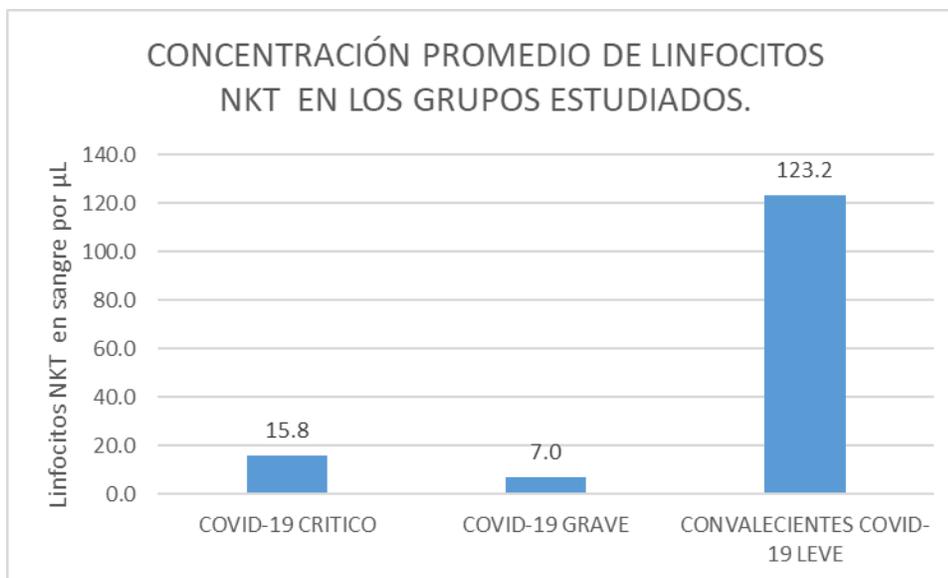


La concentración de linfocitos T cooperadores (CD4) se encuentran disminuidos en ambos grupos hospitalizados encontrándose mucho más bajos en los pacientes con COVID-19 grave. (Concentraciones normales 580-1944 cel/ μ L)

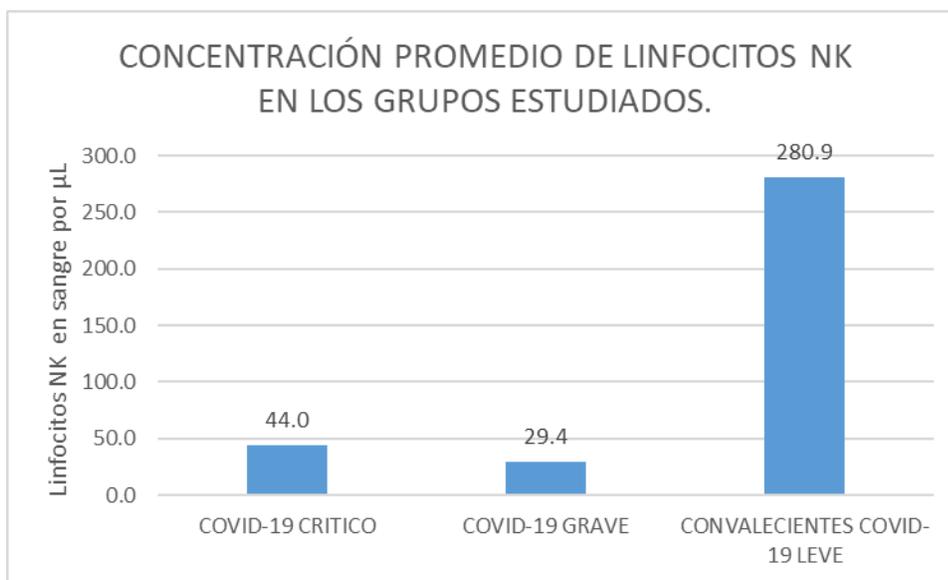


En el caso de los linfocitos citotóxicos (CD8) se observa lo mismo habiendo una disminución de linfocitos por debajo de las concentraciones en ambos grupos que permanecieron en hospitalización, con una franca disminución en los pacientes con COVID-19 grave, mientras que los pacientes convalecientes muestran niveles normales. (Concentración normal de 264 - 1533 cel/ μL)

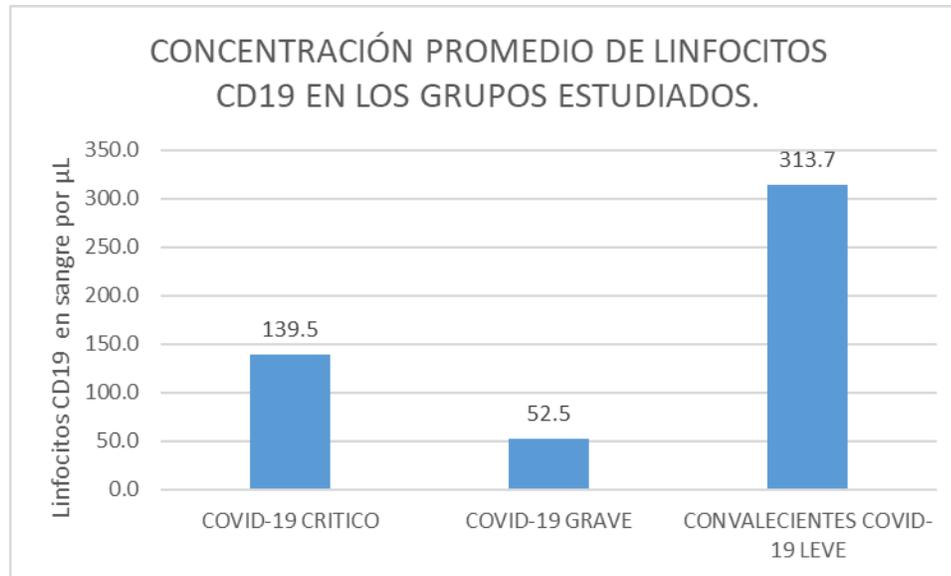




Misma situación se presenta para las células NK donde los valores normales reportados en la literatura oscilan entre 70-480 cel/ μL encontrando en nuestros pacientes que sufrieron COVID-19 crítico y grave una clara disminución en estas células.



Los linfocitos B (CD19) se muestran en la gráfica inferior. En la literatura los niveles de linfocitos B oscilan alrededor de 110-570 cel/ μL , lo que se observa una clara disminución de estas células con respecto a los pacientes con COVID -19 convalécientes.



Correlación de las subpoblaciones linfocitarias con respecto a las concentraciones de proteína C reactiva.

COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 GRAVE						
PROTEÍNA C REACTIVA mg/L	(CD3/ μL)	(CD4/ μL)	(CD8/ μL)	(CD19/ μL)	(NK/ μL)	(NKT/ μL)
Coeficiente de correlación de Spearman	0.140	0.164	0.081	-0.146	-0.130	-0.108
Valor de P	0.338	0.259	0.579	0.315	0.372	0.459
N	49	49	49	49	49	49

No se encuentran valores de P clínicamente significativas ni tampoco se encontró correlación entre las concentraciones de Proteína C reactiva y las subpoblaciones linfocitarias de los pacientes con COVID-19 grave.

COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 CRÍTICOS							
PROTEÍNA C REACTIVA mg/L	(Linfocitos/ μL)	(CD3/ μL)	(CD4/ μL)	(CD8/ μL)	(CD19/ μL)	(NK/ μL)	(NKT/ μL)
Coeficiente de correlación de Spearman	-0.007	-0.029	-0.101	0.032	-0.065	0.148	0.133
Valor de P	.935	0.745	0.260	0.721	0.471	0.098	0.137
N	126	126	126	126	126	126	126

No se encontró correlación con respecto a las subpoblaciones linfocitarias y proteína C reactiva en pacientes con COVID-19 críticos.

COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 CRÍTICOS FALLECIDOS							
PROTEÍNA C REACTIVA mg/L	(Linfocitos/ μ L)	(CD3/ μ L)	(CD4/ μ L)	(CD8/ μ L)	(CD19/ μ L)	(NK/ μ L)	(NKT/ μ L)
Coeficiente de correlación de Spearman	0.045	-0.043	-0.061	0.059	-0.54	0.242*	0.267*
Valor de P	0.684	0.699	0.582	0.594	0.623	0.027	0.014
N	84	84	84	84	84	84	84

*Estadísticamente significativo con una $p \leq 0.05$

Sin embargo, en los pacientes críticos que fallecieron se encontraron valores significativos con respecto a de NK y NKT en correlación baja con las concentraciones de PCR, mientras que en pacientes críticos que sobrevivieron no se observó el mismo comportamiento como se puede observar en la tabla de abajo.

COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 CRÍTICOS SUPERVIVIENTES							
PROTEÍNA C REACTIVA mg/L	(Linfocitos/ μ L)	(CD3/ μ L)	(CD4/ μ L)	(CD8/ μ L)	(CD19/ μ L)	(NK/ μ L)	(NKT/ μ L)
Coeficiente de correlación de Spearman	0.124	0.189	0.031	0.230	0.126	0.124	-0.011
Valor de P	0.433	0.231	0.846	0.143	0.427	0.432	0.945
N	42	42	42	42	42	42	42

COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE SPEARMAN EN LA POBLACIÓN DE PACIENTES CONVALECIENTES POR COVID-19 QUE NO REQUIRIERON HOSPITALIZACIÓN.								
PROTEÍNA C REACTIVA mg/L	Leucocitos/ μ L	Linfocitos/ μ L	CD3/ μ L	CD4/ μ L	CD8/ μ L	CD19/ μ L	NK/ μ L	NKT/ μ L
Coeficiente de correlación de Spearman	0.454**	0.222	0.336*	0.469**	0.091	0.389*	-0.015	0.084
Valor de P	0.003	0.170	0.034	0.002	0.577	0.013	0.929	0.606
N	40	40	40	40	40	40	40	40

*Estadísticamente significativo con una $p \leq 0.05$

**Estadísticamente significativo con una $p \leq 0.01$

El grupo donde se pudo observar una clara correlación positiva entre las concentraciones de proteína C reactiva y las subpoblaciones linfocitarias fue las que provenían de pacientes que sufrieron COVID-19 leve, es decir no tuvieron la

necesidad de permanecer hospitalizados, los cuales fungieron como nuestro grupo convalecientes. Se observó la diferencia significativa con una $p \leq 0.05$ con una baja correlación para CD3+, y CD19, mientras que una $p \leq 0.01$ para la correlación de la concentración de PCR con respecto a la cantidad por microlitro de leucocitos y CD4 ambos con una correlación media.

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de Proteína C reactiva no se relacionan significativamente con las concentraciones de subpoblaciones de linfocitos en pacientes graves y críticos, ni hay relación con convalecientes por COVID-19.
2. Con respecto a las subpoblaciones linfocitarias están claramente marcada la disminución de las concentraciones linfocitarias en pacientes graves y críticos con respecto a los pacientes convalecientes que no necesitaron hospitalización.
3. Hay una correlación baja positiva de las concentraciones de proteína C reactiva con respecto a las concentraciones de las subpoblaciones linfocitarias en CD3⁺, CD4⁺ y CD19⁺ pacientes convalecientes.

Sin embargo, en las observaciones realizadas en proteína c reactiva se obtiene.

4. Las mayores concentraciones de proteína C reactiva (PCR) se observaron en pacientes críticos con un promedio de 213.4 mg/L, todos estos pacientes se mantuvieron intubados; el grupo de los fallecidos, mostraron la concentración más alta de PCR con respecto a los otros grupos estudiados, con un promedio de 147.2 mg/L; mientras que, los pacientes que permanecieron hospitalizados sin la necesidad de ventilación mecánica asistida, en promedio mantuvieron concentraciones de PCR de 51.4 mg/L, y los pacientes convalecientes que no necesitaron hospitalización durante el periodo sintomático sus concentraciones promedio fueron de 3 mg/L. Esto pudiera ayudar al clínico para decidir y clasificar al paciente con COVID-19 y dar un manejo ya sea intrahospitalario o ambulatorio.

REFERENCIAS

1. Pan American Health organization. World Health Organization Regional Office for The Americas Laboratory Guidelines for the detection and Diagnosis of COVID-19 virus Infection. (2020)
2. Duan K, Li B, Li C, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. PNAS (2020); 117, 9490-9496.
3. Fan W, Zhao B, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature. (2020); 579, 267-269
4. Jacome R, Campillo J, Ponce S et al. Sofosbuvir as a Potential alternative to treat the SARS-CoV-2 epidemic. Nature research. (2020) doi.org/10.1038/s41598-020-66440-9
5. Ahmet Kursat Azkur, Mübeccel Akdis. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19 Allergy (2020) doi: 10.1111/all.14364
6. He R, Lu Z, Zhang L et al. The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia. Journal of Clinical Virology (2020).127. 104361 doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104361
7. Chirag Bavish, Thomas M. Manddoh. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Infection and Renin Angiotensin, System Blockers. JAMA Cardiology, (2020) doi:10.1001/jamacardio.2020.1282
8. Wagner Gray P. Fisiología de la hipertensión arterial: nuevos conceptos. Rev Peru Ginecol Obstet. (2018); 64-2, 175-184
9. Balachandar V, Mahalaxmi I, Subramanian M, et al. Follow up studies in COVID 19 recovered patients is it mandatory? Science of the Total Environment (2020), 729 139021 doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139021
10. Yingxia Liu, Yang Yang, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. Science China (2020); 63, 364-374
11. Qin C, Zhou L, et al, Dysregulation of immune response in patients with COVID19 in Wuhan, China. Clin. Infect Dis. (2020) doi: 10.1093/cid/ciaa248

12. Andina David, Noguera Morel Lucero. et al, Chilblains in children in the setting of COVID 19 pandemic. *Pediatric Dermatology*. (2020); 37, 406-411
13. Liu J, Li S, Liu J et al. Longitudinal Characteristics of lymphocyte responses and cytokin profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine*. (2020); 55, 102763 doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102763
14. Bo. X, Cun-Yu F, et al, Supressed T cell mediated immunity in patients with COVID 19: A clinical retrospective study in Wuhan China. *Journal of infection*. (2020); 22, 21-30
15. Carrillo R, Sánchez M et al. Evolución de la definición del síndrome de insuficiencia respiratoria aguda. *Med Int Méx*. (2018); 34,4, 594-600.
16. Liu P, Zheng J, Yang P et al. The immunologic status of newborns born to SARS-CoV-2-infected mothers in Wuhan, China *J Allergy Clin Immunol*. (2020);146, 101-109
17. Li. H, Chena k, Liub M et al. The profile of peripheral blood lymphocyte subsets and serum cytokines in children with 2019 novel coronavirus pneumonia. *Journal of infection* (2020) 14:37 doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.001
18. Chiarini M, Pagherab S. Moratto D et al. Immunologic characterization of immunosuppressed multiple sclerosis patient that recovered from SARS-Cov-2 infection, *Journal of Neuroimmunology*. (2020);345. doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577282
19. Tan L, Wang Q, Zhang D et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19 a descriptive and predictive study, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. (2020) 5:33.
20. Wang F. Nie J, Wang H, et al. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alteration in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis*. (2020). doi 10.1093/infdis/jiaa150
21. Huang W, Berube J. McNamara M et al. Lymphocyte subset counts in COVID-19 patients a meta-analysis. *Cytometry A*. (2020) Jun 15. doi 10.1002/cyto.a.24172.
22. Zhang L, Pang R, Xue X et al. Anti-SARS-CoV-2 virus antibody levels in convalescent plasma of six donors who have recovered from COVID-19. *AGING* (2020); 12, doi:1018632/aging.103102.

23. Urquizo G, Arteaga R. et al. Utilidad de los reactantes de fase aguda en el diagnóstico clínico. Rev. Med. La Paz, (2019); 25-2, 91-98
24. Urquizo G, Arteaga R. Proteína C reactiva en el diagnóstico y pronóstico de enfermedades infecciosas en pacientes geriátricos. Revista Médica la Paz. 23, 69-73 (2017)
25. Gallego M, Pomares X. et al. C-reactive protein in outpatients with acute exacerbation of COPD: its relationship with microbial etiology and severity. International Journal of COPD.11, 2633-2640 (2016).
26. Amezcua L. Springall R. et al. Proteína C reactiva aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda. Archivos de Cardiología de México 77, 58-66 (2007)
27. Organización Mundial de la Salud. Manejo clínico de la COVID-19. Orientaciones provisionales. 27 de Mayo de 2020. WHO/2019-nCoV/clinical/2020.5

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

ACTIVIDAD	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE
Elaboración de Marco Teórico							
Elaboración del protocolo							
Presentación al comité de Investigación							
Recopilación y creación de base de datos							
Análisis de resultados							
Elaboración del escrito de la tesis							

TÉCNICAS UTILIZADAS

DETERMINACIÓN POR CITOMETRIA DE FLUJO PARA CUANTIFICACION DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN PACIENTES CONVALESCIENTES Y PACIENTES CON COVID 19 GRAVE Y CRÍTICOS.

En un tubo de EDTA se determinará el número de leucocitos y linfocitos pasando la muestra en el equipo ADVIA (RUBY) la cantidad de leucocitos totales deberán estar entre 1.0×10^3 y 9.4×10^3 en caso de no estar dentro de este rango se realizará una dilución o se agregará mayor cantidad de muestra según sea el caso.

Se prepara mezcla de anticuerpos monoclonales de cada uno agregar 20 μ L. Esta mezcla de anticuerpos contendrá los siguientes anticuerpos CD-19-FITC, CD8-APC, CD 45-V500, CD19-FITC, CD16+CD56-PE, CD3 PerCP. Para el control isotipo se utilizarán anticuerpos de ratón marcado IgG1.FITC e IgG-PE. Todos los anticuerpos monoclonales comercializados por Becton Dickinson.

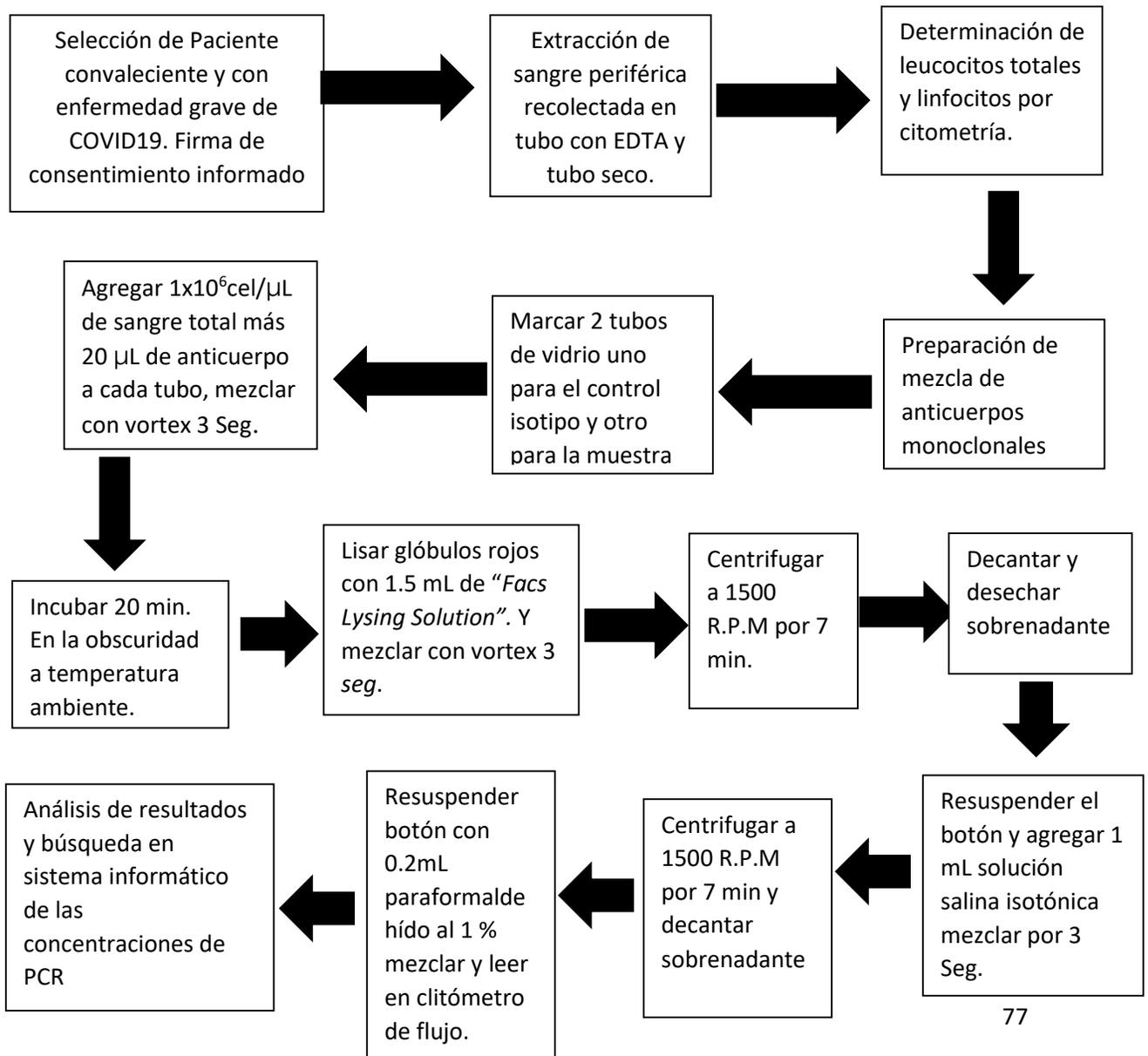
Se prepara dos tubos limpios de vidrio de 12 x 75 mm por cada paciente a analizar.

Un tubo contendrá el control de isotipo, un segundo tubo que contendrá la muestra y la mezcla de anticuerpos monoclonales.

A cada tubo se añade 1×10^6 células por microlitro de sangre total se mezcla en el agitador vortex a baja velocidad por 3 segundos y se incuba 20 minutos a temperatura ambiente en obscuridad.

Posterior a la incubación los glóbulos rojos serán lisados con 1.5 mL de solución "*Facs Lysing Solution*" (Becton Dickinson), inmediatamente mezclar con el vortex a baja velocidad por 3 segundos y centrifugar los tubos a 1500 revoluciones por

minuto (RPM) durante 7 minutos. Decantar los tubos y desechar el sobrenadante. Volver a resuspender el botón residual y agregar 1 mL de solución salina isotónica mezclar a baja velocidad con vortex durante 3 segundos y centrifugar a 1500 revoluciones por 7 min. Decantar el sobrenadante y resuspender el botón con 0.2 mL de paraformaldehído al 1 %, mezclar con vortex a baja velocidad por 3 segundos. Al terminar dicho procedimiento la muestras estarán listas para ser leídas por el citómetro de flujo marca FACS CANTO II con el programa FACSDiva v8.1.1(Becton Dickinson).



DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE PROTEÍNA C REACTIVA MEDIANTE EL MÉTODO DE INMUNONEFELOMETRÍA.

Se medirá con Instrumento Image 800 Immunochemistry System de Beckman Coulter para la determinación de proteína C reactiva ultrasensible con “*calibrador 5 Plus*”

Fundamento

Este ensayo mide la tasa de incremento de la dispersión de la luz de partículas suspendidas en solución como resultado de complejos formados durante la reacción antígeno anticuerpo.

Proteína C reactiva (muestra) + Anti – PCR ligado a partícula (anticuerpo)



(Complejo proteína C reactiva de la muestra – anticuerpo)

Muestra a utilizar

Se utilizará sangre recolectada en tubo rojo, posteriormente separar el suero mediante centrifugación a 2500 revoluciones por minuto durante 5 minutos, la muestra debe procesarse dentro de las primeras 2 horas después de haberse extraído. Si la muestra de suero no se alcanza a analizar en las primeras 8 horas almacenar de 2 a 8 °C, dentro de las 72 horas, en caso contrario congelar entre -15 y -20°C. Las muestras deben descongelarse solamente una vez.

El Kit de reactivo de este método cuenta con:

Cartucho que contiene el anticuerpo policlonal anti proteína C reactiva ligado a partículas, cabra. Para 300 pruebas Solución Buffer anti-evaporación y tarjeta de código de barras PCR

Preparación del reactivo.

1. Invertir suavemente el cartucho antes de quitar los tapones de rosca
2. Quitar los tapones de rosca de los cartuchos de reactivos. Revisar cada cartucho para verificar la presencia de burbujas, si contara con ellas eliminarlas.
3. Colocar buffer antievaporación en ambos receptáculos del cartucho de reactivo antes de cargar el cartucho en el instrumento.
4. Colocar el cartucho dentro del equipo.

Procedimiento de prueba.

1. Después de configurar, cargar los reactivos en el sistema según se indica en el Manual de operaciones IMAGE.
2. Seleccionar las químicas a calibrar de ser necesario. Cargue calibradores, controles y muestras en código de barras para análisis, según se indica en Manipuladores de operaciones IMAGE.
3. Siga los protocolos de operación del sistema según se indican en el Manual de operaciones.
4. Los resultados son calculados automáticamente por el sistema del equipo.

Las determinaciones son validadas al estar dentro de parámetros establecidos los controles de calidad normal y anormal.

Sensibilidad del método: $0.1 \text{ mg/dL} = 1 \text{ mg/L}$

ANEXOS.

HOJAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
 COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
 UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

“DR. ANTONIO FRAGA MOURET”
 CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
 DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD



“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”

FENOTIPIFICACION DE PACIENTES CONVALECIENTES POR COVID 19 Y CONCENTRACIONES DE PCR EN SUERO

FECHA DE TOMA DE MUESTRA Y PROCESO DE LA MUESTRA.

Paciente	Lecocitos totales (cel/μL)	Linfocitos totales (cel/μL)	Cooperadores CD3+/CD4+ (cel/μL)	Citotóxicos CD3+/CD8+ (cel/μL)	Linfocitos B CD19+ (cel/μL)	Celulas NK CD3-/CD16+56 (cel/μL)	Celulas NKT CD3+/CD16+56+ (cel/μL)	PCR (mg/L)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

“DR. ANTONIO FRAGA MOURET”
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD



“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B,NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”

FENOTIPIFICACION DE PACIENTES CON COVID-19 GRAVE-CRÍTICOS Y CONCENTRACIONES DE PCR

Paciente	Lecocitos totales (cel/ μ L)	Linfocitos totales (cel/ μ L)	Cooperadores CD3+/CD4+ (cel/ μ L)	Citotóxicos CD3+/CD8+ (cel/ μ L)	Linfocitos B CD19+ (cel/ μ L)	Celulas NK CD3-/CD16+56 (cel/ μ L)	Celulas NKT CD3+/CD16+56+ (cel/ μ L)	PCR (mg/L)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								

CARTA DE COSENTIMIENTO INFORMADO



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

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio:	“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B,NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”
Patrocinador externo (si aplica):	No Aplica.
Lugar y fecha:	Azcapotzalco, Ciudad de México. A _____
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	No está claro porque los niveles de células conocidas como linfocitos disminuyen en caso de COVID-19 grave, es importante conocer el comportamiento de las diferentes variedades de estas células durante y después de la infección y la correlación que existe entre marcadores inflamatorios (PCR). Actualmente no existe en el mercado una vacuna o antiviral específico contra SARS-CoV-2 por lo que la intervención temprana en la detección de casos graves pudiera disminuir la mortalidad. El objetivo de esta investigación es correlacionar la relación de las concentraciones Proteína C reactiva con las concentraciones de dichas células en pacientes graves y críticos por COVID-19 con relación a trabajadores IMSS convalécientes por dicha enfermedad en un centro de tercer nivel.
Procedimientos:	Se tomará una pequeña cantidad de su sangre y se depositará en un tubo con tapón color morado y otro con tapón rojo o amarillo.
Posibles riesgos y molestias:	Moretón en sitio de punción, hinchazón leve, dolor en la zona de Punción.
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Saber si usted ha retornado a sus niveles normales de las células inmunitarias. y que concentraciones de proteína C reactiva tiene.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	La información de sus resultados serán útiles para saber si sus glóbulos blancos están dentro de los niveles normales; conociendo los resultados de su

estudio se podría saber si usted ha recuperado sus niveles de defensas previas a sufrir COVID-19 ó que tan bajo de defensas está además si pudiera usted cursando con un estado de inflamación crónico.

Participación o retiro:

Usted es libre de retirarse del estudio en el momento que usted decida. La atención médica será la misma para usted y su familia.

Privacidad y confidencialidad:

Sus datos personales se guardarán en secreto; no serán dados a conocer su nombre, ni su número de seguridad social.

En caso de colección de material biológico (si aplica):

No autoriza que se tome la muestra.

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

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

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):

Beneficios al término del estudio:

Saber cómo están sus niveles de linfocitos con respecto a la inflamación de su cuerpo.

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

Investigador Responsable:

Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes. 57245900 Ext 23090

Colaboradores:

Dra Leandra Leonor Méndez González. 2221242660

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comité Local de Ética en Investigación de la UMAE Especialidades del Instituto Mexicano del Seguro Social. Seris y Zaachila sin número, colonia La Raza, Delegación Azcapotzalco Ciudad de México, CP 02990. Teléfono 01 55 5724 5900. Ext. 23015 Correo electrónico: comisión.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del convalciente ó Nombre y firma del paciente hospitalizado

Dra. Laura Montiel Cervantes.

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo

Nombre y firma del familiar responsable en caso que el paciente se encuentre intubado o aislado.

Nombre, dirección, relación, firma y teléfono

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: _____

AVISO DE PRIVACIDAD.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COORDINACIÓN DE UNIDADES MÉDICAS DE ALTA ESPECIALIDAD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

“DR. ANTONIO FRAGA MOURET”
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD



“CORRELACIÓN ENTRE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (T, B, NK Y NKT) CON RESPECTO A CONCENTRACIONES DE PROTEÍNA C REACTIVA EN PACIENTES GRAVES, CRÍTICOS Y CONVALECIENTES CON COVID-19”

AVISO DE PRIVACIDAD

De conformidad con lo establecido en la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, **Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes, Dra. María del Pilar Domínguez Cruz y Dra. Leandra Leonor Méndez González pertenecientes al IMSS** pone a su disposición el siguiente aviso de privacidad.

Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes, Dra. María del Pilar Domínguez Cruz y Dra. Leandra Leonor Méndez González pertenecientes al IMSS, es responsable del uso y protección de sus datos personales, en este sentido y atendiendo las obligaciones legales establecidas en la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, a través de este instrumento se informa a los titulares de los datos, la información que de ellos se recaba y los fines que se le darán a dicha información.

Además de lo anterior, informamos a usted que **Dra. Laura Arcelia Montiel Cervantes, Dra. María del Pilar Domínguez Cruz y Dra. Leandra Leonor Méndez González pertenecientes al IMSS**, tiene su domicilio ubicado en:

Azcapotzalco s/n, La Raza, Azcapotzalco, 02990 Ciudad de México, CDMX

Los datos personales que recabamos de usted serán utilizados para las siguientes finalidades, las cuales son necesarias para concretar nuestra relación con usted, así como para atender los servicios y/o pedidos que solicite:

Para fines de investigación en COVID-19

Para llevar a cabo las finalidades descritas en el presente aviso de privacidad, utilizaremos los siguientes datos personales:

Nombre, edad, sexo, peso, talla, teléfono enfermedades, crónicas degenerativas, síntomas sufridos por COVID-19, muestras sanguíneas obtenidas y datos de laboratorio.

Por otra parte, informamos a usted, que sus datos personales no serán compartidos con ninguna autoridad, empresa, organización o persona distintas a nosotros y serán utilizados exclusivamente para los fines señalados.

Usted tiene en todo momento el derecho a conocer qué datos personales tenemos de usted, para qué los utilizamos y las condiciones del uso que les damos (Acceso). Asimismo, es su derecho solicitar la corrección de su información personal en caso de que esté desactualizada, sea inexacta o incompleta (Rectificación); de igual manera, tiene derecho a que su información se elimine de nuestros registros o bases de datos cuando considere que la misma no está siendo utilizada adecuadamente (Cancelación); así como también a oponerse al uso de sus datos personales para fines específicos (Oposición). Estos derechos se conocen como derechos ARCO.

Para el ejercicio de cualquiera de los derechos ARCO, se deberá presentar la solicitud respectiva por escrito, mediante el envío de una carta o solicitud en formato libre a la siguiente dirección:

Azcapotzalco s/n, La Raza, Azcapotzalco, 02990 Ciudad de México, CDMX

Lo anterior también servirá para conocer el procedimiento y requisitos para el ejercicio de los derechos ARCO.

En todo caso la respuesta a la solicitud se dará en el siguiente plazo: 2 semanas.

Los datos de contacto de la persona o departamento de datos personales, que está a cargo de dar trámite a las solicitudes de derechos ARCO, son los siguientes:

a) Nombre del responsable: El estudio se realizará en Azcapotzalco s/n, La Raza, Azcapotzalco, 02990 Ciudad de México, CDMX instalaciones del Hospital de Especialidades "Dr. Antonio Fraga Mouret" del Centro Médico Nacional La Raza del CMN del IMSS

b) Domicilio:

Azcapotzalco s/n, La Raza, Azcapotzalco, 02990 Ciudad de México, CDMX

c) Teléfono: 800 623 2323

d) Correo electrónico: lauramontielcervantes@outlook.com

e) Otro medio de contacto: maria.cruzdo@imss.gob.mx

Cabe mencionar, que en cualquier momento usted puede revocar su consentimiento para el uso de sus datos personales. Del mismo modo, usted puede revocar el consentimiento que, en su caso, nos haya otorgado para el tratamiento de sus datos personales.

Asimismo, usted deberá considerar que para ciertos fines la revocación de su consentimiento implicará que no podamos seguir prestando el servicio que nos solicitó, o la conclusión de su relación con nosotros.

Para revocar el consentimiento que usted otorga en este acto o para limitar su divulgación, se deberá presentar la solicitud respectiva a través del siguiente correo electrónico:

lauramontielcervantes@outlook.com

Del mismo modo, podrá solicitar la información para conocer el procedimiento y requisitos para la revocación del consentimiento, así como limitar el uso y divulgación de su información personal.

En cualquier caso, la respuesta a las peticiones se dará a conocer en el siguiente plazo: 2 semanas.

de cambios en nuestro modelo de negocio, o por otras causas, por lo cual, nos comprometemos a mantenerlo informado sobre los cambios que pueda sufrir el presente aviso de privacidad, sin embargo, usted puede solicitar información sobre si el mismo ha sufrido algún cambio mediante el envío de una carta o solicitud en formato libre a la siguiente dirección:

Laboratorio de Hematología especial del Hospital de Especialidades. Calle Tlaxcaltecas 43, La Raza, Azcapotzalco, 02990 Ciudad de México, CDMX

Nombre y firma del titular de los datos personales

Última actualización: