



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**DETECCIÓN DE LINAJES DE SARS COV- 2 EN
PACIENTES VACUNADOS Y SU IMPACTO CON
LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD.**

TESIS

Qué para obtener el título de

BIÓLOGO

PRESENTA:

DAVID YAZZIEL GONZALEZ MUÑOZ

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. Juan Carlos Bravata Alcántara



Facultad de Estudios Superiores
IZTACALA

Los Reyes Iztacala, Tlanepantla, Estado de México, 2023.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

1. RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCIÓN.....	10
3. MARCO TEORICO	11
3.1 SARS-CoV-2	11
3.2 REPLICACIÓN DEL SARS-COV-2	12
3.3 PROTEINA SPIKE (S).....	14
3.4 DINÁMICA DE TRANSMISIÓN	16
3.5 EPIDEMIOLOGIA.....	17
3.6 MANIFESTACIONES CLINICAS DEL COVID-19	18
3.7 GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD DE LA COVID-19.....	20
3.7.1 COVID-19 Leve-Moderado	21
3.7.2 COVID-19 Grave	21
3.7.3 COVID-19 critico.....	22
3.8 Clasificación de las variantes del coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave 2 (SARS-CoV-2).....	22
3.8.1 Variante de bajo monitoreo (VBM).....	22
3.8.2 Variantes de Interés VOI	22
3.8.3 Variante de preocupación (VOC).....	23
3.9 FACTORES DE RIESGO	24
3.10 DIAGNÓSTICO	24
3.11 VACUNAS Y SU EFECTIVIDAD	25
3.11.1 Vacunas de ARN mensajero (ARNm).....	26
3.11.2 Vacunas de vectores virales.....	26
3.11.3 Vacunas inactivadas y de subunidades proteicas	27

3.12 ANTECEDENTES	27
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
5. JUSTIFICACIÓN.....	30
6. OBJETIVO GENERAL.....	30
6.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	30
7. MATERIAL Y MÉTODOS	31
7.1 Tipo de estudio.....	31
7.2 Población de estudio	31
7.3 Criterios de inclusión	31
7.4 Criterios de exclusión	31
7.5 Grupo problema	32
7.6 Recolección de muestras	32
7.7 Análisis Estadístico	32
7.8 Reactivos	32
7.9 Equipos	32
7.10 Protocolo de Extracción de ADN/ RNA	33
7.11 Detección mediante PCR en tiempo real SARS-CoV-2	33
8. RESULTADO Y DISCUSIÓN.....	37
9. CONCLUSIONES	60
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	61

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por permitirme acabar este trabajo, la carrera y conocer a personas que me ayudan acabar este ciclo.

A mis padres, por no exigirme absolutamente en ser alguien, sino darme la libertad en dejarme ser, por su enorme paciencia y amor incondicional, que primeramente Dios será recompensada, sin su ayuda no soy lo que soy, espero estén orgullosos.

A mis hermanos, por ayudarme espiritualmente, económicamente y a medidas de sus capacidades fueron fuerzas necesarias para seguir adelante.

A mi asesor principal Juan Carlos Bravata Alcántara por su paciencia en su enseñanza y agradezco cada corrección y tiempo dedicado, estoy muy agradecido. Así como a cada integrante del Laboratorio de Diagnóstico Molecular a la Mtra. Iliana por su enseñanzas y ayudas, a Ing. Eduardo por sus instrucciones fueron de gran ayuda y a la Dra. Sonia por su apoyo brindado.

A mi comité Asesor, por brindarme su tiempo para poder acabar este ciclo, estoy agradecido.

DEDICATORIA

“A todo movimiento de la voluntad es necesario que le preceda un conocimiento. Pero no a la inversa: no a todo conocimiento precede una noción voluntaria.”

Santo Tomas de Aquino.

INDICE DE GRÁFICOS

<i>Gráfico 1. Detección de SARS-CoV-2 con sospecha en pacientes del Hospital Juárez de México.</i>	37
<i>Gráfico 2. Detección de SARS-CoV-2 en pacientes del Hospital Juárez de México en función del sexo.</i>	39
<i>Gráfico 3. Detección de Variantes de SARS- CoV-2 en pacientes hospitalizados del Hospital Juárez de México.</i>	38
<i>Gráfico 4. Mortalidad en pacientes de variantes de SARS-CoV-2 en función del sexo.</i>	39
<i>Gráfico 5. Incidencia de Mortalidad de la variante detectada en pacientes en función del sexo.</i>	40
<i>Gráfico 6. Mortalidad en función al esquema de vacunación en pacientes fallecidos.</i>	41
<i>Gráfico 7. Mortalidad en función de presencia y/o ausencia de comorbilidades en pacientes fallecidos.</i>	42
<i>Gráfico 8. Incidencia de Mortalidad de Comorbilidades presentes en pacientes fallecidos.</i>	43
<i>Gráfico 9. Rango de Edades de pacientes con Detección de Variantes de SARS-Cov-2.</i>	44
<i>Gráfico 10. Esquema General de Vacunación de pacientes hospitalizados (n=110) por vacuna aplicada.</i>	46
<i>Gráfico 11. Porcentaje de pacientes hospitalizados clasificados por grupos de Gravedad de la enfermedad.</i>	48
<i>Gráfico 12. Incidencias de Gravedad de la Enfermedad en función de la detección de variantes de SARS-Cov-2.</i>	49
<i>Gráfico 13. Relación de número de casos en presencia y/o ausencia de comorbilidades por cada grupo de gravedad de la enfermedad.</i>	50
<i>Gráfico 14. Incidencia de los tipos de comorbilidades presentes en pacientes detectados con variantes de SARS-CoV-2.</i>	51
<i>Gráfico 15. Signos y síntomas más frecuentes con COVID-19 en pacientes detectados con Variantes de SARS-CoV-2.</i>	53
<i>Gráfico 16. Vacunas aplicadas en los tres grupos de gravedad de la enfermedad.</i>	54
<i>Gráfico 17. Vacunación de pacientes y su incidencia en los diferentes tipos de comorbilidad.</i>	55

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1 Interpretación de resultados de variantes de SARS-CoV-2 mediante Kit Genes2life.</i>	<i>36</i>
<i>Tabla 2. Características clínicas de la enfermedad de la COVID-19 de pacientes hospitalizados del hospital Juárez de México, en los tres grupos de gravedad de la enfermedad.</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 3. Tabla de Contingencia de GRUPO LEVE-MODERADO y pruebas χ^2 & Fisher. 56</i>	
<i>Tabla 4. Tabla de Contingencia de GRUPO GRAVE y pruebas χ^2 & Fisher</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 5. Tabla de Contingencia GRUPO CRITICO y pruebas χ^2 & Fisher</i>	<i>57</i>
<i>Tabla 6. Distribución de personas vacunadas y no vacunadas en los diferentes grupos de Gravedad de la enfermedad.....</i>	<i>59</i>

INDICE DE FIGURAS

<i>Fig. 1 Composición de ARN genómico de SARS-CoV-2. S: proteína de pico, E: proteína de envoltura, M: proteína de membrana y N: proteína de nucleocápside.....</i>	<i>12</i>
<i>Fig. 2 Replicación virus SARS-CoV-2.</i>	<i>13</i>
<i>Fig. 3 Organización del dominio de la proteína S del SARS-COV-2.....</i>	<i>15</i>
<i>Fig. 4 Rutas de transmisión propuestas del Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) del Síndrome Respiratorio Agudo Severo.</i>	<i>17</i>
<i>Fig. 5 Complicaciones multiorgánicas provocadas por la enfermedad de COVID-19.</i>	<i>19</i>

ABREVIATURAS

CoV: Coronavirus

SARS-CoV-2: El Coronavirus tipo 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo

ORF: Marco de lectura abierta

ssRNA: Ribonucleótido de doble cadena

NSP: proteínas no estructurales

TM: Dominio transmembrana

RdRp: polimerasa dependiente de ARN

RBD: dominio de unión al receptor

(DMV en vesículas perinucleares de doble membrana

CM: membranas enrevesadas (CM

DMS: esférulas abiertas de doble membrana (DMS)

ER: retículo endoplásmico (ER

ERGIC: compartimento intermedio de ER a Golgi

ARN: Ribonucleótido

ARNm: Ribonucleótido mensajero

dsRNA: Ribonucleótido de cadena Sencilla

S1 Y S2: sitios de escisión poli básica

TMPRSS2: serina 2 de la proteasa transmembrana

proteína S: Proteína Espiga

RT- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

CT: cycle threshold

OMS: Organización Mundial de la Salud

ERC: Enfermedad renal crónica

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

1. RESUMEN

El Coronavirus tipo 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2), ha generado impacto a nivel global sin precedentes, las variantes emergentes de SARS-CoV-2 agravaron el estado de gravedad de la enfermedad de la COVID-19. Estas mismas, variantes de Preocupación (VOC), poseen características tales como alta transmisibilidad, gravedad de la enfermedad clínica y evasión de la inmunidad tanto natural e inducida por las vacunas, las cuales generan preocupación a la salud pública. Por lo que la vacunación, es de suma importancia para hacer frente ante las variantes contra la severidad de la enfermedad. En este estudio se plantea como objetivo conocer la asociación del estado vacunación contra las variantes SARS-CoV-2 frente al desarrollo de los diferentes tipos de gravedad de la enfermedad por COVID-19 en pacientes hospitalizados en el Hospital Juárez de México. Se realizó la detección por SARS-CoV-2 de 110 pacientes escogidos aleatoriamente, para posteriormente verificar la variante de SARS-CoV-2 detectada. Se dividió a los pacientes en tres grupos: Leve- Moderado, Grave y Crítico, para observar comportamiento del estado de Mortalidad, Comorbilidades, edad, sexo y asociación del estado de vacunación. No se obtuvieron diferencias significativas para los grupos de Grave $p < 0.05$, χ^2 (0.196) y Fisher (0.297) y grupo Crítico $p < 0.05$, χ^2 (0.185) y Fisher (0.236), en comparación con el Grupo Leve- Moderado donde si se obtuvo diferencias significativas $p > 0.05$ con 0.028 en χ^2 y Fisher $p > 0.05$ con 0.035. No se obtuvo asociaciones significativas en los grupos de interés grave y Crítico, pero se sabe ampliamente que la vacunación suelen ser herramientas seguras y efectivas para prevenir la COVID-19 grave, la hospitalización y/o la muerte. Es necesario continuar con las investigaciones sobre la enfermedad de gravedad de COVID-19 para entender mejor la patogenia y la evolución de las variantes o linajes del SARS-CoV-2, que puedan emerger.

2. INTRODUCCIÓN

A inicios de diciembre del año 2019, fueron reportados casos de neumonía atípica en la provincia de Wuhan China, pero es hasta el 11 de marzo del año 2020 cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS), declara el estado de pandemia, ante la infección por un nuevo virus, el cual se distribuyó rápidamente por el resto del planeta convirtiéndose en una amenaza a la salud a nivel mundial debido a que se transmite fácilmente directa o indirectamente de una persona a otra. La hasta entonces nueva infección, El Coronavirus tipo 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2) presentaba principalmente síntomas de carácter respiratorio, el origen de esta enfermedad, un virus de ARN, causando la enfermedad denominada COVID-19. Dos años después, han emergido, de acuerdo con la OMS, variantes de interés (VIC siglas en ingles) y variantes de preocupación (VOC siglas en ingles), estas últimas, muestran una situación desafiante y amenazante en todo el mundo, el cual desencadenan diversas tendencias epidemiológicas, junto con características patógenas emergentes y reemergentes, que han planteado grandes preocupaciones de salud pública (bedoya *et al*, 2021). Se sabe que cada variante emergente posee nuevas mutaciones diferentes que la caracterizan a cada una de las mismas, dadas las numerosas mutaciones en particular, en la proteína espiga (S) pueden verse afectados y/o potenciados factores tales como: transmisibilidad, afinidad de unión al receptor (ACE 2), así como el escape de las respuestas inmunes inducidas por vacunas y reducción de la eficacia de la vacuna. (Boehm E. *et al*, 2021). Estos VOC/I están aumentando en frecuencia a nivel mundial y plantean desafíos para cualquier enfoque de inmunidad colectiva para manejar la pandemia. Mientras la vacunación está en curso, las actualizaciones de vacunas pueden ser prudentes. El virus continúa adaptándose a la transmisión en humanos y se espera una mayor divergencia de las secuencias iniciales de Wuhan (Boehm E. *et al*, 2021).

3. MARCO TEORICO

3.1 SARS-CoV-2

Los Coronavirus (CoV) Coronavirus pertenece a la subfamilia Coronavirinae en la familia de Coronaviridae y la subfamilia contiene cuatro géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* y *Deltacoronavirus*. El genoma de los CoV (27-32 kb) es un ARN de sentido positivo de cadena simple (+ ssRNA) que es más grande que cualquier otro virus de ARN. La proteína nucleocápside (N) conforma la cápside fuera del genoma y el genoma está empaquetado por una envoltura que se asocia con tres proteínas estructurales: proteína de membrana (M), proteína espiga (S) y proteína de envoltura (E). (Brian y Baric, 2005) Todos los CoV altamente patógenos, incluido el SARS-CoV-2, pertenecen al género Betacoronavirus, grupo 2 (Gorbalenya, A.E. *et al*, 2020).

Su genoma comprende 14 marcos de lectura abiertos (ORF), dos tercios de los cuales codifican 16 proteínas no estructurales (nsp1-16). Nsp1 media el procesamiento y replicación del ARN. Nsp2 modula la vía de señalización de supervivencia de la célula hospedera. Se cree que Nsp3 separa la proteína traducida. Nsp4 contiene el dominio transmembrana 2 (TM2) y modifica las membranas ER. Nsp5 participa en el proceso de poliproteína durante la replicación. Nsp6 es un dominio transmembrana presuntivo. La presencia de nsp7 y nsp8 aumentó significativamente la combinación de nsp12 y ARN de plantilla-imprimación. Nsp9 funciona como una proteína de unión a ssRNA. Nsp10 es crítico para la metilación de la tapa de los ARNm virales. Nsp12 contiene la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), que es una composición crítica de la replicación/transcripción del coronavirus. Nsp13 se une con ATP y el dominio de unión al zinc en nsp13 participa en el proceso de replicación y transcripción. Nsp14 es un dominio de corrección exoribonucleasa. Nsp15 tiene actividad endoribonucleasa dependiente de Mn(2+). Nsp16 es una 2'-O-ribosa metiltransferasa (Naqvi *et al.*, 2020).

El tercio restante codifica nueve proteínas accesorias (ORF) y cuatro proteínas estructurales: la proteína envoltura (E); permite el ensamblaje y la liberación extracelular del virus. La proteína membrana (M); se conforma de tres dominios transmembrana que le dan la forma circular a la partícula viral y se une hacia el interior a la nucleocápside. Y la proteína nucleocápside (N); está conformada por dos dominios que se une al ARN, se une a la proteína nsp3, para empaquetar el genoma del virus la proteína S, la cual es crucial para mediar la entrada de SARS-CoV-2 en la células hospedera. (S. Perlman, J. Netland, 2020).

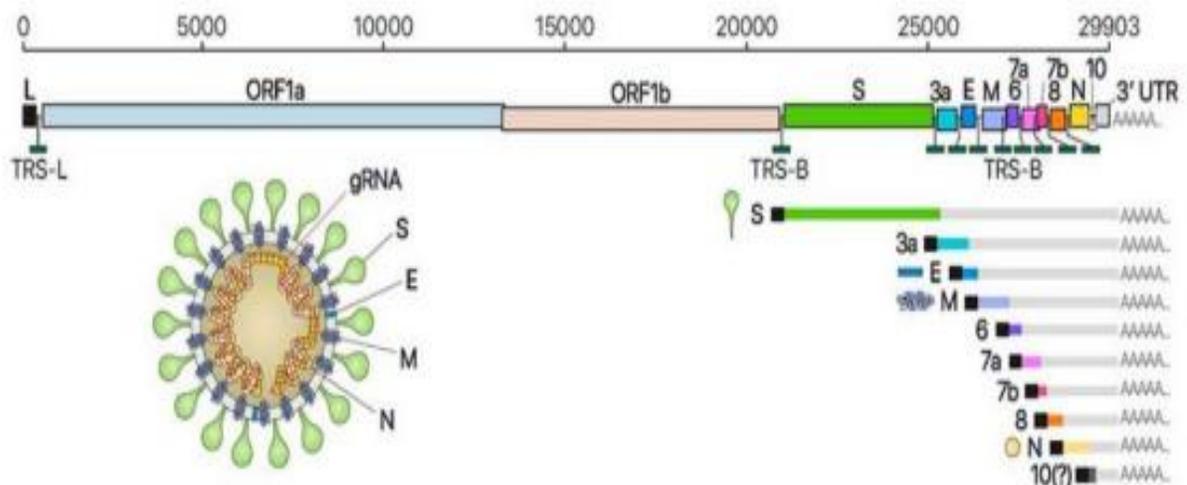


Fig. 1 Composición de ARN genómico de SARS-CoV-2. S: proteína de pico, E: proteína de envoltura, M: proteína de membrana y N: proteína de nucleocápside. (Fernández-Rúa, J. M.,2020)

3.2 REPLICACIÓN DEL SARS-COV-2

La entrada de coronavirus en las células hospedera está mediada por glicoproteína espiga (proteína S). La proteína estructural S del coronavirus son glicoproteínas de fusión homotriméricas de clase I que se dividen en dos partes funcionalmente distintas (S1 y S2). El S1 expuesto a la superficie contiene el dominio de unión al receptor (RBD) que involucra específicamente el receptor de la célula hospedera,

determinando así el tropismo y la patogenicidad de la célula del virus. El dominio transmembrana S2 contiene regiones de péptidos de fusión, que median la fusión entre las membranas de los virus y las células hospederas. El sitio de escisión en el borde entre las subunidades S1 y S2 se denomina sitio de escisión de la proteasa S1/S2. Para todos los coronavirus, las proteasas del hospedero escinden la glicoproteína espiga en el sitio de escisión S2' para activar las proteínas, lo cual es fundamental para fusionar las membranas de los virus y las células hospederas a través de cambios conformacionales irreversibles. (Walls *et al.*, 2020; Wrapp *et al.*, 2020).

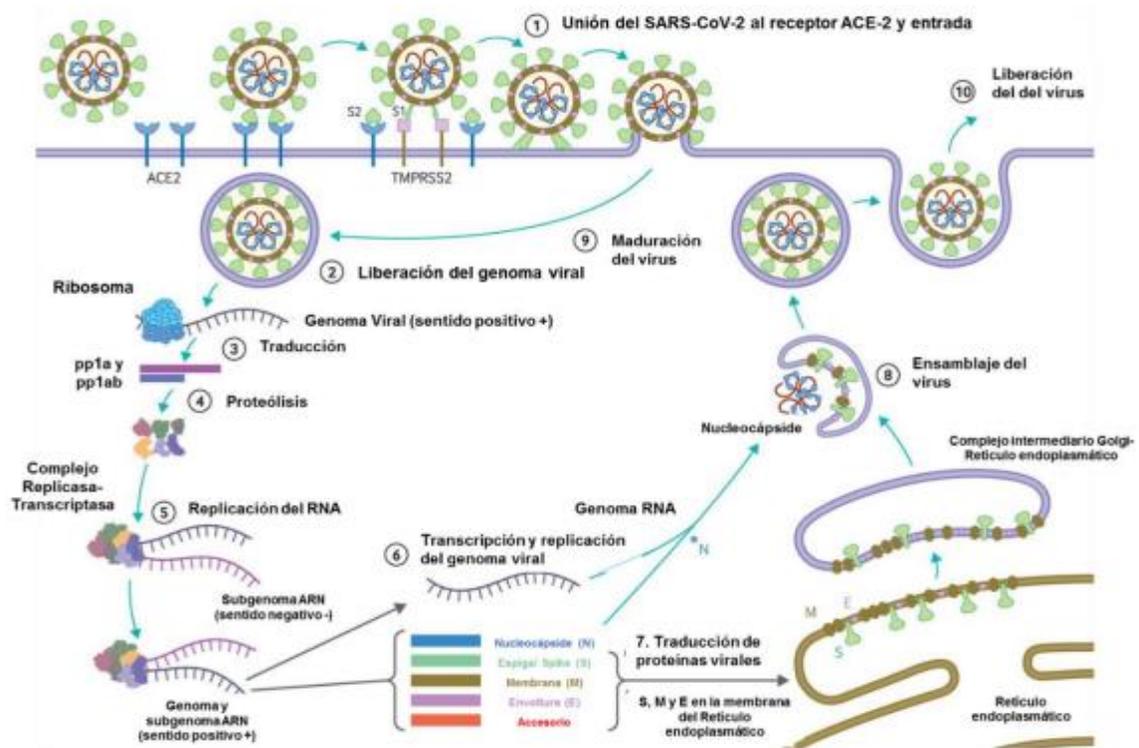


Fig. 2 Replicación virus SARS-CoV-2. Cevik, *et al.*, 2020. Modificado febrero, 2021.

Después de la entrada, la liberación y el desrecubrimiento del ARN genómico entrante lo someten a la traducción inmediata de dos grandes marcos de lectura abiertos, ORF1a y ORF1b. Las poliproteínas resultantes pp1a y pp1ab se procesan co-traduccional y post-traduccionalmente en las proteínas no estructurales individuales (nsps) que forman el complejo de replicación y transcripción viral. De

acuerdo con la expresión de nsps, la biogénesis de orgánulos de replicación viral que consiste en vesículas perinucleares de doble membrana (DMV) características, membranas enrevesadas (CM) y pequeñas esférulas abiertas de doble membrana (DMS) crean un microambiente protector para la replicación del ARN genómico viral y la transcripción de ARNm subgenómicos (ARNm sg) que comprenden el conjunto anidado característico de ARNm del coronavirus. Las proteínas estructurales traducidas se translocan en membranas de retículo endoplásmico (ER) y transitan a través del compartimento intermedio de ER a Golgi (ERGIC), donde la interacción con el ARN genómico N-encapsulado y recién producido da como resultado la brotación en la luz de los compartimentos vesiculares secretores. Finalmente, los viriones son secretados por la célula infectada por exocitosis. Los pasos clave inhibidos por compuestos que actualmente se están validando y que representan objetivos antivirales atractivos se resaltan en rojo. An, secuencia poliA de 3'; tapa, estructura de tapa de 5'; dsRNA: ARN de doble cadena; L, secuencia líder; RdRP, ARN polimerasa dependiente de ARN. (V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V, 2021).

3.3 PROTEINA SPIKE (S)

La glicoproteína Espiga (S) tiene un dominio de unión al receptor (RBD) en la subunidad 1, que media el contacto directo con un receptor celular, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) y un sitio de escisión polibásica S1/S2 que es escindido proteolíticamente por la cathepsina celular L y la serina 2 de la proteasa transmembrana (TMPRSS2), un paso fundamental para mediar en el proceso de fusión. (Almehdi, A.M., *et al* 2021) y facilitan la activación viral y representan la patogenicidad del SARS-CoV-2. (Mollica V, Rizzo A, Massari F., 2020).

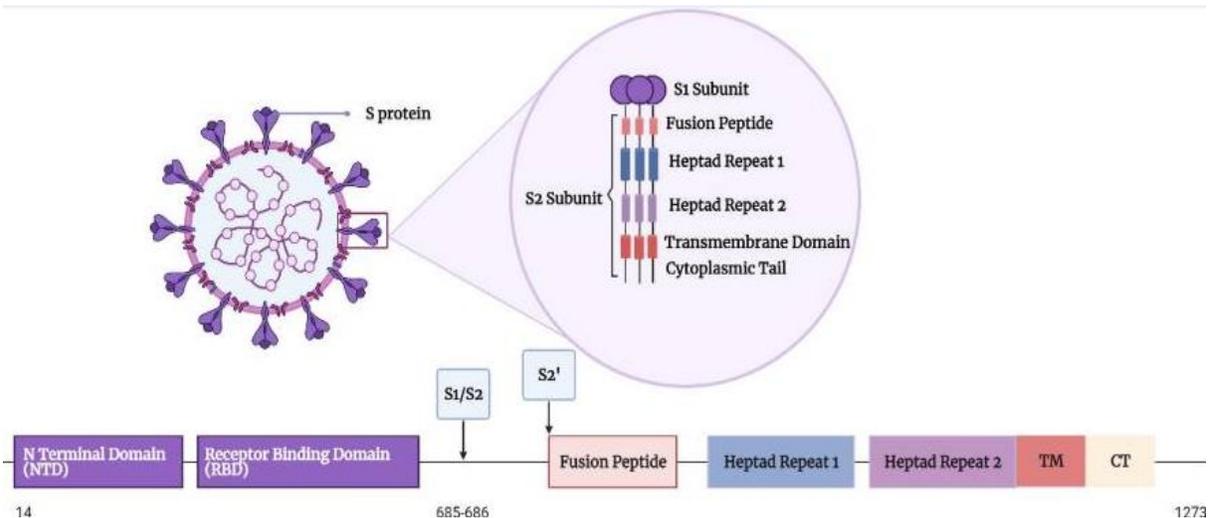


Fig. 3 Organización del dominio de la proteína S del SARS-COV-2. NTD Dominio N-terminal, dominio de unión al receptor RBD, péptido de fusión FP, repetición heptada HR1 1, repetición heptada HR2 2, dominio transmembrana TM, cola citoplasmática CT. S1/S2 y S2'. (Almehdi, A.M. et al, 2021).

Por tanto, la subunidad S1 de un coronavirus se divide en dos dominios funcionales, un dominio N-terminal y un dominio C-terminal. Que tiene un papel clave en la entrada del virus y es el objetivo de los anticuerpos neutralizantes.

La proteína S muestra una alta proporción de alteraciones genéticas con una tasa de mutación de ~ 1.. (Durmaz B, Abdulmajed O, Durmaz R, 2020). Estas mutaciones como los son; deleciones, inserciones o sustituciones de nucleótidos pueden ser sinónimas, con escasa o nula repercusión para el virus, o no sinónimas, provocan un cambio en la secuencia de aminoácidos. (Boehm E, et al, 2021). Por tanto, la gran cantidad de individuos infectados y la alta carga viral producida durante cada infección ofrecen muchas oportunidades para que surjan mutaciones del SARS-CoV-2 lo que dificulta la comprensión completa deseada de su impacto en la transmisión viral, la virulencia y la gravedad de la enfermedad. (Durmaz B, Abdulmajed O, Durmaz R, 2020).

Por otro lado, dichas mutaciones, especialmente cuando surgen en el gen S que codifica la proteína espiga (S), pueden afectar tanto la entrada viral en las células objetivo, mediada por la unión de S a su receptor ACEII, como la eficacia de los

anticuerpos. Debido a que el dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína (S) es el objetivo principal de los anticuerpos neutralizantes. y todas las vacunas aprobadas expresan una forma de proteína (S), así como las mutaciones, su RBD en particular plantean una preocupación por la eficacia de la vacuna y la transmisibilidad del SARS-CoV-2. Las mutaciones en el extremo N también son potencialmente problemáticas, ya que varios anticuerpos neutralizantes muy potentes se dirigen a este dominio. (Boehm E, Kronig I, Neher RA, Eckerle I, Vetter P, Kaiser L, 2021)

3.4 DINÁMICA DE TRANSMISIÓN

Los CoV humanos se transmiten principalmente a través de gotitas respiratorias, pero el aerosol, el contacto directo con superficies contaminadas y la transmisión fecal-oral también se informaron durante la epidemia de SARS-CoV-2

La transmisión directa por gotitas respiratorias se ve reforzada por la replicación productiva del SARS-CoV-2 en el tracto respiratorio; es el modo de transmisión más pronunciado y fuertemente implicado reportado durante la pandemia. La propagación del contacto directo de un individuo infectado a una segunda persona ingenua también se ha considerado un impulsor de la transmisión de persona a persona, especialmente en hogares con interacciones cercanas entre los miembros de la familia. La contagiosidad del SARS-CoV-2 después de la eliminación de fómites (por ejemplo, manijas de puertas) está bajo investigación, pero es probable que sea un factor compuesto para los eventos de transmisión, aunque con menos frecuencia que la transmisión por gotitas o por contacto. Tanto los eventos de transmisión fecal-oral de persona a persona se informaron en la epidemia precursora de SARS-CoV, pero aún no se han observado en las crisis actuales. (Andrew G. Harrison, Tao Lin, Penghua Wang, 2020)

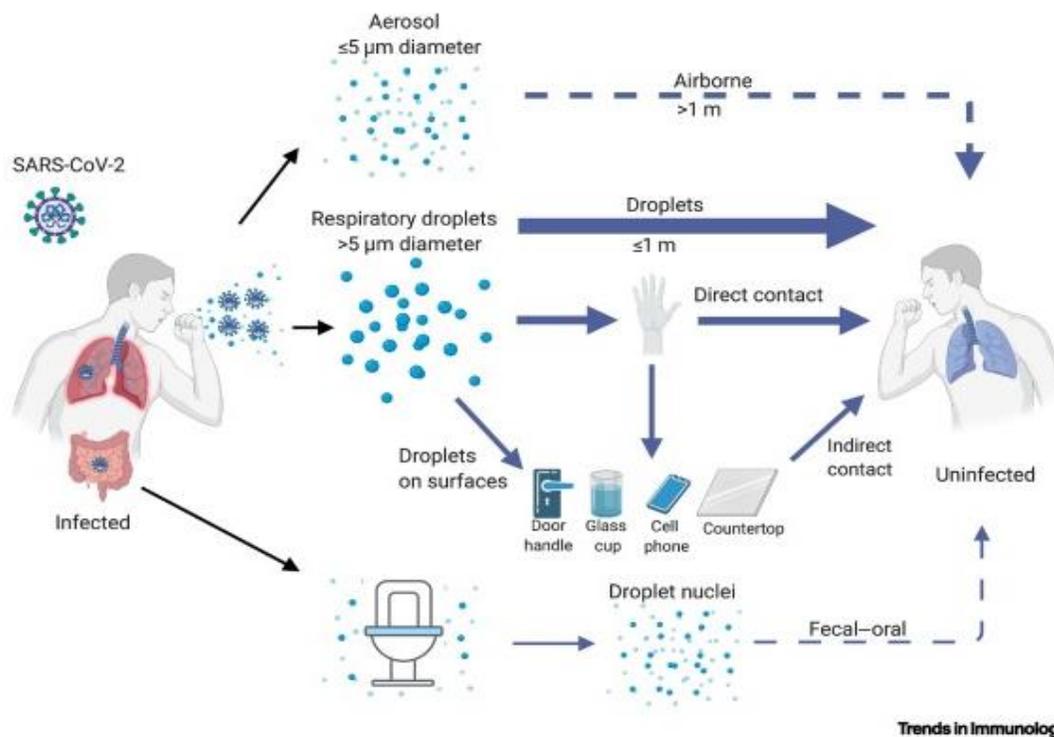


Fig. 4 Rutas de transmisión propuestas del Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) del Síndrome Respiratorio Agudo Severo.

3.5 EPIDEMIOLOGÍA

A nivel mundial, en los últimos meses del 2022, se han notificado por la OMS 519.105.112 casos confirmados de COVID-19, incluidas 6.607,545 muertes. A su vez se han administrado alrededor de 11.660.363.722 dosis de vacunas.

A mitad del mes de noviembre, a más de dos años de iniciada la epidemia, en México a partir de que se declaró el 28 de febrero del 2020 la llegada del SARS-CoV-2, se ha informado a la OMS, 634,163,652 casos confirmados de COVID-19, asimismo se ha reportado 330, 440 con muertes y un total de 201.861.103 dosis de vacunas se han administrado. (secretaría de Salud, 2022)

3.6 MANIFESTACIONES CLINICAS DEL COVID-19

Los síntomas típicos de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) son fiebre, tos seca y fatiga. Muchas infecciones, en particular en niños y adultos jóvenes, son asintomáticas, mientras que las personas mayores y / o las personas con comorbilidades tienen un mayor riesgo de enfermedad grave, insuficiencia respiratoria y muerte. El período de incubación del SARS-CoV-2 es de 2 y hasta 11 días, de acuerdo con los reportes de diferentes países se recomienda considerar un período de incubación hasta de 15.5 días; la aparición de síntomas, en promedio, es después de 5 días, y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud hasta de 14 días después.

La enfermedad provocada por el SARS-CoV-2 puede clasificarse como leve-moderada, grave y crítico, por lo tanto, las manifestaciones clínicas varían desde formas asintomáticas hasta manifestaciones multiorgánicas y sistémicas con insuficiencia respiratoria que requiere apoyo en una unidad de cuidados intensivos (UCI). Aproximadamente la mitad (49.0%) de los pacientes que mueren presentan comorbilidades preexistentes como enfermedades cardiovasculares, hipertensión, diabetes, enfermedades respiratorias crónicas y enfermedades oncológicas.

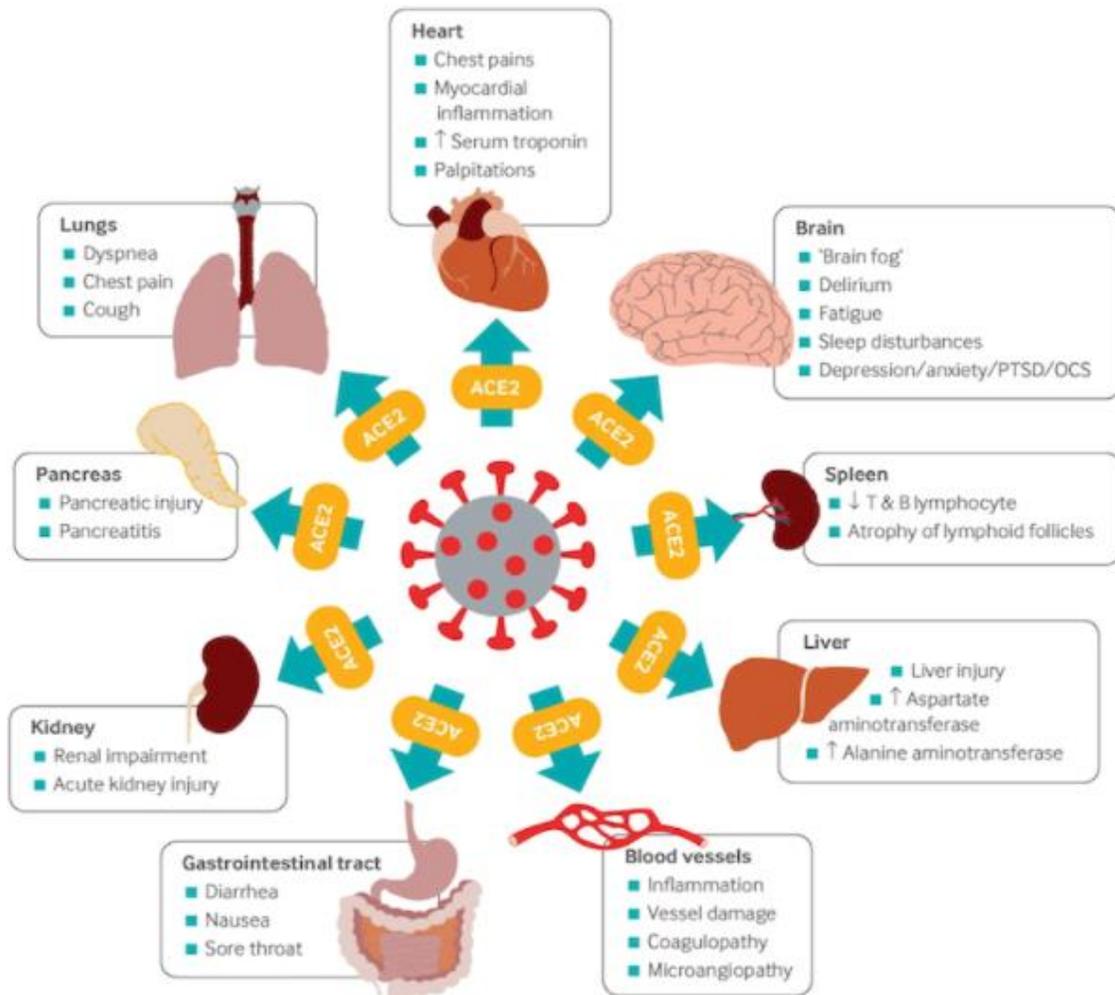


Fig. 5 Complicaciones multiorgánicas provocadas por la enfermedad de COVID-19. Crook H et al, 2021

Con respecto a la gravedad de la enfermedad, un parámetro que sirve de referencia es la cuantificación relativa en RT-PCR que es valor de CT (número de ciclos necesarios para que cada curva alcance un umbral en la señal de fluorescencia); Se sabe que el valor de Ct puede indicar el nivel relativo de ARN viral en una muestra (cuanto más bajos sean los valores del Ct reflejarían niveles virales más altos) (Fundación iO, 2020), por lo que, mientras más bajo era el Ct se podía inferir que la carga viral era alta, Se observó que casos con la variante delta también tuvieron cargas virales significativamente más altas [es decir, menor valor de umbral cíclico de PCR (Ct)]. (Choi JY, Smith DM. 2021).

En sintonía con esto, la gravedad de la enfermedad está estrechamente relacionada con la vacunación del individuo. Sheikh A. y Taylor B. en 2021 mostraron que la vacunación de dos dosis de BNT162b2 y ChAdOx1 nCoV-19, fueron efectivas para reducir el riesgo y hospitalización grave por COVID-19 en personas con la variante delta, pero estos efectos sobre la infección parecieron disminuir en comparación con aquellos con la variante alfa. Y la inmunidad celular inducida por las vacunas de refuerzo, muestran una protección robusta contra la enfermedad grave altamente contra el linaje de Ómicron de SARS-CoV-2. (Liu, J, *et al*, 2022).

Los COV también pueden afectar la eficacia de las vacunas de vectores de ARNm y adenovirus, aunque las vacunas contra la COVID-19 actualmente autorizadas siguen siendo eficaces para prevenir infecciones y enfermedades graves.

3.7 GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD DE LA COVID-19

Después de un período de incubación medio de unos 5 días, una infección típica en COVID-19 comienza con tos seca y fiebre de bajo grado (38.1-39°C). De acuerdo a la OMS (2021) la mayoría de los pacientes presentan fiebre (83%-99%), tos (59%-82%), astenia (44%-70%), anorexia (40%-84%), disnea (31%-40%) y mialgias (11%-35%). También se han descrito otros síntomas inespecíficos, como faringodinia, congestión nasal, cefaleas, diarrea, náuseas y vómitos. Asimismo, se han descrito anosmia (pérdida del olfato) y ageusia (pérdida del gusto) antes del inicio de los síntomas respiratorios. En la mayoría de los pacientes, la COVID-19 sigue siendo leve o moderada y los síntomas se resuelven en el plazo de una semana, por lo que los pacientes suelen recuperarse en casa. Alrededor del 10% de los pacientes permanecen sintomáticos hasta la segunda semana. Cuanto más tiempo persistan los síntomas, mayor será el riesgo de desarrollar una COVID-19 más grave, que requerirá hospitalización, cuidados intensivos y ventilación invasiva. El resultado de COVID-19 es a menudo impredecible, especialmente en pacientes mayores con comorbilidades. (Hoffmann & Kamps, 2021).

3.7.1 COVID-19 Leve-Moderado

Los casos leves son aquellos pacientes con sospecha o caso confirmado por COVID19, constituyen 40% de los casos, es decir, los pacientes que tienen muy pocos síntomas o son asintomáticos y cumplen con la definición de caso por COVID-19. Estos pacientes no tienen evidencia de neumonía ni de hipoxemia (OMS, 2021), dicho parámetro es lo que hace la diferencia con los casos moderados y pueden no tener ningún síntoma o solamente tener anosmia y disgeusia o algún síntoma general que puede ser controlable con analgésicos o antipiréticos (Sosa, 2020). Los casos moderados también afectan a 40% de los casos, esto quiere decir que 80% de los casos con COVID-19 son de leves a moderados y se pueden atender desde el domicilio o en lugares apropiados para que lleven a cabo la convalecencia. Existe presencia de neumonía, y por lo tanto signos clínicos de neumonía como fiebre,

3.7.2 COVID-19 Grave

Los casos graves constituyen 15% del total de los casos y se asocian con la presencia de una neumonía grave, es decir, los signos clínicos de neumonía fiebre, tos, disnea y taquipnea, pero en este caso el paciente presenta desaturación con hipoxemia menor de 90% al aire ambiente, así como insuficiencia respiratoria con hasta más de 30 respiraciones por minuto. Esto es lo que diferencia un caso grave con neumonía de un caso moderado, y se puede atender en diferentes instancias dependiendo de la situación clínica de cada paciente (Sosa, 2020).

3.7.3 COVID-19 crítico

El 5% de los casos con COVID-19 son pacientes críticos, es decir, son aquellos pacientes que evolucionan dentro de la primera semana de la afectación y cursan con neumonía o síntomas respiratorios que pueden ser nuevos o que se van deteriorando progresivamente (Sosa, 2020). Estos pacientes tienen alto riesgo de complicación como falla respiratoria aguda y síndrome de insuficiencia respiratoria aguda y en caso de que lleguen a presentar alguna coinfección, pueden cursar con sepsis grave, choque séptico y también pueden iniciar con enfermedad tromboembólica venosa, falla multiorgánica por la presencia de lesión renal aguda y falla cardíaca (Sosa, 2020).

3.8 CLASIFICACIÓN DE LAS VARIANTES DEL CORONAVIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO AGUDO GRAVE 2 (SARS-COV-2)

En el 2020, la OMS ha clasificado las diferentes variantes del SARS-CoV-2 según el grado de la importancia:

3.8.1 Variante de bajo monitoreo (VBM)

Las variantes que se encuentran catalogadas como VBM son aquellas que, gracias a los datos recolectados, se ha determinado que existe un impacto claro o potencial en unidades médicas, en el momento en que las cepas fueron aisladas por primera vez, se detectaron casos de enfermedad severas o a una mayor transmisión.

3.8.2 Variantes de Interés VOI

Variante con numerosos marcadores genéticos específicos los cuales han sido asociados a cambios en la unión al receptor, presentan una menor neutralización por los anticuerpos generados ya sea por la vacuna o los que se han generado por

una infección anterior. Estas variantes pueden presentar una menor eficacia de los tratamientos, el diagnóstico temprano, o el aumento inespecífico sobre la transmisibilidad o gravedad de la enfermedad. Generalmente las variables de interés representan que el país en donde sea descubierta debe tomar medidas de salud públicas para prevenir una tasa alta de contagios.

Características que se le atribuyen a una variante de interés:

- i. Evidencia de que la nueva variante sea la causa de un incremento en la presentación y distribución de casos o de clústeres de brotes específicos.
- ii. Marcadores genéticos específicos que se podría afectarla transmisibilidad, el diagnóstico, los tratamientos o el inmunoescape.

3.8.3 Variante de preocupación (VOC)

En esta denominación se encasillan todas las variantes que tengan evidencia de una mayor transmisibilidad, provocando casos más severos de enfermedad (por ejemplo, mayor Cantidad de hospitalizaciones, requerimiento de ventilación mecánica invasiva (VMI) o muertes), también presentan reducción significativa en la neutralización por los anticuerpos generados durante la vacuna o por una infección previa, menor efectividad de los tratamientos, o fallas de detección de diagnóstico.

Características de una variante de preocupación:

- Casos más graves de enfermedad clínica y aumento de las hospitalizaciones
- Las pruebas diagnósticas podrían no detectar estas variantes.
- Evidencia sobre una reducción significativa en la efectividad de las vacunas (presentando gran cantidad de casos de infección en vacunados, o baja inmunidad inducida por las vacunas contra enfermedades graves.

3.9 FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo conocidos de deterioro rápido, enfermedad grave o aumento de la mortalidad son la edad avanzada (> 60 años) y las enfermedades no transmisibles preexistentes como la diabetes, la hipertensión, las cardiopatías, las neumopatías crónicas, las enfermedades cerebrovasculares, la demencia, los trastornos psiquiátricos, las nefropatías crónicas, la inmunodepresión, la obesidad o el cáncer (OMS, 2021). Los pacientes con uno o más de estos factores de riesgo deben ser objeto de un estrecho seguimiento, de preferencia en un establecimiento sanitario, con el fin de detectar el deterioro de su estado.

3.10 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico temprano de pacientes que cuentan con la enfermedad de COVID-19 son esenciales para bloquear la propagación acelerada de la pandemia. Los ensayos de diagnóstico de COVID-19 para su aplicación clínica, incluidas las pruebas moleculares, los métodos inmunológicos y las imágenes de tomografía computarizada, son los ensayos más utilizados o recurridos para un diagnóstico de COVID-19. (Xianyong Wu, Qiming Chen, Junhai Li, Zhanmin Liu, 2022). Actualmente, la prueba cuantitativa de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, por sus siglas en inglés), es la prueba considerada como el estándar de oro para la detección de infección por SARS-CoV-2, muchos kits comerciales de detección de ácidos nucleicos virales van dirigidos a los genes ORF1b, N, E o S (Bordi L *et al*, 2020); su sensibilidad es limitada, de accesibilidad variable y difiere entre cada país, hospital y laboratorio comercial. Las principales limitaciones descritas recaen en la variabilidad del hisopado, medios de transporte y disponibilidad del ensayo. Aunque el SARS-CoV-2 se ha detectado a partir de una variedad de fuentes respiratorias, incluidos hisopos de garganta, saliva orofaríngea posterior, hisopos nasofaríngeos, esputo y líquido bronquial, la carga viral es mayor en muestras del tracto respiratorio inferior. (Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL, 2021).

Las pruebas serológicas (detección de anticuerpos séricos específicos del SARS-CoV-2), que pertenece a los métodos inmunológicos, también se utilizan en el diagnóstico de COVID-19. Los resultados positivos de las pruebas serológicas indican la presencia de anticuerpos específicos para el SARS-CoV-2 como resultado de estar infectado con el virus. Los ensayos de detección de antígenos virales también son métodos inmunológicos importantes utilizados principalmente para la detección rápida de virus. Sin embargo, sólo unos pocos de estos ensayos habían sido reportados. La tomografía computarizada sigue siendo una importante herramienta de diagnóstico auxiliar para los pacientes con COVID-19, especialmente para los pacientes sintomáticos en etapa temprana, cuya carga viral es baja y diferente para ser identificada por prueba molecular. (Xianyong Wu, Qiming Chen, Junhai Li, Zhanmin Liu, 2022).

3.11 VACUNAS Y SU EFECTIVIDAD

La implementación de vacunas contra el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo, es un activo importante para frenar la pandemia de la enfermedad por COVID-19. Se han desarrollado más de 100 vacunas y se han evaluado 26 vacunas en ensayos clínicos de fase III, según la Organización Mundial de la Salud (OMS,2021)

La mayoría de las vacunas COVID-19 utilizan la proteína S como objetivo principal, con el objetivo de bloquear los sitios de unión viral al receptor ACE-2 en las células hospederas y prevenir la infección. (Chen *et al*, 2021). Desde que se desarrolló la primera generación de vacunas basadas en el SARS-CoV-2 original sin mutaciones de aminoácidos de la proteína S, los profesionales médicos ahora enfrentan el desafío de determinar si la eficacia de estas vacunas contra las nuevas variantes se conserva o se deteriora. (Chen R. E. *et al.*, 2021; Dearlove *et al.*, 2020)

La efectividad se refiere al grado en que una vacuna previene la infección sintomática o asintomática en circunstancias controladas, como los ensayos

clínicos. De acuerdo con Fiolet T. *et al*, 2021 el criterio de valoración principal, en los ensayos clínicos, fue la prevención de la COVID-19 sintomática, mientras que en los estudios observacionales las variables fueron diversas e incluyeron la infección asintomática por SARS-CoV-2, la COVID-19, la hospitalización o la mortalidad.

3.11.1 Vacunas de ARN mensajero (ARNm)

Los fármacos basados en ARNm son nuevos, pero no desconocidos. En 1990, la inyección directa de ARNm en células musculares de ratón demostró la viabilidad de las vacunas de ARNm (Wolff,1990). Las vacunas BNT162b2 (PFIZER-BIONTECH) y mRNA-1273 (MODERNA) contra el SARS-CoV-2 fueron las primeras vacunas autorizadas basadas en ARNm. Contienen el ARNm del antígeno de interés que entra en las células y se traduce en la proteína espiga para inducir una respuesta inmune. (Fiolet T. *et al*, 2021). Las vacunas BNT162b2 y mRNA-1273 tuvieron una eficacia de >90% a los 5-6 meses de seguimiento después de la segunda dosis.

3.11.2 Vacunas de vectores virales

Los vectores virales son sistemas de administración que contienen ácido nucleico que codifica un antígeno. (Fiolet T. *et al*, 2021). Vacunas como Sputnik V (GAMALEYA) y AZD1222 (OXFORD-AZTRAZENECA) entran en este grupo de vacunas, Por ejemplo, el mecanismo de acción de la vacuna AZD1222 es añadir el gen de la proteína de espiga del coronavirus a otro virus llamado adenovirus. Estos mismos, son virus comunes que suelen causar resfriados o síntomas similares a los de la gripe. Después de inyectar la vacuna en el brazo de una persona, los adenovirus chocan con las células y se enganchan a las proteínas de su superficie. La célula envuelve el virus en una burbuja y lo atrae hacia su interior. Una vez

dentro, el adenovirus escapa de la burbuja y viaja hasta el núcleo, la cámara donde se almacena el ADN de la célula. El adenovirus introduce su ADN en el núcleo. El adenovirus está diseñado para que no pueda hacer copias de sí mismo, pero el gen de la proteína de espiga del coronavirus puede ser leído por la célula para así empezar la traducción de la proteína S y empezar el proceso inmunidad del individuo. (Corum y Zimmer, 2021)

3.11.3 Vacunas inactivadas y de subunidades proteicas

Las vacunas inactivadas son virus enteros que no pueden infectar las células y replicarse. No suelen proporcionar una inmunidad (protección) tan fuerte como las vacunas vivas. Es posible que necesite varias dosis con el tiempo (vacunas de refuerzo) para tener inmunidad continua contra las enfermedades.

Las vacunas de subunidades están hechas de fragmentos de proteínas o polisacáridos. Dado que las vacunas solo utilizan partes específicas, ofrecen una respuesta inmunitaria muy fuerte dirigida a partes claves virus del COVID-19. (Fiolet T. *et al*, 2021) También se pueden utilizar en prácticamente cualquier persona que las necesite, incluso en personas con sistemas inmunitarios debilitados o problemas de salud a largo plazo. La única limitación de estas vacunas es que posiblemente necesite vacunas de refuerzo para tener protección continua contra las enfermedades (Jara A, 2021). La vacuna BBIBP-CorV, (SINOPHARMA), entra en esta categoría de vacunas inactivadas. BBIBP-CorV, (SINOPHARMA) la vacuna inactivada de Wuhan, Covaxin tuvieron una eficacia del 50,6-92,3% de acuerdo al estado sintomático (Fiolet T. *et al*, 2021).

3.12 ANTECEDENTES

En el estudio de Salinas-Aguirre en 2022, describieron las características de los pacientes con COVID-19 en el estado de Coahuila y determinaron las comorbilidades asociadas con la mortalidad. Se incluyeron 17.479 pacientes,

reportando un 6,3% de mortalidad. Los factores que se asociaron con esta fueron: edad mayor a 60 años, diabetes hipertensión arterial sistémica, obesidad y daño renal crónico. Por lo que estas mismas comorbilidades principales incrementan la mortalidad en pacientes con COVID-19 en la población de Coahuila; el factor que más contribuyeron de acuerdo con este estudio en riesgo de muerte es la edad mayor a 60 años.

Andrews N *et al*, en enero del 2022, después de un largo análisis, evaluaron la eficacia de vacunas de BNT162b2 (Pfizer- BionTech) y ChAdOx1-S (AstraZeneca) contra el Covid-19 sintomático con apego a los linajes Delta y Alpha de SARS- CoV-2. Evaluaron un total de 7.106.982 pruebas PCR, dentro de los 10 días posteriores al inicio de los síntomas. Observaron una disminución de la eficacia de la vacuna en las personas de 65 años en adelante que en las de 40 a 64 años. A las 20 semanas o más después de la vacunación de dos dosis, la eficacia de la vacuna disminuyó menos frente a ambas hospitalizaciones, a 80,0%, con la vacuna ChAdOx1-S y 91,7% con la vacuna BNT162b2 y muerte, a 84,8%) y 91,9%, respectivamente. Mostraron evidencia de una disminución significativa de la eficacia de la vacuna contra la enfermedad sintomática, pero con una disminución limitada contra la enfermedad grave, durante al menos 5 meses después de un intervalo prolongado, un programa de dos dosis con las vacunas ChAdOx1-S y BNT162b2. La disminución de la efectividad de la vacuna fue mayor entre los adultos mayores y entre los adultos en los grupos de riesgo clínico.

En otro caso, Patalon *et al*, en agosto 2021 realizaron 182,076 pruebas de PCR en pacientes mayores de 40 años que no tenían una infección documentada previa. Los datos que recopilaron abarcan: edad, sexo biológico el último índice de masa corporal (IMC) e información sobre enfermedades crónicas, incluidas las enfermedades cardiovasculares. Hipertensión diabetes, enfermedad renal crónica (ERC), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y afecciones inmunocomprometidas, así como datos sobre el cáncer del Registro Nacional del Cáncer. En este estudio, encontraron que una tercera dosis de la vacuna BioNTech/Pfizer mRNA BNT162b2 proporcionó protección adicional contra la

infección detectada. A través de los análisis de casos y controles negativos y emparejados, estimaron una reducción del 48-68% en las probabilidades de dar positivo para SARS-CoV-2 después de 7-13 días y 70-84% 14-20 días después del refuerzo en comparación con dos dosis.

Jesse O *et al*, en abril de 2022 Evaluaron la gravedad de la enfermedad causada por las variantes delta y ómicron durante un breve período a lo largo de la transición del dominio Delta a ómicron. Sometieron 23.089 muestras de las vías respiratorias a pruebas de RT-PCR del SARS-CoV-2. De los cuales 2.688 (12%) fueron positivos para SARS-CoV-2. Entre las muestras positivas, 780 (29%) se sometieron a secuenciación. Al secuenciar muestras de pruebas positivas de SARS-CoV-2 y asociarlas con datos clínicos extraídos de los registros electrónicos de salud, encontraron que las infecciones causadas por la variante Ómicron fueron menos graves clínicamente que las causadas por la variante Delta. Más pacientes infectados con Delta (13,1%) fueron admitidos en el hospital en comparación con los infectados con Ómicron (5,3%), y más infecciones por variantes de Delta (8,4%) requirieron oxígeno suplementario que infecciones por variantes de Ómicron (3,0%). aquellos que estaban infectados con la variante Ómicron tuvieron menos ingresos, menos necesidades de oxígeno y ventilación mecánica, y menos muertes que aquellos infectados con la variante Delta según lo determinado por la secuenciación del genoma completo.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los linajes o variantes emergentes de SARS-CoV-2, generan una gran preocupación de salud pública debido a la alta tasa de mutación; entre ellas las variantes de preocupación, poseen características tales como alta transmisibilidad, gravedad de la enfermedad clínica y evasión de la inmunidad natural e inducida por las vacunas. Se pretende ver la relación del esquema de vacunación, así como su severidad de la enfermedad en pacientes detectados con linajes del SARS-CoV-2 en el hospital de Juárez de México.

5. JUSTIFICACIÓN

El Conocer la gravedad de la enfermedad, edad, sintomatología y comorbilidades presentes en pacientes permiten conocer complicaciones graves que pueden desencadenar un grave estado de la enfermedad de COVID-19, llevando e incluso a la muerte, Por lo que, el esquema vacunación de pacientes detectados con linajes de SARS-CoV-2, es clave en este trabajo para tener un panorama más amplio de cómo se comporta y evoluciona la enfermedad de COVID-19 en pacientes detectados con linajes de SARS- Cov-2 y la importancia de la vacunación en la población.

6. OBJETIVO GENERAL

Detectar variantes de SARS-CoV-2 en pacientes vacunados y relacionar la Gravedad de la enfermedad.

6.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Detección de SARS-CoV-2, mediante la qPCR en pacientes con SOSPECHA neumonía en muestras de exudado nasofaríngeo.
- Detección de variantes de SARS-CoV-2, mediante qPCR en muestras positivas de exudado nasofaríngeo.
- Asociar el esquema de vacunación frente a la gravedad de la enfermedad, mediante análisis estadísticos.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

La fuente de información que se utilizó fue la de los reportes diarios de pacientes hospitalizados por COVID-19, entre Enero a Marzo del 2022, en el Hospital Juárez de México y de la plataforma del Sistema de Vigilancia de Enfermedades Respiratorias (SISVER) en el Sistema Nacional De Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) de la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud de México.

7.1 Tipo de estudio

Estudio tipo observacional, descriptivo de pacientes detectados con algún tipo de linaje de SARS-Cov-2.

7.2 Población de estudio

Pacientes que cuenten con diagnóstico de COVID 19 y positividad para SARS-CoV-2 y variantes de SARS- CoV-2 en el Hospital Juárez de México.

7.3 Criterios de inclusión

- a) Pacientes que requirieron internamiento en el Hospital Juárez de México.
- b) Pacientes con RT-PCR positiva para COVID 19 y para variantes de SARS-CoV-2.
- c) Esquema de vacunación completo.
- d) Pacientes sin distinción de edad
- e) Sexo indistinto
- f) Estado de afecciones comórbidas
- g) Esquema de sintomatología completo
- h) Pacientes con desarrollo de enfermedad en un periodo de 1-10 días, después del inicio de síntomas.

7.4 Criterios de exclusión

- a) Persona que no se realizó prueba RT-PCR para linajes de SARS- CoV-2
- b) Pacientes dados de alta (traslado/voluntaria)

Grupo control

Pacientes pertenecientes al grupo Leve- Moderado de gravedad de la enfermedad.

7.5 Grupo problema

Pacientes pertenecientes al grupo Grave y/o Critico de gravedad de la enfermedad.

7.6 Recolección de muestras

Muestras de tipo exudados nasofaríngeos y/o saliva de pacientes hospitalizados con sospecha de COVID-19.

7.7 Análisis Estadístico

Se realizó prueba de χ^2 y de Fisher mediante software paquete estadístico The jamovi project Version 2.3, para conocer si hay alguna asociación significativa en los grupos de gravedad de la enfermedad.

7.8 Reactivos

- Pathogen Miniprep. Kit de extracción. DNA/ RNA Zymo Research.
- Kit qPCR GENES2LIFE. Master Mut. Detección preliminar de variantes de SARS-CoV-2
- H₂O grado biología molecular marca Lonza
- Etanol grado biología molecular marca Thermo Scientific™ de Fisher Scientific

7.9 Equipos

- Cabina de flujo laminar Nivel II A/B3
- Termociclador The Applied Biosystems QuantStudio 5 Real-Time PCR System for Human Identification
- Termociclador CFX96™ Real-Time System marca BIO-RAD®
- Campana PCR con irradiación UV marca BioSan
- Microcentrifuga con refrigeración mod. 1730R marca GYROZEN

- Mini centrifuga modelo NG002G marca Nippon Genetics Europe
- Mini centrifuga para tira de tubos de qPCR marca DRAGONLAB

7.10 Protocolo de Extracción de ADN/ RNA

Se realizó siguiendo las recomendaciones del fabricante ZYMO, con algunas modificaciones.

En primer lugar, en un tubo eppendorf de 1.5 mL, se adicionó 2 µl de proteinasa K, asimismo se agregó en el mismo tubo 400 µl de Pathogen DNA/RNA Buffer y 200 µl de muestra del exudado nasofaríngeo y/o saliva. Posterior se dejó a incubar a temperatura ambiente durante 5min. Siguiendo a esto, se transfirió los 600 µl a la columna Zymo-Spin ICRR Column en un tubo colector para centrifugar 11,000 rpm/ 1 min. Se desechó el sobrenadante del tubo colector y en un nuevo tubo colector se adicionó Pathogen DNA/RNA WASH Buffer en la columna y se centrifugó a 11,000 rpm/ 1 min. Acabado el segundo lavado, se desechó el sobrenadante, para seguir con etanol (95%-100%), el cual se le adicionó 500 µl a la columna, y se centrifugó nuevamente por 14,000/ 3min., para asegurar la remoción del etanol, se desechó el tubo de recolección y se transfirió a un nuevo tubo libre de nucleasas. Se adicionó 40 µl de buffer de elución directamente a la matriz de la columna y se centrifugó a 11,000/2min.

Todas las muestras se rotularon y se almacenaron en un refrigerador Thermo-Fisher a -20°C, hasta su uso.

7.11 Detección mediante PCR en tiempo real SARS-CoV-2

Una vez extraídas las muestras de exudado nasofaríngeo de los pacientes, se realizó la detección del virus SARS-CoV-2 por medio del kit comercial MIKROGEN *ampliCube* Coronavirus SARS-CoV-2 es una prueba in vitro, cualitativa

Utiliza iniciadores específicos y sondas marcadas para la delimitación del ARN en el ADNc, amplificación y detección del ARN de los SARS-CoV y SARS-CoV-2. Para asegurar que los ácidos nucleicos aislados de la muestra del paciente no contengan sustancias inhibitoras de la RCP-RT, se somete la muestra a un control interno (IC) durante el aislamiento del ácido nucleico. Este control interno se delimita, amplifica y detecta en la misma mezcla reactiva de la RCP-RT en el ADNc. De esta manera es posible excluir resultados negativos incorrectos de la prueba debidos a una inhibición de la reacción de RCP-RT. El control interno se usa al mismo tiempo para la identificación de la extracción del ácido nucleico de la muestra del paciente. Las sondas para la detección específica del agente patógeno específico de los ácidos nucleicos están marcadas con el colorante informador FAM (SARS-CoV. E-Gen) y HEX (SARS-CoV-2: ORF1a). Las sondas para la detección del control interno están marcadas con ATTO 647N. De este modo es posible la detección simultánea de todas las secuencias de interés en una mezcla de reacción. La sonda marcada con FAM detecta los coronavirus SARS. La diferenciación del SARS-CoV-2 tiene lugar en el canal HEX. El valor Ct (cycle threshold, umbral del ciclo) describe la parte de la curva en la cual la fluorescencia aumenta por primera vez exponencialmente, sobrepasando el valor de fondo.

A continuación, se muestra las preparaciones y condiciones necesarias para realizar PCR en tiempo real para SARS-CoV-2 y Variantes de SARS-CoV-2.

- Preparación de la mezcla muestra para SARS-CoV-2

COMPONENTE	MEZCLA MAESTRA PARA 1 REACCIÓN
Mezcla De Primer & Probe (Contiene Primers Y Sonda)	3 µl
Mezcla De Enzymas (Contiene Transcriptasa Inversa Y ADN Polimerasa.	12 µl
Control Interno	3 µl
Muestra	10 µl

- Condiciones RT- PCR para SARS-CoV-2

Retro transcripción	50°C	8 min.
Desnaturalización	95°C	3 min
Amplificación	45 ciclos	
Desnaturalización	95°C	10 seg.
Hibridación/Alargamiento	60°C	45 seg.

- Preparación de la mezcla maestra para linajes de SARS-CoV-2

COMPONENTE	MEZCLA MAESTRA PARA 1 REACCIÓN
Buffer Starq 5x	4 µl
Diluyent T	8.5 µl
Master Mut 1-M Primer Mix	2 µl
Enzyma Starq	0.5 µl
Muestra	5 µl

- Condiciones RT-PCR para detección de Variantes de SARS-CoV-2

Retro Transcripción	50°C	15 MIN.
Desnaturalización Inicial	95°C	2 min
Amplificación	40 ciclos	
Desnaturalización	95°C	15 seg.
Alineamiento	58°C	10 seg.
Hibridación/Alargamiento	66°C	30 seg.

Tabla 1 Interpretación de resultados de variantes de SARS-CoV-2 mediante Kit Genes2life.

Reacción 1				Reacción				Interpretación	Posible variante
K417N	N501 Y	6484K	R346K	L452R/Q	Del 88/70	D253N	T478K		
FAM	HEX	Cal Fluor Red 610	Quasar 670	FAM	HEX	CAL fluor Fleb 610	Quasar 670		
+	+	+	+	NA	NA	NA	NA	Master Mut 1-M Ctrl	NA
NA	NA	NA	NA	+	+	+	+	Master Mut 2-M Ctrl	NA
-	+	+	-	-	+	-	-	Mutaciones N501Y, 6484K y Del 69/70 presentes	Alfa
+	+	+	-	-	-	-	-	K417N, N501Y y 6484K presentes	Beta
V	+	+	-	-	-	-	-	N501Y y 6484K presentes. Algunos virus pertenecientes a este grupo pueden presentar K417N	Gamma
-	-	-	-	+	-	-	+	Mutaciones L452R y T478K presente	Delta
-	-	-	-	+	-	-	-	Mutación L452R presente	Épsilon/K appa
-	-	+	-	-	+	-	-	Mutaciones 6484K y Del 89/70 presentes	Eta
-	-	+	-	-	-	-	-	Mutación 6484K presente	Lota
-	-	-	-	+	-	+	-	Mutaciones L452Q y D253N presentes	Lambda
-	+	+	+	-	-	-	-	Mutaciones N501Y, E484K y R348K presentes	Mu
-	-	-	-	-	-	-	+	Mutación T478K presentes	B.1.1.519 (Mex)
-	-	+	-	-	-	-	-	Mutación 6484K presentes	P.2
+	+	+	+	-	+	-	+	Mutaciones del 69-70, DelN211, T478K presentes	Ómicron
-	-	-	-	-	-	-	-	Muestra sin mutaciones del panel	Ninguna de las anteriores.

8. RESULTADO Y DISCUSIÓN

En este estudio, se obtuvieron 200 muestras nasofaríngeas de pacientes hospitalizados en un periodo de enero a marzo del presente año, de los cuales se realizó el seguimiento de 110 pacientes hospitalizados con 100% de positividad de detección del SARS-CoV-2 del virus original de Wuhan. (Gráfico 1.)

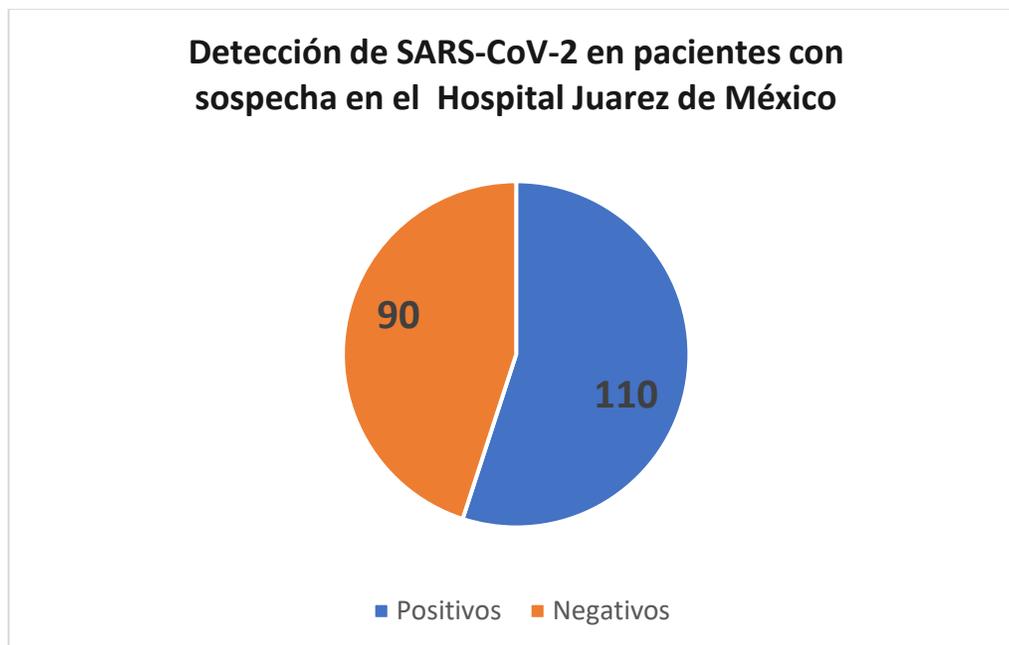


Gráfico 1. Detección de SARS-CoV-2 con sospecha en pacientes del Hospital Juárez de México.

Primeramente, se encontró una alta positividad al SARS-CoV-2 en pacientes masculinos con un 51% de incidencia y un 49% para pacientes femeninos Gráfico 3, esto coincide con lo mencionado con Scruzzi *et al* en 2022, encontrando que el pertenecer al sexo masculino aumenta considerablemente la probabilidad de contraer COVID-19.

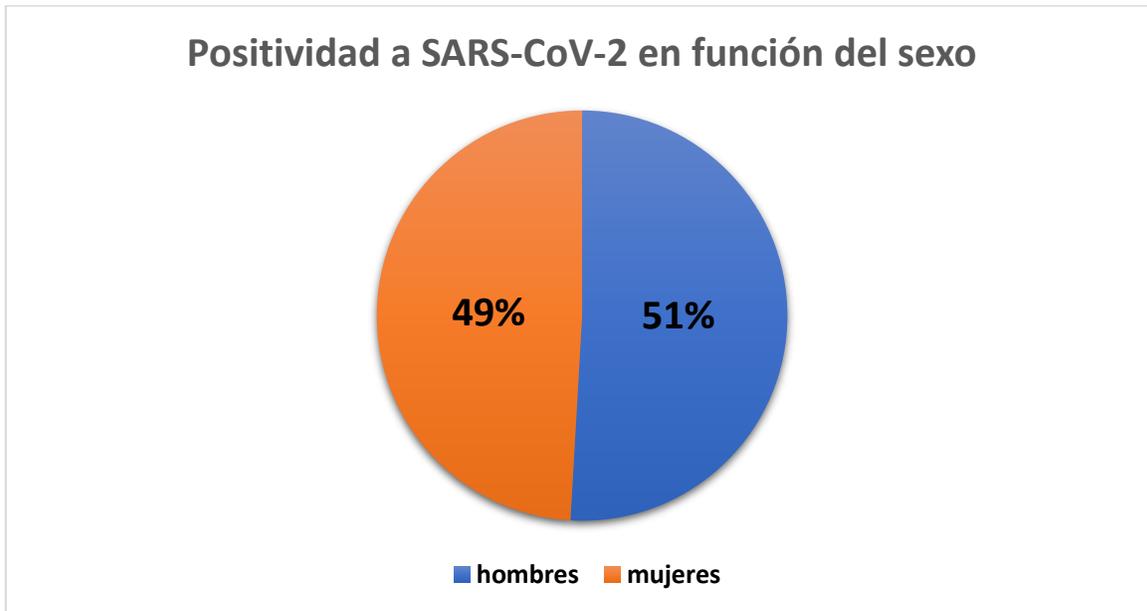


Gráfico 2. Detección de SARS-CoV-2 en pacientes del Hospital Juárez de México en función del sexo.

Estadística Descriptiva de Mortalidad en función del sexo, esquema de vacunación y Comorbilidades en pacientes detectados con variantes de SARS-CoV-2.

Se realizó la Detección de variantes de SARS-CoV-2 en pacientes con 100% positividad al virus original de Wuhan. Se obtuvo una predominancia de la variante Ómicron, esto, debido al alza de contagios que se presenta en el periodo de enero a marzo en el país (Gráfico 3). Este repunte de casos de la variante Ómicron, es también referido causa de, como se ha reportado en diversos artículos, por la alta transmisibilidad que posee ante otras VOC (Delta, Alpha, Beta), debido a la cantidad de mutaciones que surgieron de ésta variante. Entonces, esta alta afinidad de unión del dominio RBD de la proteína Espiga al receptor hospedero ACE-2, son características clave importantes de la variante Ómicron y las VOC en general (Mistry *et al*, 2022)

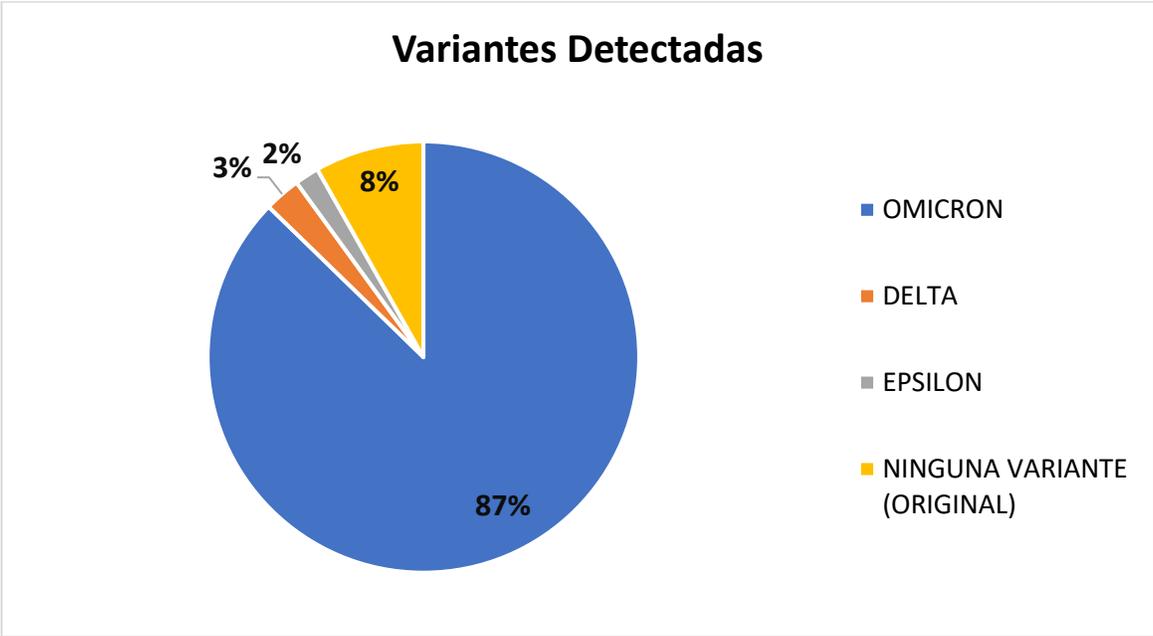


Gráfico 3. Detección de Variantes de SARS- CoV-2 en pacientes hospitalizados del Hospital Juárez de México.

No obstante, se muestra en el gráfico 4, una mortalidad predominante para el sexo masculino de 65% (13/20), y un 35% (7/20) para el sexo femenino.



Gráfico 2. Mortalidad en pacientes de variantes de SARS-CoV-2 en función del sexo.

Se ha visto que el sexo es un factor importante en la heterogeneidad de la mortalidad por COVID-19, ya que en diversos estudios existen significativas diferencias en función del sexo, teniendo los hombres un mayor riesgo en comparación con las mujeres. Marin en 2020, reporta una mortalidad de 63% en sexo masculino en 100 casos de fallecimientos por SARS- CoV-2, asemejándose a los resultados obtenidos. Además, se ha asociado que los andrógenos masculinos pueden desempeñar un papel en la patogenia de la enfermedad de COVID-19, debido a que pueden facilitar la entrada del virus a las células al promover la expresión de una serina proteasa clave. (Giovanelli y Quinton, 2021).

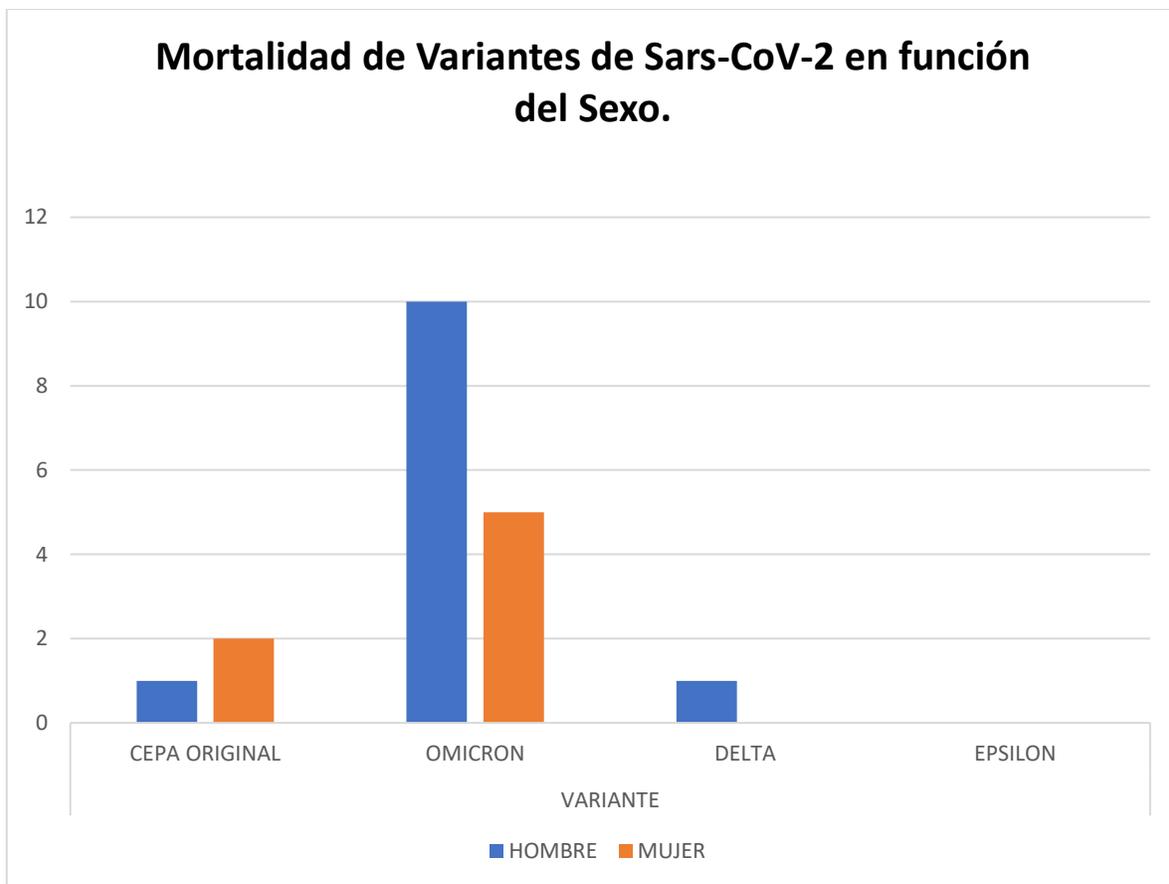


Gráfico 3. Incidencia de Mortalidad de la variante detectada en pacientes en función del sexo.

Por tanto, el sexo masculino tiende a una alta probabilidad de contraer el virus de SARS-CoV-2, así como a sus variantes, como se muestra en el gráfico 5, la variante Ómicron y Delta son predominantes en sexo masculino, por lo que se marca cierta alta frecuencia hacia al sexo masculino a padecer un estado de gravedad crítico e incluso a la mortalidad.

La vacunación es factor clave para prever en toda la heterogeneidad presente en la mortalidad por SARS- CoV-2. Se observa en el gráfico 5, un 16/20 (80%) de presencia de la variante Ómicron en la mortalidad en pacientes, 3/20 (15%) de la cepa original y 1/20 (5%) de la variante Delta. Cabe destacar que, solo se presentó 1 persona vacunada fallecida con esquema de dos dosis aplicadas y el resto no presentaba alguna vacuna aplicada registrada. Esto nos da un panorama de la letalidad de las VOC ante la población no vacunada. Esto según la OMS en 2021, las VOC presentan un escape a la inmunidad natural inducida tanto por la infección o la vacuna, a origen de las numerosas mutaciones, presentes en la proteína espiga.

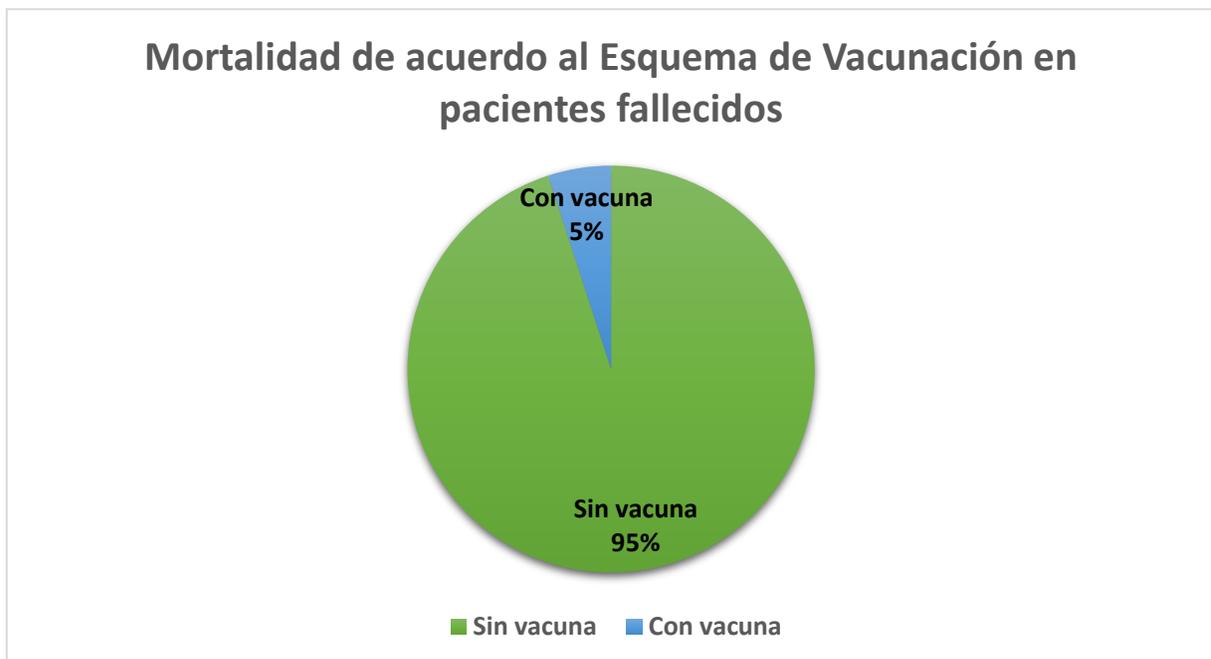


Gráfico 4. Mortalidad en función al esquema de vacunación en pacientes fallecidos. Se encontraron con 19/20 (95%) pacientes fallecidos sin vacuna y 1/20 (5%) paciente fallecido con vacuna aplicada

En cuanto a la Mortalidad en relación con las comorbilidades, existe una alta frecuencia de pacientes fallecidos con algún tipo de afección comórbida 70%, lo cual coincide con Jonaid *et al* en 2022, menciona que el 75% de sus pacientes hospitalizados presentan al menos una comorbilidad asociada a COVID-19, por lo cual nos indica una población severamente afectada por afecciones comórbidas y esta no es la excepción. En el gráfico 7, los pacientes fallecidos, se presentan con un 30% sin comorbilidad, un 35% presenta 2 tipos o más de comorbilidad y un tipo de comorbilidad presente 35%. De acuerdo con la OMS en 2022, se ha observado que a lo largo de más de dos años de pandemia las afecciones comórbidas, siguen siendo unas de las causas origen en aumentar las probabilidades de enfermedad grave hasta la propia muerte del individuo. Por lo que el presentar más de 2 o más afecciones comórbidas aumentan las probabilidades considerablemente de mortalidad por infección de algún tipo de variante de preocupación de SARS-CoV-2.

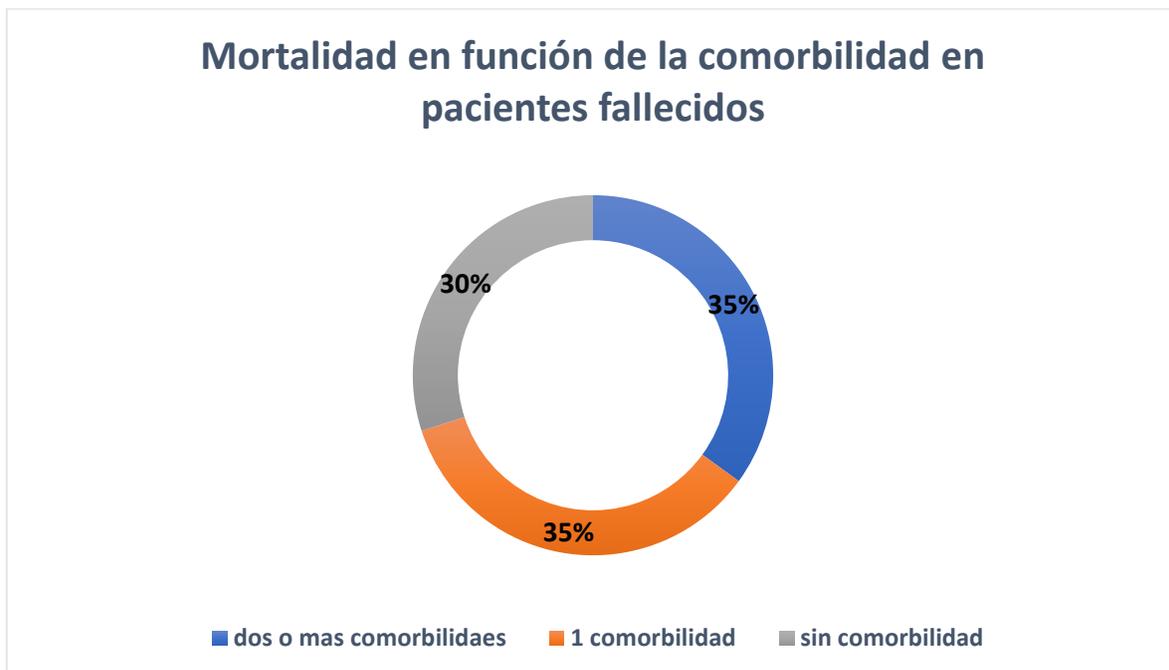


Gráfico 5. Mortalidad en función de presencia y/o ausencia de comorbilidades en pacientes fallecidos.

No obstante, las afecciones comórbidas más frecuentes en pacientes fallecidos que se obtuvieron fueron Diabetes 7/20 (35%) e Hipertensión 7/20 (35%); seguidos de afecciones que comprometen al pulmón, como Tabaquismo 2/20 10% y EPOC 2/20 (10%) y con un cómo se puede observar en el gráfico 8. Asimismo, Joanid *et al* en 2022 reportan en su estudio que las comorbilidades más comunes son Diabetes, Hipertensión, cáncer (por su estado inmunocomprometido) y enfermedades cardiovasculares. Al igual, Sanyaolu *et al.*, 2020 afirma que los individuos diabéticos e hipertensión, tienen una mayor morbilidad y mortalidad, esto referido a mayores tasas de hospitalización e ingreso en la Unidad de Cuidado Intensivos.

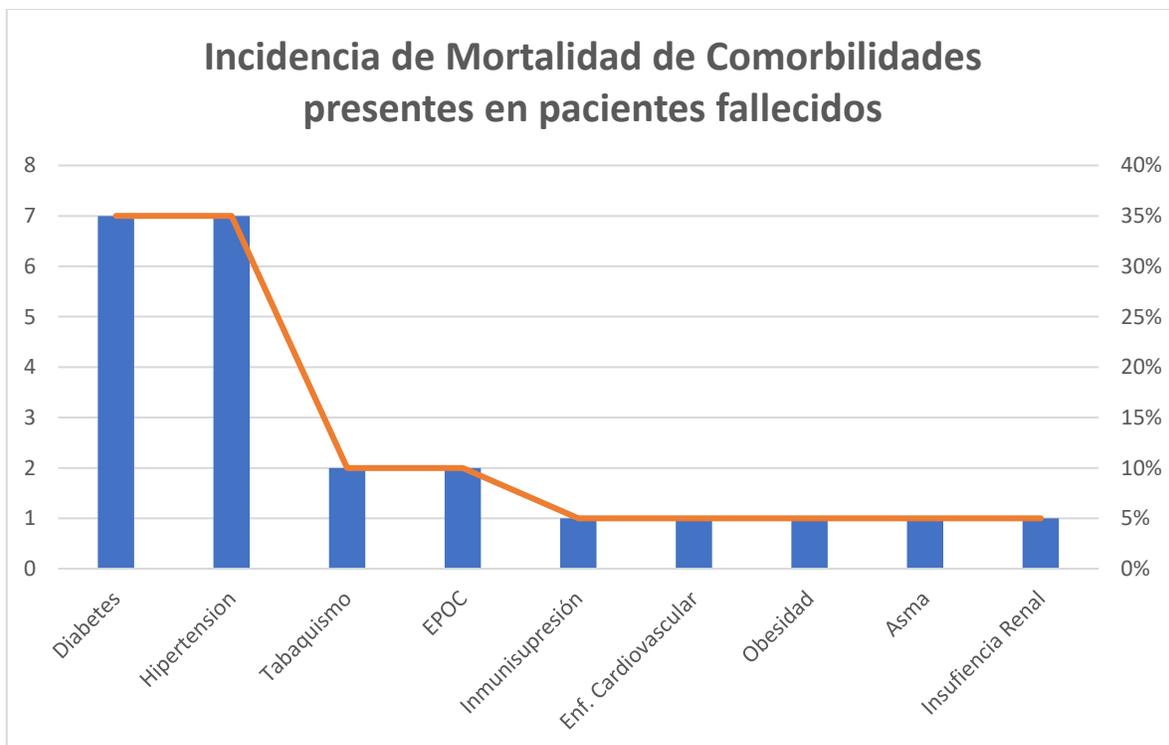


Gráfico 6. Incidencia de Mortalidad de Comorbilidades presentes en pacientes fallecidos.

Estadística descriptiva en Descriptiva respecto a la edad y esquematización de vacunación en pacientes detectados con variantes de SARS-CoV-2.

Por otro lado, se analizó también el rango de edades de los pacientes. La población con mayores casos de COVID-19 fue de entre los 30-59 años (38%), seguidos de 60-79 años (35%), 80 > años (13%), 18-29 años (11%) y 0-17 años (3%). (Gráfico 9)

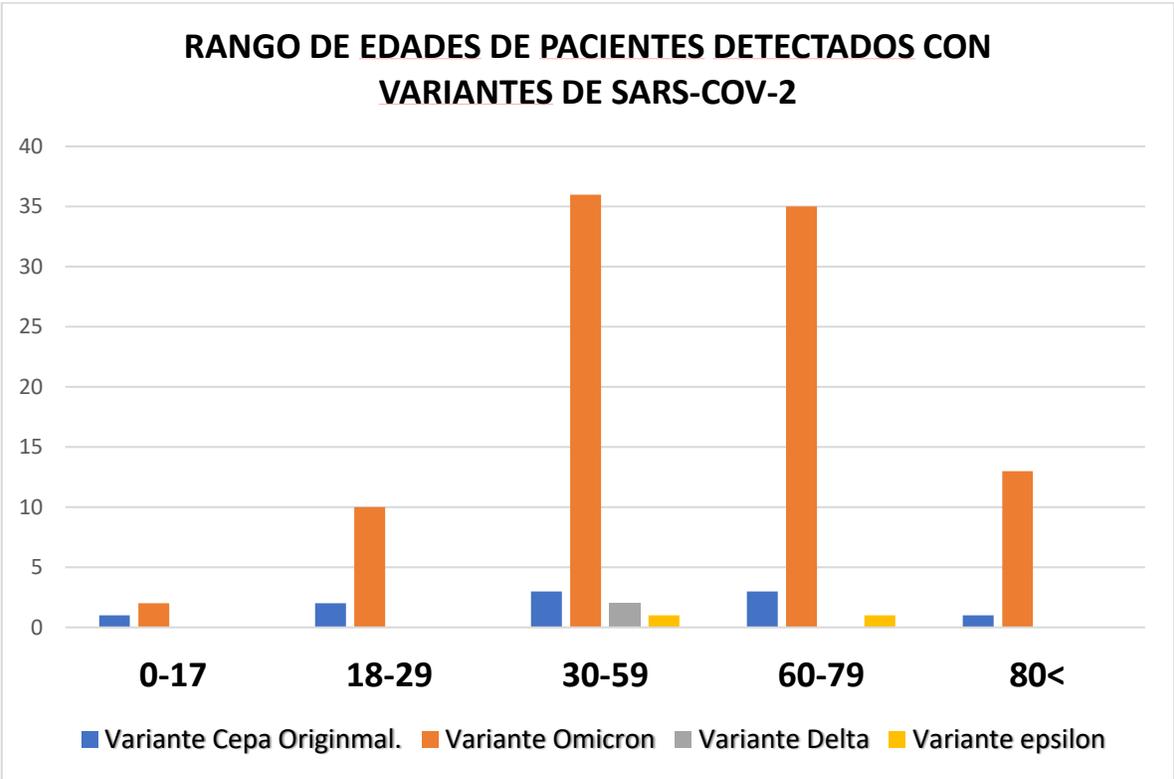


Gráfico 7. Rango de Edades de pacientes con Detección de Variantes de SARS-Cov-2.

Se ha observado a lo largo de la pandemia, la mortalidad significativamente se asocia a las edades avanzadas en pacientes con COVID-19. Estudios previos han indicado que la edad avanzada es una variable importante asociada a la mortalidad en diferentes países. En un estudio de revisión realizado en la población de México a mediados de la pandemia indicaron que alrededor del 92% de los pacientes no supervivientes eran mayores de 41 años (Gaspar, López y Bracamonte, 2020). La

susceptibilidad a la edad avanzada se ha relacionado también con defectos dependientes de la edad en la función de las células T y las células B y una mayor producción de citoquinas tipo 2 que conducen a la deficiencia en el control de la replicación viral y respuestas proinflamatorias prolongadas. (Fei *et al*, 2020). Por lo que, la edad implica ya una variable origen a considerar para la salud propia del individuo.

De importancia mencionar, la vacunación de la población estudio fue del 20% (gráfico 10) con 22 pacientes con esquemas de vacunación de primera dosis y segunda dosis completos, pero sin vacuna de refuerzo en su mayoría; 11 pacientes cuentan con la vacuna AstraZeneca 11/110 (10%); seguidos de la vacuna Gamaleya con 5/110 pacientes (4%), Pfizer-BioNTech con 3/110 pacientes (3%); Moderna 1/22 (1%), Sinopharma 1/110 (1%) y 1/110 Sinovac (1%). Sin embargo, se muestra 80% con 88 pacientes con estado de sin aplicación de vacuna. Estos nos refieren a una población sumamente vulnerable para las variantes de preocupación emergentes que pudiesen manifestarse y a las que están circundando en la comunidad actualmente. El esquema completo de vacunación es de suma importancia, es decir, que el individuo cuente con las dosis aplicadas y la dosis de refuerzo. Scruzzi y *col* en 2022, en su estudio poblacional vacunadas y no vacunadas, encuentra que el haber recibido una o dos dosis de vacuna reduce el riesgo de enfermar de gravedad en 98% y reduce el riesgo de morir en el 83%, y en adición en esto, Fiolet T. *et al* en octubre de 2021 observa que la vacunación de refuerzo o una tercera dosis de vacuna indujeron una fuerte respuesta humoral ante las VOC en especial la variante Ómicron, no evadiendo la enfermedad Leve-Moderada, pero si actuando ante la enfermedad de COVID-19 Grave y Crítica.

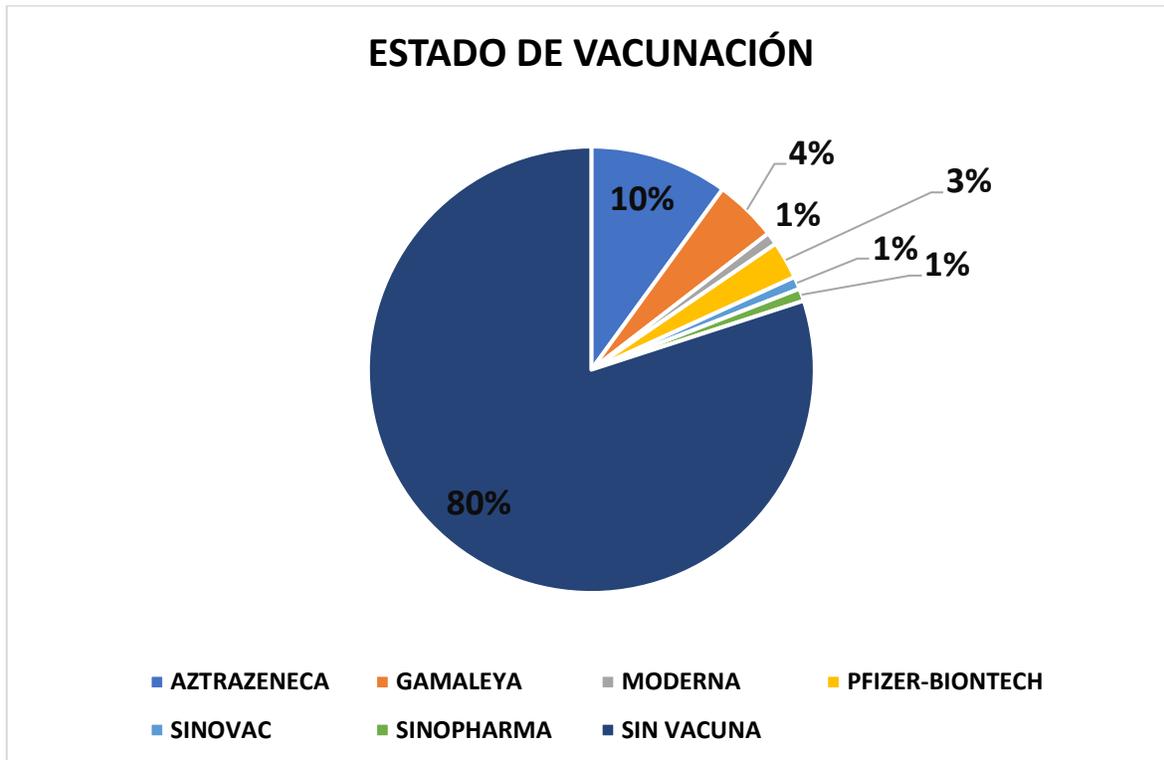


Gráfico 8. Esquema General de Vacunación de pacientes hospitalizados (n=110) por vacuna aplicada. Sin Aplicación De Vacuna 88/110 (80%). Con Vacuna Se Encuentra Con 11/110 (10%) AstraZeneca; 5/110 (4%) Gamaleya; 3/110 (3%) Pfizer- BioNTech Y 1/110 (0.9%) Para Sinopharma, Moderna Y Sinovac.

En el estudio de Sohn YJ *et al* 2022 Se ha encontrado que la variante ómicron es principalmente responsable de infecciones leves, aunque se han producido muertes debido a este brote. En este mismo, hubo dos muertes, y la tasa de mortalidad general no fue alta en 1.1% (2/181). Sin embargo, solo entre los individuos no vacunados, la tasa de mortalidad fue del 4,8% (2/42). Según varios estudios, la efectividad de la vacuna contra la enfermedad sintomática causada por la variante ómicron es menor que la de la variante delta. (Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido; Andrews *et al*, 2022). Después de dos dosis, se ha encontrado que la efectividad de la vacuna disminuye rápidamente. Sin embargo, se ha encontrado que los refuerzos resultan en un aumento significativo en el efecto protector contra infecciones leves. (Ssentongo *et al* 2022, Atmar *et al*, 2022 y Garcia-Beltran *et al*, 2022) Además, con las cepas anteriores, la efectividad de la vacuna contra la enfermedad grave, incluida la hospitalización y la muerte, fue mayor y se mantuvo durante un período más largo, en comparación con la enfermedad leve. (Ssentongo

et al, 2022). Según la experiencia con otras variantes, la efectividad de la vacuna contra la enfermedad grave causada por ómicron es probablemente mayor que la estimación contra las infecciones sintomáticas. (Andrews *et al*, 2022) Por esta razón, una vacuna de refuerzo actual puede ayudar contra la infección por variante Ómicron.

Clasificación de los pacientes de COVID-19

Por lo que se vio necesario, de acuerdo, al seguimiento de los pacientes con respecto al gravedad de enfermedad, dividirse en tres grupos, esto en base a la OMS 2021, por lo que fueron clasificados como Leve-Moderado, Grave y Crítico en acuerdo a las características clínicas y evolución de la enfermedad de COVID-19.

De los 110 pacientes positivos a SARS-CoV-2 y variantes (n=110, 100%), el grupo de COVID-19 leve- Moderado fue de 59/110 pacientes (54%), el grupo Grave de 31/110 pacientes (28%) y el grupo Crítico con 20/110 pacientes (18%), como se puede observar en la gráfico 11.

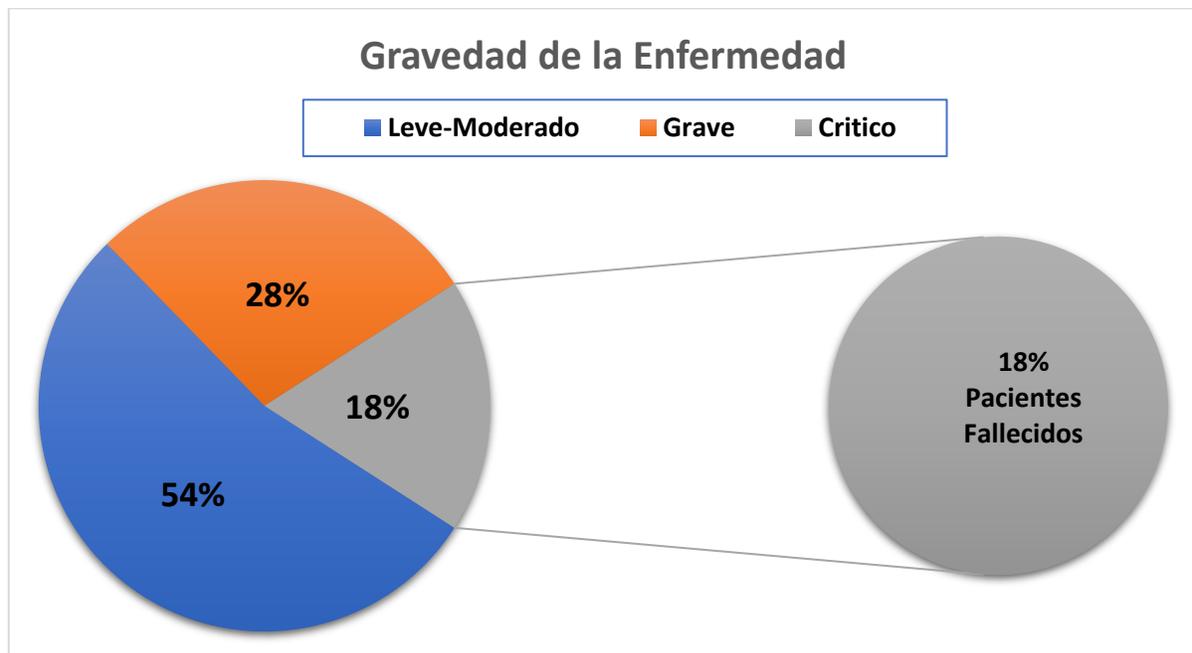


Gráfico 9. Porcentaje de pacientes hospitalizados clasificados por grupos de Gravedad de la enfermedad.

Cabe resaltar tanto para los pacientes de los grupos Leve- moderado y Grave, se recuperaron de la enfermedad de COVID-19; el grupo Grave requirió o hubo necesidad de internación con ventilación para 20 pacientes (64.5%) de los 31 totales (100%); el grupo Critico (Grafica 1.10) tiene un 20/110 (18%) de pacientes con pacientes finados, de igual forma con internado con ventilación y neumonía elevada, se describe de mejor forma en la tabla 10.

Tabla 2. Características clínicas de la enfermedad de la COVID-19 de pacientes hospitalizados del hospital Juárez de México, en los tres grupos de gravedad de la enfermedad.

Leves- Moderados	Graves	Críticos
<ul style="list-style-type: none"> • Sobreviviente (dado de alta) • Comorbilidades preexistentes o sin las mismas. • Sintomatología típica (Tos, fiebre, cefalea, disnea) y mínima dificultad respiratoria o sin signos de neumonía grave • Sin necesidad de ventilador. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sobreviviente (dado de alta) • Comorbilidades preexistentes o sin las mismas. • Sintomatología típica, además, presenta mialgias, artralgias dificultad para respiratoria y/o neumonía • Internado con necesidad ventilador. 	<ul style="list-style-type: none"> • Finado • Comorbilidades preexistentes o sin las mismas. • Signos clínicos de neumonía aumentados con aparición de nuevos síntomas respiratorios o empeoramiento de los existentes. • Internado con necesidad ventilador.

Incidencias de Gravedad De La Enfermedad en función de la variante detectada, Comorbilidades y tipos de Comorbilidad.

Primeramente, se analizó la incidencia (Gráfico 12), se resaltó las más altas incidencia de casos de acuerdo con el grupo de gravedad de la enfermedad al que fueron clasificados, se destaca lo dominante de la variante Ómicron (96/110) 87.27%, en los tres grupos de Gravedad de la enfermedad, Leve Moderado (52/96) 54.16%, Grave (28/96) 29.16%, Critico (16/96) 16.67%; así como la cepa original (9/110) 8.18%, la variante Delta, (3/110) 2.73% y variante épsilon (2/110) 1.82%.

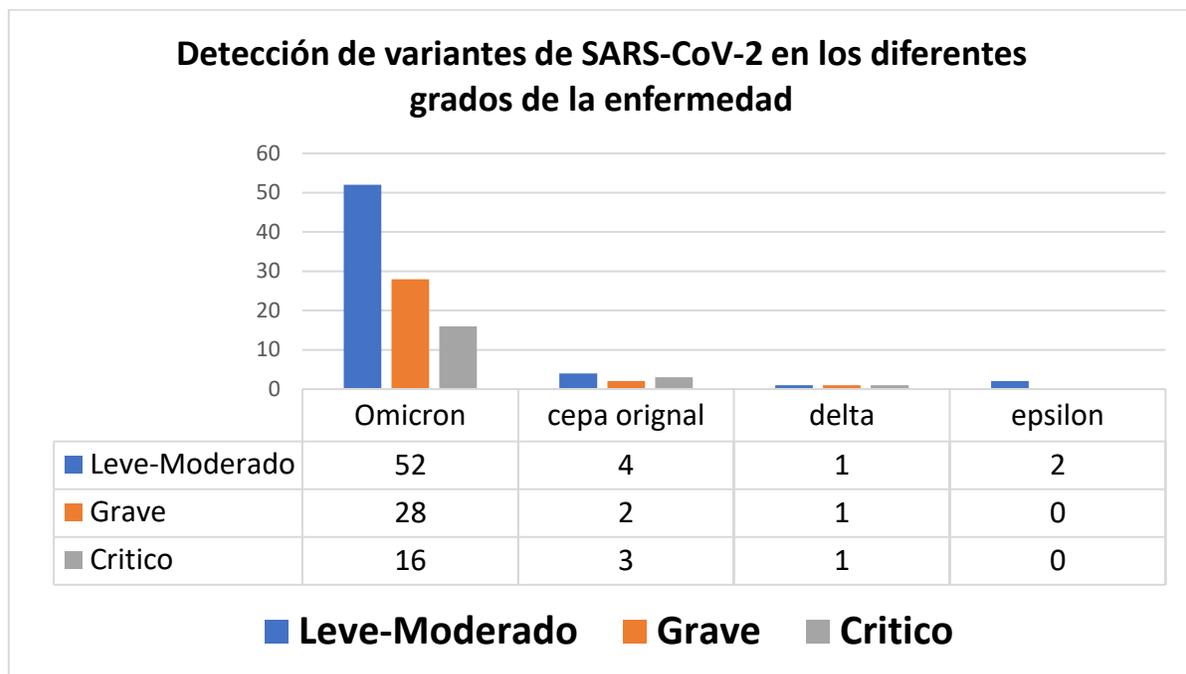


Gráfico 10. Incidencias de Gravedad de la Enfermedad en función de la detección de variantes de SARS-Cov-2.

Es importante mencionar, que a lo largo de la pandemia existen factores multifactoriales que pueden empeorar la infección por SARS-CoV-2, pero la relevancia que cabría destacar es el comportamiento por infección de la variante Ómicron tuvo una letalidad del 18.18%, distribuidos en tres variantes con predominancia en Ómicron, seguido de Cepa Original y Delta, del mismo modo, se presentó en el grupo grave una alta incidencia, de igual modo en el grupo Leve-Moderado prevalencia más alta la obtuvo la variante Ómicron con sintomatología

mínima sin signos de una neumonía grave. Lo cual es indicativo, primeramente, que la variante que es altamente predominante debido a la ola de casos que estaba siendo atacada la comunidad mexicana, por otro lado, la variante Ómicron puede generar enfermedad tanto leve, es decir, generar un cuadro de neumonía nulo, en la población, tanto como un cuadro de neumonía grave e incluso una letalidad relativamente alta en acuerdo nuestros datos.

Varios estudios han encontrado un riesgo reducido de hospitalización enfermedad grave o mortalidad por ómicron en relación con la variante delta del SARS-CoV-2. Los individuos infectados, tenían significativamente reducción de enfermedad grave en comparación con los individuos infectados anteriormente con la variante delta. Parte de esta gravedad reducida es probablemente el resultado de una inmunidad previa. (Wolter *et al*, 2022). De acuerdo con un estudio, Sheikh en febrero del 2022, en relación de la gravedad de ómicron y la medida en que las vacunas de refuerzo son efectivas para prevenir la infección sintomática. Al la que encontró datos significativos en el que la variante ómicron es sustancialmente menos probable que resulte en resultados graves que el delta y que las dosis de la tercera o de la vacuna de refuerzo se asocian con una protección adicional considerable contra la enfermedad sintomática en comparación con las segundas dosis de la vacuna.

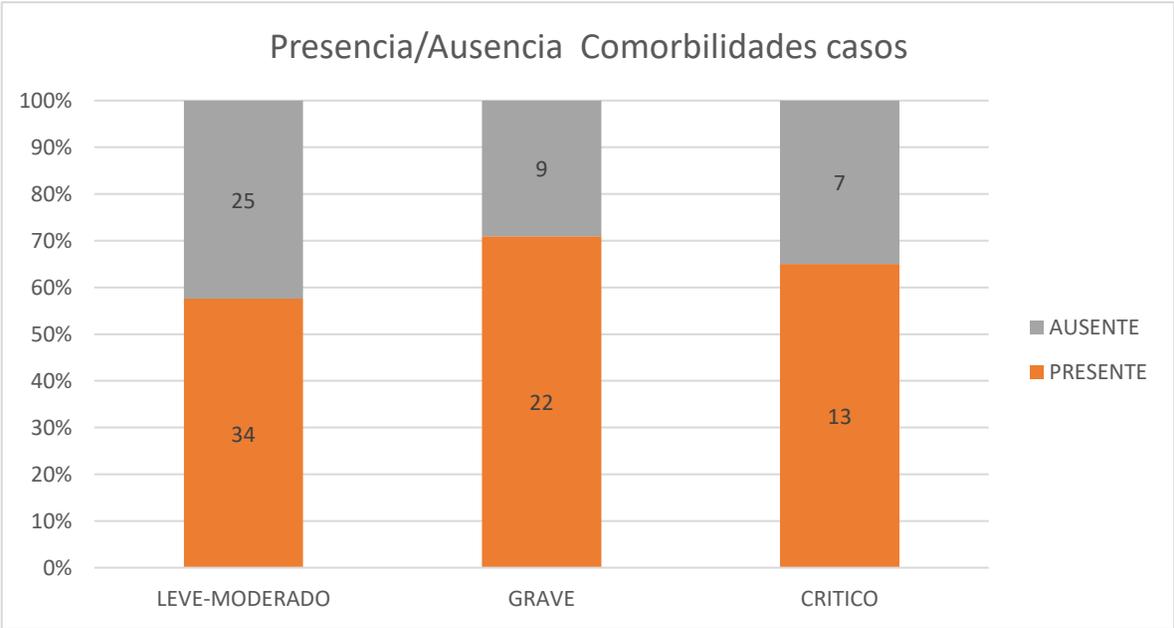


Gráfico 11. Relación de número de casos en presencia y/o ausencia de comorbilidades por cada grupo de gravedad de la enfermedad.

Por otra parte, la presencia y/o ausencia de las comorbilidades en los pacientes hospitalizados es de suma importancia analizar. Como se muestra en la gráfico 13, existe para el grupo Leve- Moderado una frecuencia de 57.63% (34/59) personas con presencia de comorbilidades y ausencia 42.37% (25/59) , la incidencia para el caso de grupo Grave con presencia 70.96% (22/31) pacientes y ausencia 29.04% (9/31) y para el grupo critico existe un 65% de presencia de comorbilidades (13/20) y una ausencia de 35% (7/20).

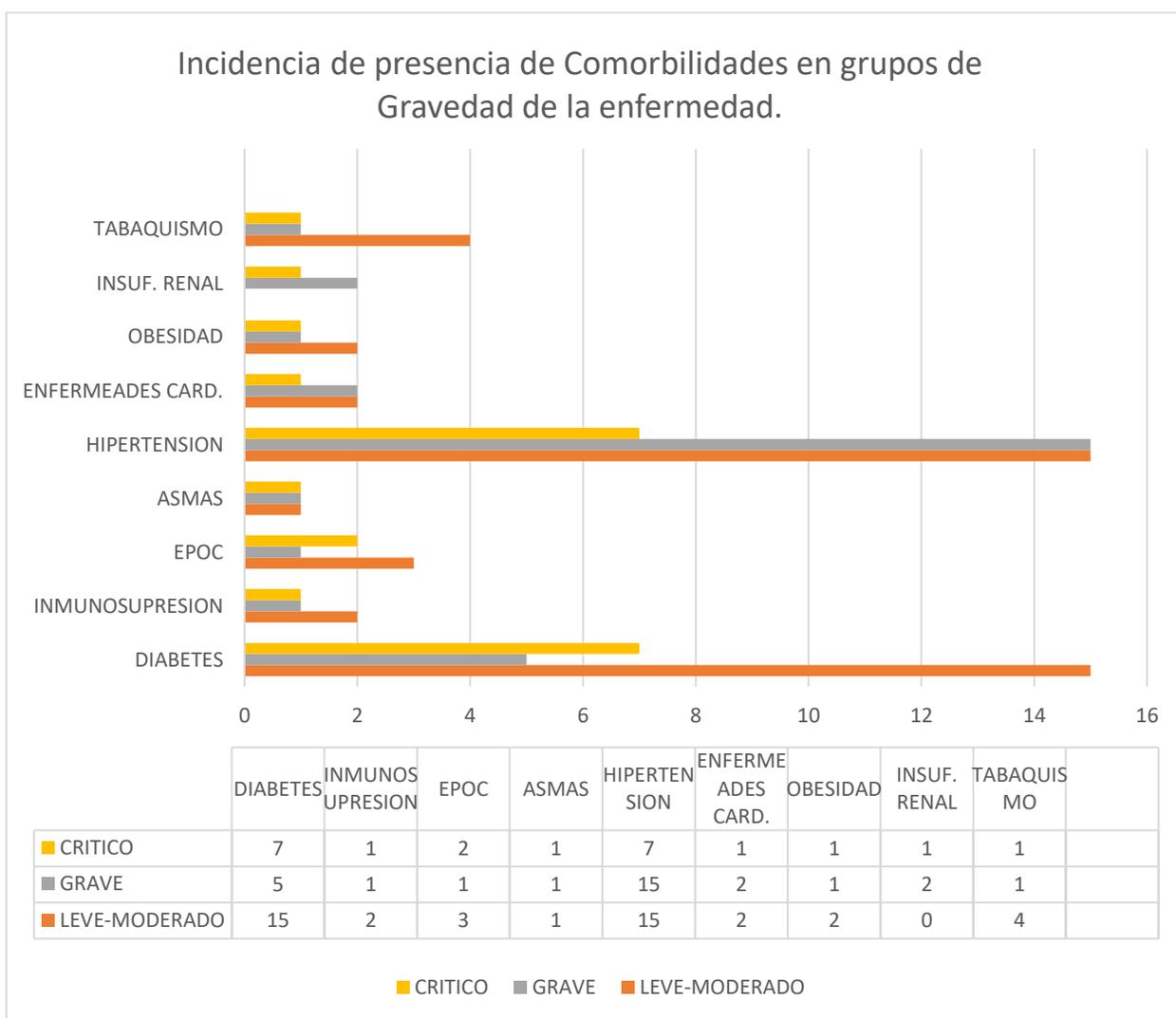


Gráfico 12. Incidencia de los tipos de comorbilidades presentes en pacientes detectados con variantes de SARS-CoV-2 (n=110), por grupo de gravedad de la enfermedad.

Asimismo, de acuerdo con el total de casos, las afecciones comórbidas equivalen al 62.72% (69/110); percibe altas frecuencias para las enfermedades como Diabetes y hipertensión con una frecuencia máxima hasta de 15 casos, siendo estas las más altas para los tres grupos de gravedad de la enfermedad: Leve-moderado, Grave y Crítico. Jonaid *et al* en 2022, en su estudio de impacto de la enfermedad de COVID-19 en personas comórbidas. Encuentra que las personas que tienen antecedentes médicos de trastorno cardiovascular, cáncer, obesidad, enfermedad pulmonar crónica, diabetes o enfermedad neurológica tuvieron el peor pronóstico y tienen más probabilidades de desarrollar síndrome de Dificultad Respiratoria o neumonía. Además, las personas mayores, los pacientes con enfermedad renal crónica y el cáncer no solo están en peligro de infección por COVID-19, sino que también tienen una tasa de mortalidad considerablemente más alta. Lo cual coincide, con nuestros datos, primeramente, en los altos porcentajes que se observa en el gráfico 12., en los tres grupos de gravedad de la enfermedad, lo cual ya nos indica que nuestra población tiene alta tendencia de un estado de empeoramiento de la enfermedad de COVID-19 y por otro lado en el gráfico 14, las afecciones comórbidas más frecuentes en los tres grupos, siendo Diabetes e Hipertensión, seguidos de EPOC, Tabaquismo, Enfermedades Cardiovasculares. En particular, la Diabetes e hipertensión, aparte de que cuentan con las tasas más altas a comparación que otras afecciones comórbidas; son en particular que su organización inmune innata está deteriorada y en defensa contra la infección de SARS-CoV-2 agrava el caso. (Guo *et al.*, 2020). Pacientes infectados con una serie de complicaciones comórbidas previas como hipertensión, diabetes mellitus y obesidad, poseen una condición inflamatoria basal, que puede agravar la infección, al exacerbar la respuesta inflamatoria del organismo. Lo anterior se produce porque la unión viral a enzima convertidora de angiotensina II conduce a un aumento en las concentraciones de angiotensina II, la cual posee efectos proinflamatorios y vasoconstrictores que resultan en una mayor producción de citoquinas proinflamatorias y especie reactivas de oxígeno, generando una exacerbación de la respuesta inflamatoria, sumado al hecho de que en pacientes con COVID-19 grave hay una respuesta inmune deficiente, lo que también aumenta las citocinas proinflamatorias, agravando el pronóstico de los pacientes. (Azuara *et al*, 202

Características clínicas de los Pacientes detectados por variantes de SARS-CoV-2 e Incidencia por grupos de gravedad de la enfermedad.

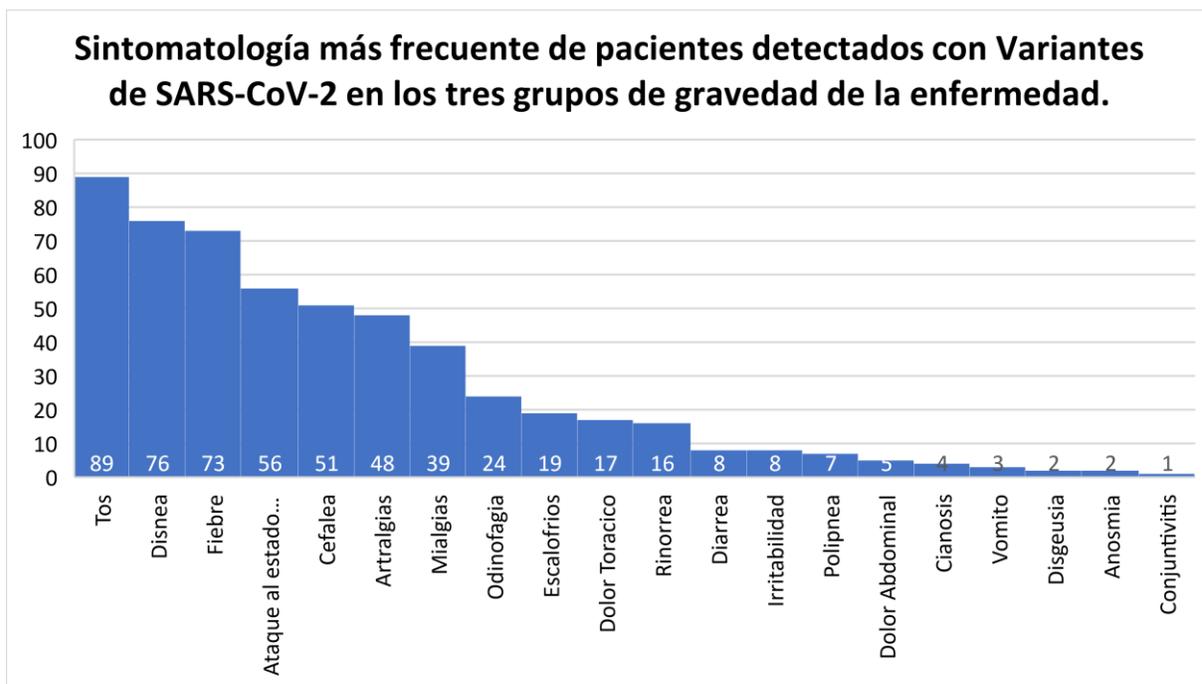


Gráfico 13. Signos y síntomas más frecuentes con COVID-19 en pacientes detectados con Variantes de SARS-CoV-2.

Respecto a la sintomatología (gráfico 15), los más frecuentes fue Tos (89%), Disnea (76%), Fiebre, (73%), ataque al estado general (56%), Cefalea (51%); síntomas muy relacionados a complicaciones del sistema respiratorios, complicaciones que pueden agravar la enfermedad de COVID-19; seguido de Artralgias (48%), Mialgias (39%), Odinofagia (24%), escalofríos (19%), Dolor Torácico (17%), Rinorrea (16 %), Diarrea (8%), Irritabilidad (8%), Polipnea (7%), Dolor abdominal (5%), Cianosis (4%), Vomito (3%), Disgeusia (2%), Anosmia (2%) y Conjuntivitis (1%).

De acuerdo con la OMS, los síntomas generales de COVID-19 incluyen fiebre, dolor de garganta, tos, infecciones tracto-pulmonares y, en casos graves, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sepsis y muerte.

Relación de la Vacunación respecto a la Gravedad de la enfermedad y Comorbilidades

En cuanto a la vacunación, se encuentra en un 20% (22/110) de los pacientes totales diagnosticados con positividad a la variante de SARS-CoV-2 y a la enfermedad de la COVID-19 del Hospital Juárez de México.

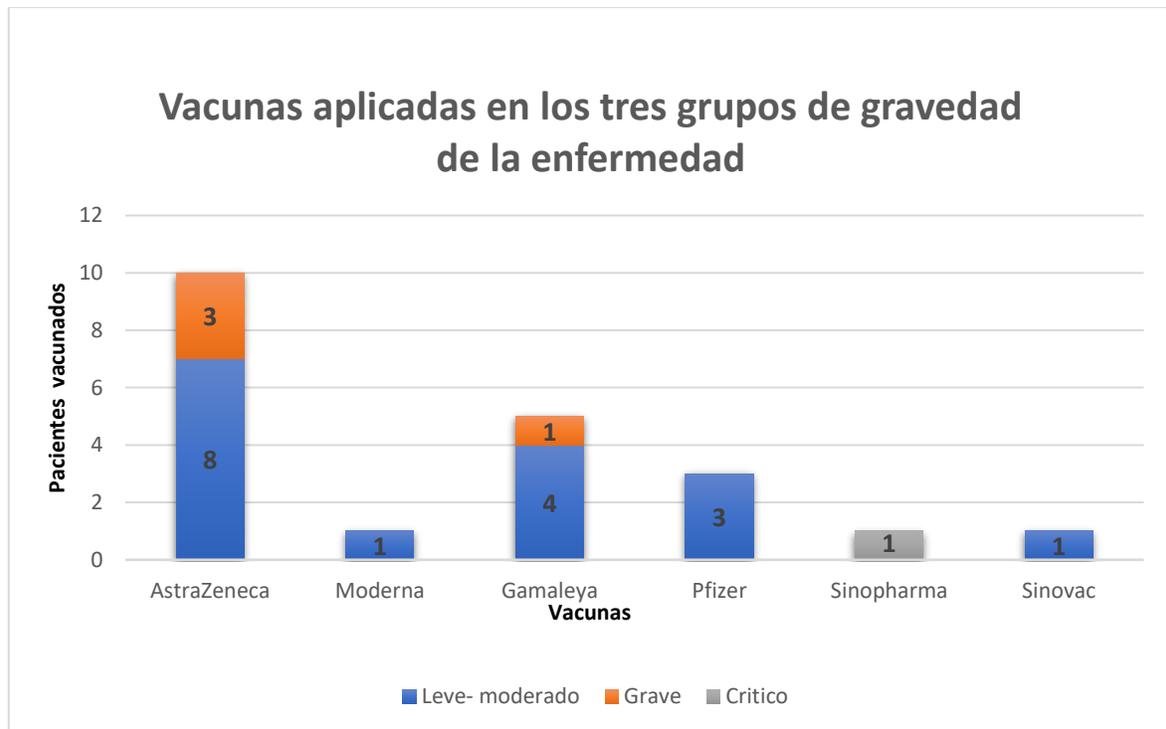


Gráfico 14. Vacunas aplicadas en los tres grupos de gravedad de la enfermedad.

Con respecto a la gravedad de la enfermedad (gráfico 16), el grupo Leve- Moderado cuenta con el mayor espectro de vacunas aplicadas en los pacientes, AstraZeneca cuenta con 7 pacientes, equivalente al 31.81% del total personal vacunado, seguido de Gamaleya con 4 pacientes (18.18%), Pfizer- BioNTech con 3 pacientes (13.63%), Moderna con 1 paciente (4.54%) y Sinovac(4.54%); para el grupo Grave, se encuentra con 3 pacientes (13.63%) para la vacuna AstraZeneca y 1 paciente para la vacuna Gamaleya (4.54%); y para el grupo Crítico, se recopila 1 paciente para la vacuna Sinopharma (4.54%).

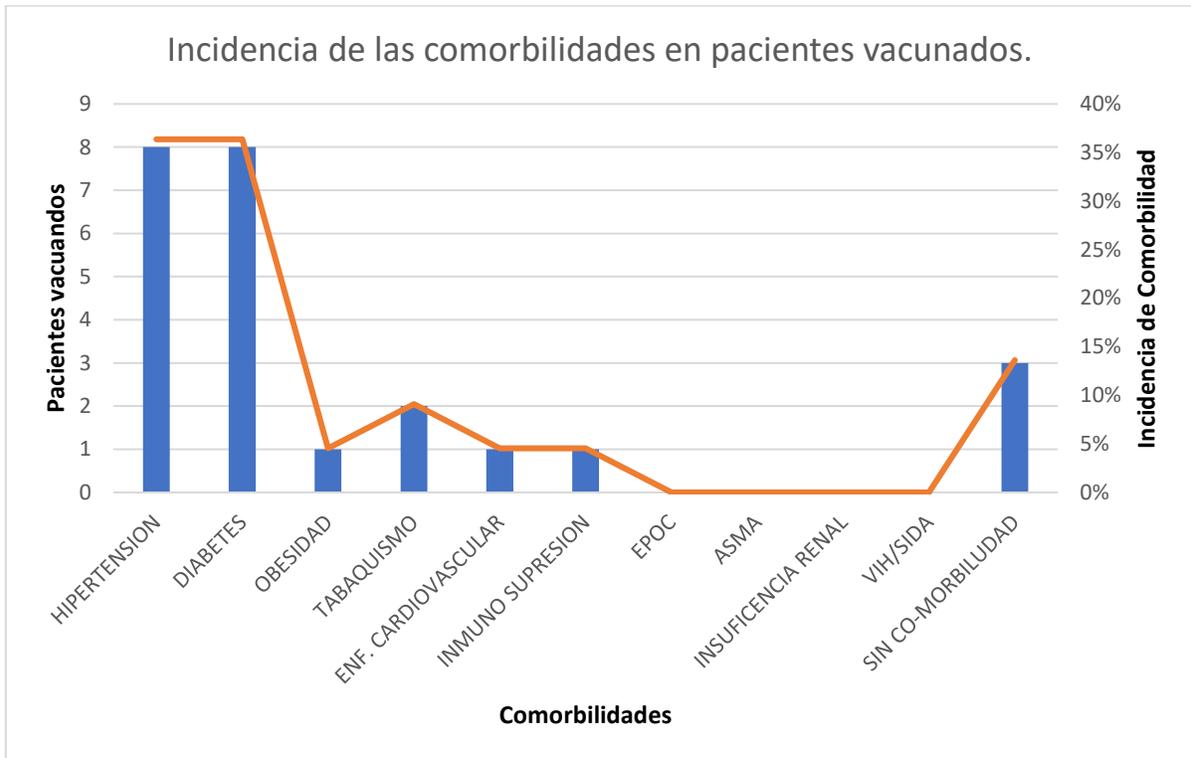


Gráfico 15. Vacunación de pacientes y su incidencia en los diferentes tipos de comorbilidad.

Por otra parte, el estado de comorbilidades en los pacientes con la vacunados (gráfico 17), la Hipertensión y la Obesidad cuentan con igual forma, las frecuencias más predominantes, con 8 pacientes 8/22 (36.36%), respectivamente, dando un 72.72% (16/22) del total de pacientes vacunados, distribuidas en las vacunas AstraZeneca, Gamaleya, Pfizer-BioNTech, Moderna y Sinopharma. El Tabaquismo cuenta con 9.09% (2/22) distribuidos en pacientes con vacuna Gamaleya; Obesidad con 4.54% (1/22) y Enfermedad Cardiovascular con 4.54% (1/22), con vacunas aplicadas, AstraZeneca y Moderna, respectivamente. Cabe de mencionar que, se encuentra 14% (3/22) personas sin ninguna comorbilidad, con vacunas aplicadas AstraZeneca y Sinovac. Azuara *et al* en 2022 muestra que la presencia de comorbilidades, como diabetes, hipertensión arterial, enfermedades cardiacas y respiratorias, se asocia con un incremento en la tasa de mortalidad; en este estudio se observó que las principales comorbilidades fueron diabetes e hipertensión arterial.

Asociación de la vacunación frente a los grupos de Gravedad de la enfermedad mediante pruebas estadísticas Chi-cuadrada (χ^2) y Test Exacto de Fisher.

Para observar si existe una asociación de la vacunación en los diferentes grupos de gravedad, (Tablas 3,4,5) se decidió realizar pruebas **Fisher** para obtener primeramente si existe asociación tomando $p > 0.05$ y χ^2 para observar si hay inferencias significativamente estadísticas si la vacunación influye en los diferentes grupos de gravedad de la enfermedad tomando $p > 0.05$, para cada grupo de gravedad la enfermedad.

Tabla 3. Tabla de Contingencia de **GRUPO LEVE-MODERADO** y pruebas χ^2 & Fisher

VACUNACIÓN	LEVE- MODERADO		Total
	SI	NO	
SIN VACUNA	42	45	87
VACUNA	17	6	23
Total	59	51	110

Pruebas de χ^2 y Fisher

	Valor	gl	P
χ^2	4.81	1	0.028
Test exacto de Fisher			0.035
N	110		

El p valor obtenido de χ^2 es de 0.028 fue significativamente estadístico ($p > 0.05$) al igual que la prueba de Fisher con 0.035 ($p > 0.05$).

Tabla 4. Tabla de Contingencia de **GRUPO GRAVE** y pruebas χ^2 & Fisher

VACUNACIÓN	GRAVE		Total
	SI	NO	
SIN VACUNA	27	60	87
VACUNA	4	19	23
Total	31	79	110

Pruebas de χ^2 & Fisher

	Valor	gl	p
χ^2	1.67	1	0.196
Test exacto de Fisher			0.297
N	110		

Tabla 5. Tabla de Contingencia **GRUPO CRITICO** y pruebas χ^2 & Fisher

VACUNACIÓN	CRITICO		Total
	SI	NO	
SIN VACUNA	18	69	87
VACUNA	2	21	23
Total	20	90	110

Pruebas de χ^2

	Valor	gl	p
χ^2	1.76	1	0.185
Test exacto de Fisher			0.236
N	110		

Tanto para el grupo Grave y el Grupo Critico no fueron significativamente ($p < 0.05$), 0.196 y 0.185 para prueba χ^2 ; asimismo, test exacto de Fisher 0.297 y 0.236, respectivamente para Grupos Grave y Critico. Por lo que nuestros datos estadísticamente no muestran asociación al empeoramiento de la enfermedad de COVID-19. Cabe mencionar que existe diversas fuentes muestran que ampliamente las vacunas parecen ser herramientas seguras y efectivas para prevenir la COVID-19 grave, la hospitalización y la muerte. (Scruzzi *et al*/en 2022). Existe una relación clara entre la vacunación y la gravedad de la enfermedad, aunque los datos arrojaron sin asociaciones significativas para los grupos GRAVE y CRITICO, esto puede deberse a factores; por una parte, nuestro estudio (tabla 6), arrojó datos muy menores sobre el número de individuos vacunados, para los grupos Grave y Critico, por lo que se recomendaría ampliar la muestra poblacional para obtener si es que podría encontrar valores significativos. Por otra parte, las VOC están en constante cambio, plantean resistencia e ineficacia de las vacunas fabricadas, debido alta tasa de mutabilidad en la proteína espiga, donde se origina la evasión a la inmunidad natural e inducida, por lo que es un factor, que ésta íntimamente relacionado al estado de vacunación del individuo, el no estar vacunado implica una desventaja al aumentar la probabilidad de una infección de no estar prevenido ante el SARS-CoV-2. Como se mostraba anteriormente la alta mortalidad de este estudio fue de la población no vacunada lo cual marca una tendencia hacia el empeoramiento fatal de la enfermedad de la COVID-19.

Tabla 6. Distribución de personas vacunadas y no vacunadas en los diferentes grupos de Gravedad de la enfermedad.

		GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD			TOTAL
		LEVE-MODERADO	GRAVE	CRITICO	
VACUNACIÓN	VACUNADOS	17	4	1	22
	NO VACUNADOS	42	27	19	88
	TOTAL	59	31	20	110

Aunque también la población leve- Moderada, tuvo el mayor porcentaje de individuos no vacunados, no tuvo tal letalidad como la del grupo Critico, aquí interviene factores como Edad avanzada, Sexo y la incidencia de afecciones comórbidas (Hipertensión y Diabetes como principales en este estudio), donde el grupo critico posee en su mayor parte todos estos factores que aumentan las probabilidades de morir.

Este estudio aportó evidencia sobre el estado de vacunación para prevenir la enfermedad grave y la muerte debido a la COVID-19, así como tendencias tanto de sexo, edad avanzada y afecciones comórbidas que aumentan las probabilidades de un estado de empeoramiento de la enfermedad por COVID-19. Es necesario continuar con las investigaciones sobre la enfermedad COVID-19 para entender mejor la patogenia y la evolución de las variantes del SARS-CoV-2 que, hasta el momento, como se ha observado, es una enfermedad con un espectro de factores y síntomas muy heterogéneos, lo que hace más complicado dar datos generales sobre esta, ya que se ha visto que actúa de manera muy diferente en cada paciente y su gravedad depende de muchos factores.

9. CONCLUSIONES

Se obtuvo una tendencia en contraer algún tipo de variante de SARS-CoV-2 en los tres grupos de gravedad de la enfermedad referente al sexo, fue predominante el sexo masculino, en el grupo Crítico con un 65%, grupo grave 54.48% y grupo Leve-Moderado 55.93%.

En cuanto a la mortalidad de los pacientes, la variante predominante fue Ómicron, asimismo, los factores con mayores incidencias fueron una alta tendencia de defunción del sexo masculino; el 70% esta referido a presentar 1 comorbilidad o más comorbilidades, la diabetes e hipertensión son las afecciones comórbidas más frecuentes en pacientes fallecidos y con una proporción de 95% sin vacunación.

La edad promedio de cada grupo fue +/- 55 años, por lo que edad avanzada es un factor para considerar en el empeoramiento de la enfermedad de COVID-19.

Las Diabetes e Hipertensión fueron las afecciones comórbidas más presentes en nuestra población estudio, asimismo, además de presentar estas afecciones presentaban otras comorbilidades, lo cual comprometen el empeoramiento del cuadro severo de COVID-19.

No se observa una muestra significativa referente a la asociación de la vacunación en el empeoramiento de la gravedad de la enfermedad en los grupos Grave y Crítico. En el grupo Leve-Moderado, si hay resultados significativos, donde es referido que la vacunación es efectiva en este grupo.

Es necesario aumentar el número de pacientes para futuros estudios, ya que el tamaño de la muestra de este reporte no es representativo a comparación de otros estudios poblacionales que se han presentado a lo largo de la pandemia para encontrar una asociación significativa, los datos encontrados fueron exclusivos de los pacientes de este estudio, por lo que pueden no ser los mismos que otras poblaciones estudiadas.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido. Variantes preocupantes del SARS-CoV-2 y variantes bajo investigación en Inglaterra. (consultado el 14 de julio de 2022). Recuperado de: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1050236/technical-briefing-34-14-january-2022.pdf.
2. Almehdi, A.M., Khoder, G., Alchakee, A. S., Alsayyid, A. T., Sarg, N. H. y Soliman, S. (2021). Proteína espiga del SARS-CoV-2: patogénesis, vacunas y posibles terapias. *Infección*, 49(5), 855–876. <https://doi.org/10.1007/s15010-021-01677-8>.
3. Andrew G. Harrison, Tao Lin, Penghua Wang. (2020) Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis, *Trends in Immunology*. Volume 41, Issue 12. Pages 1100-1115. ISSN 1471-4906. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.10.004>.
4. Andrews N, Tessier E, Stowe J, Gower C, Kirsebom F, Simmons R, Gallagher E, Thelwall S, Groves N, Dabrera G, Myers R, Campbell CNJ, Amirthalingam G, Edmunds M, Zambon M, Brown K, Hopkins S, Chand M, Ladhani SN, Ramsay M, Lopez Bernal J. (2022). Duración de la protección contra enfermedades leves y graves mediante vacunas Covid-19. *N Engl J Med*. 27;386(4):340-350. doi: 10.1056/NEJMoa2115481.
5. Andrews N, Stowe J, Kirsebom F, Toffa S, Rickeard T, Gallagher E, *et al*. Covid-19 vaccine effectiveness against the omicron (B.1.1.529) variant. *N Engl J Med* 2022;386:1532–1546.

6. Atmar RL, Lyke KE, Deming ME, Jackson LA, Branche AR, El Sahly HM, *et al.* Vacunas de refuerzo contra la COVID-19 homólogas y heterólogas. *N Engl J Med* 2022;386:1046–1057.
7. Azuara-Forcelledo H, Nemer-del Campo JA, Pulido-Broca JC, Ordoñez-Rodríguez B, Guzmán-Priego CG, Jiménez-Sastré. (2022). A. Características epidemiológicas y clínicas en pacientes con covid-19 en un hospital general en Tabasco, México. *Aten Fam.*;29(1):9-14. <http://dx.doi.org/10.22201/fm.14058871p.2022.1.81184>.
8. Bedoya-Sommerkamp M, Medina-Ranilla J, Chau-Rodríguez V, Li-Soldevilla R, Vera Albújar Á, García PJ. (2021). Variantes del SARS-CoV-2: epidemiología, fisiopatología y la importancia de las vacunas. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 38(3):442-51.
doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.383.8734>.
9. Boehm E, Kronig I, Neher RA, Eckerle I, Vetter P, Kaiser L. (2021). Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic. *Clin Microbiol Infect.*;27(8):1109-1117. Geneva Centre for Emerging Viral Diseases. doi: 10.1016/j.cmi.2021.05.022. Epub 2021 May 17. PMID: 34015535; PMCID: PMC8127517.
10. Bordi L, *et al.* (2020). Differential diagnosis of disease in patients under investigation for the novel coronavirus (SARS-CoV-2), Italia, febrero de 2020. *Vigilancia del euro*; 25:2000170.
11. Brian D. A., Baric R. S. (2005). Coronavirus genome structure and replication. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 287, 1–30. doi: 10.1007/3-540-26765-4_1.
12. Chen R. E., Zhang X., Caso J.B., Winkler E. S., Liu Y., VanBlargan L. A., *et al.* (2021). Resistencia de las variantes del SARS-CoV-2 a la neutralización

- por anticuerpos policlonales monoclonales y derivados del suero. *Nat. Med.* 27 (4), 717–726. doi: 10.1038/s41591-021-01294-w
13. Choi JY, Smith DM. (2021). SARS-Cov-2 Variants Of Concern. *Yonsei Med J*;62(11):961-968. <https://doi.org/10.3349/Ymj.2021.62.11.961>
14. Crook H, Raza S, Nowell J, Young M, Edison P.(2021). Longcovid mechanisms, risk factors, and management *BMJ*; 374 :n1648 doi:10.1136/bmj.n1648.
15. Dearlove B., Lewitus E., Bai H., Li Y., Reeves D.B., Joyce M. G., et al.. (2020). Un candidato a vacuna contra el SARS-CoV-2 probablemente coincidiría con todas las variantes actualmente en circulación. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117 (38), 23652–23662. doi: 10.1073/pnas.2008281117.
16. Durmaz B, Abdulmajed O, Durmaz R. (2020). Mutaciones observadas en la glicoproteína espiga del SARS-CoV-2 y sus efectos en la interacción del virus con el receptor ACE-2. *Medeni Med J.* ; 35:253–260.
17. Fajardo Lucero , D. P. A., Navarrete Martínez, D. J. A., Marcillo Ypanaqué , D. S. A., & García Arellano , D. A. A. (2022). Variantes del Sars-Cov-2: características genómicas. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 6(1), 1744-1763. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v6i1.1608.
18. Fei Zhou, Ting Yu, Ronghui Du, Guohui Fan, Ying Liu, Zhibo Liu, Jie Xiang, Yeming Wang, Bin Song, Xiaoying Gu, Lulu Guan, Yuan Wei, Hui Li, Xudong Wu, Jiuyang Xu, Shengjin Tu, Yi Zhang, Hua Chen, Bin Cao. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. Volume 395, Issue 10229. Pages 1054-1062. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3).

19. Fernández-Rúa, J. M. (2020). Nuevo mapa genético del SARS-CoV-2. *Biotech Magazine & News*. Recuperado de: <https://biotechmagazineandnews.com/nuevo-mapa-genetico-del-sars-cov2/#:%7E:text=Al%20ser%20un%20virus%20de,picos%2C%20envolturas%2C%20etc>.
20. Fiolet T, Kherabi Y, MacDonald CJ, Ghosn J, Peiffer-Smadja N. (2021). Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern. A narrative review. *Clin Microbiol Infect.*;21:604-2.
. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.g2021.10.005>.
21. Fundación Io. (2020, 19 Noviembre). El Valor Del CT En La PCR De Covid-19. Recuperado De: <https://Fundacionio.Com/El-Valor-Del-Ct-En-La-Pcr-De-Covid-19/>.
22. Gaspar Manuel Parra-Bracamonte, Nicolas Lopez-Villalobos, Francisco E. Parra-Bracamonte. (2020). Clinical characteristics and risk factors for mortality of patients with COVID-19 in a large data set from Mexico. *Annals of Epidemiology*. Volume 52. Pages 93-98.e2. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2020.08.005>.
23. Garcia-Beltran WF, St Denis KJ, Hoelzemer A, Lam EC, Nitido AD, Sheehan ML, et al. (2021) Los refuerzos de la vacuna COVID-19 basados en ARNm inducen inmunidad neutralizante contra la variante omicron del SARS-CoV-2. *Celda*.185:457–466.e4.
24. Giovanelli L, Quinton R. (2021) Androgenicity-not serum testosterone-correlates best with COVID-19 outcome in European males. *EBioMedicine*. 66:103286

25. Gorbalenya, A.E. *et al.* (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. (2020). *Nat. Microbiol.*, 5 pp. 536-544.
26. Guo W, Li M, Dong Y, Zhou H, Zhang Z, Tian C, Qin R, Wang H, Shen Y, Du K, Zhao L, Fan H, Luo S, Hu D. (2020). La diabetes es un factor de riesgo para la progresión y el pronóstico de COVID-19. *Diabetes Metab Res Rev.* e3319. doi: 10.1002/dmrr.3319.
27. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* Mar;19(3):141-154. doi: 10.1038/s41579-020-00459-7.
28. Jara G., *et al.* (2021). Efectividad de una vacuna inactivada contra el SARS-CoV-2 en Chile. *N Engl J Med.* 385: 875-884
29. Jesse O. Wrenn, Suman B. Pakala, Meghan H. Shilts, Cazador M. Brown, Sara M. Bowen, Britton A. Strickland, Timoteo Williams, Simón A. Mallal, Ian D. Jones, Jonathan E. Schmitz, Wesley H. Self, Suman R. Das. (2022). Gravedad de COVID-19 de las variantes de Omicron y Delta SARS-CoV-2. *Wiley Online Library.* Recuperado de: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/irv.12982>.
30. Jonaid Ahmad Malik, Sakeel Ahmed, Mrunal Shinde, Mohammad Hajaj Said Almermesh, Saleh Alghamdi, Arshad Hussain, Sirajudheen Anwar. (2022). The Impact of COVID-19 On Comorbidities: A Review Of Recent Updates For Combating It. *Saudi Journal of Biological Sciences.* Volume 29, Issue 5. Pages 3586-3599. ISSN 1319-562X. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.006>.
31. Jonathan Corum y Carl Zimmer. (2021). Centro Nacional de Información de Biotecnología; *Nature*; Lynda Coughlan, Escuela de Medicina de la Universidad de Maryland.

Recuperado de: <https://www.nytimes.com/es/interactive/2021/health/oxford-astrazeneca-vacuna-covid.html>.

32. Liu, J., Chandrashekar, A., Sellers, D. Et Al. (2022). Las Vacunas Provocan Una Inmunidad Celular Altamente Conservada Al SARS-Cov-2 Omicron. *Naturaleza* 603, 493–496.
Recuperado De: <https://doi-org.Pbidi.Unam.Mx:2443/10.1038/S41586-022-04465-Y>
33. Lu R., et al. (2020). Caracterización genómica y epidemiología del nuevo coronavirus de 2019: implicaciones para los orígenes del virus y la unión a los receptores *Lancet*, 395 , pp. 565-574.
34. Marín-Sánchez A. (2020). Características clínicas básicas en los primeros 100 casos fatales de COVID-19 en Colombia. *Rev Panam Salud Publica*. Jul 31;44:e87. Spanish. doi: 10.26633/RPSP.2020.87
35. Mollica V, Rizzo A, Massari F. (2019) El papel fundamental de TMPRSS2 en la enfermedad por coronavirus y el cáncer de próstata. *Fut Oncol*. 2020; 16:2029–2033. doi: 10.2217/fo-2020-0571.
36. Mistry Priyal, Barmania Fatima, Mellet Juanita, Peta Kimberly, Strydom Adéle, Viljoen Ignatius M., James William, Gordon Siamon, Pepper Michael S. (2022). SARS-CoV-2 Variants, Vaccines, and Host Immunit. *Frontiers in Immunology*. 12. Doi: 10.3389/fimmu.2021.809244. Recuperado de: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.809244>.
37. Naqvi A. A. T., Fatima K., Mohammad T., Fatima U., Singh I. K., Singh A., et al. (2020). Información sobre el genoma, la estructura, la evolución, la patogénesis y las terapias del SARS-CoV-2: enfoque de genómica estructural. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Base Dis*. 1866, 165878. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165878

38. Otter, J.A., *et al.* (2016). Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. *J. Hosp. Infect.*, 92 pp. 235-250.
39. Patalon T., Gazit S., Pitzer V.E., Prunas O., Warren J.L., Weinberger D.M. (2021). Short term reduction in the odds of testing positive for SARS-CoV-2; a comparison between two doses and three doses of the BNT162b2 vaccine. medRxiv.
40. Perlman, S. Netland J. (2009). Coronavirus post-SARS: actualización sobre replicación y patogénesis. *Nature. Rev. Microbiol.*, 7. págs. 439-450.
41. Salinas-Aguirre, J.E., Sánchez-García, C., Rodríguez-Sánchez, R., Rodríguez-Muñoz, L., Díaz-Castaño, A., Bernal-Gómez, R. (2022). Características clínicas y comorbilidades asociadas a mortalidad en pacientes con COVID-19 en Coahuila (México). *Revista Clínica Española*. Volume 222, Issue 5. Pages 288-292. ISSN 0014-2565, <https://doi.org/10.1016/j.rce.2020.12.006>
42. Sanyaolu, C. Okorie, A. Marinkovic, R. Patidar, K. Younis, P. Desai, Z. Hosen, I. Padda, J. Mangat, M. Altafa. (2020). Comorbilidad y su impacto en pacientes con COVID-19. *Med.* págs. 1069-1076, DOI: 10.1007/s42399-020-00363-4.
43. Scruzzi GF, Aballay LR, Carreño P, Díaz Rousseau GA, Franchini CG, Cecchetto E, *et al.* (2022). Vacunación contra SARS-CoV-2 y su relación con enfermedad y muerte por COVID-19 en Argentina. *Rev Panam Salud Publica.*;46:e39. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.39>
44. Sheikh A, Mcmenamin J, Taylor B, Robertson C. (2021) Public Health Scotland And The EAVE II Collaborators SARS-Cov-2 Delta VOC In Scotland: Demographics, Risk Of Hospital Admission, And Vaccine Effectiveness. *Lanceta*. 397:2461–2462.

45. Sheikh Aziz, Steven Kerr, Mark Woolhouse, Jim McMenamin, Chris Robertson, Colin Richard Simpson, Tristan Millington, Ting Shi, Utkarsh Agrawal, Safraj Shahul Hameed, Elliott Hall, Igor Rudan, Syed Ahmar Shah, Lewis Ritchie, Sarah Stock, Colin McCowan. (2022). Severity of omicron variant of concern and effectiveness of vaccine boosters against symptomatic disease in Scotland (EAVE II): a national cohort study with nested test-negative design *The Lancet Infectious Diseases*. Volume 22, Issue 7. Pages 959-966. ISSN 1473-3099. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(22\)00141-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(22)00141-4).
46. Sohn YJ, Shin PJ, Oh WS, Kim E, Kim Y, Kim YK. (2022). Características clínicas de los pacientes que contrajeron la variante Omicron del SARS-CoV-2 a partir de un brote en un solo hospital. *Yonsei Med J.* ;63(8):790-793. <https://doi.org/10.3349/ymj.2022.63.8.790>
47. Sosa García, J. (2020). Atención de pacientes con COVID-19 en el consultorio médico. *Revista CONAMED*, 25(S1), 4–14. <https://doi.org/10.35366/97343>.
48. Ssentongo P, Ssentongo AE, Voleti N, Groff D, Sun A, Ba DM, et al. SARS-CoV-2 vaccine effectiveness against infection, symptomatic and severe COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis* 2022;22:439.
49. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. (2020). Biología y replicación del coronavirus: implicaciones para el SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021 Marzo;19(3):155-170. doi: 10.1038/s41579-020-00468-6. PMID: 33116300; PMCID: PMC7592455.
50. Wolff J.A., Malone R.W., Williams P., Chong W., Acsadi G., Jani A., et al. 1990. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science*. 247: 1465-1468.

51. Wolter Nicole, Waasila Jassat, Sibongile Walaza, Richard Welch, Harry Moultrie, Michelle Groome, Daniel Gyamfi Amoako, Josie Everatt, Jinal N Bhiman, Cathrine Scheepers, Naume Tebeila, Nicola Chiwandire, Mignon du Plessis, Nevashan Govender, Arshad Ismail, Allison Glass, Koleka Mlisana, Wendy Stevens, Florette K Treurnicht, Zinhle Makatini, Nei-yuan Hsiao, Raveen Parboosing, Jeannette Wadula, Hannah Hussey, Mary-Ann Davies, Andrew Boulle, Anne von Gottberg, Cheryl Cohen. (2022). Early assessment of the clinical severity of the SARS-CoV-2 omicron variant in South Africa: a data linkage study. *The Lancet*. Volume 399, Issue 10323. Pages 437-446. ISSN 0140-6736. Recuperado de: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00017-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00017-4).
52. World Health Organization. WHO. (2022).
53. World Health Organization. (2021). COVID-19 clinical management: living guidance.. Recuperado de: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/338882>.
54. Xianyong Wu, Qiming Chen, Junhai Li, Zhanmin Liu,. (2022). Diagnostic techniques for COVID-19: A mini-review, *Journal of Virological Methods*, Volume 301. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114437>.
55. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020; 382(8):727-33. DOI: 10.1056/NEJMoa2001017