

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

**Programa de Maestría en Ciencias Biomédicas**

**Biomarcadores Inmunoserológicos en pacientes positivos por SARS-CoV-2 en**

**Panamá**

**AUTORA:**

*Licda. Laiss D. Mudarra Moreno*

**DIRECTOR:**

*Alcibiades Villarreal D. T.M, Ph.D.*

**CONSULTORA:**

*Giselle Rangel T. DMV, MSc, Ph.D.*

Trabajo de Graduación para optar por el Grado Académico de Maestría en Ciencias  
Biomédicas.

Panamá, 23 de Mayo de 2023

## **HOJA DE APROBACIÓN**

**DEDICATORIA**

“Metiendo David su mano en la bolsa, tomó de allí una piedra, y la tiró con honda, e hirió al filisteo en la frente; y la piedra quedó clavada en la frente, y cayó sobre su rostro en tierra. Así venció David al filisteo con honda y piedra; hirió al filisteo y lo mató, sin tener David espada en su mano”.

Samuel 17, 49-50

En homenaje de las personas que han batallado contra el COVID-19 ustedes y la comunidad científica, juntos somos el David que venció al Goliat.

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias Señor por la sabiduría que nos infundes para alimentar esa curiosidad de la investigación científica.

INDICASAT, SENACYT, CSS y Universidad de Panamá, gracias por creer y apoyar la investigación.

Griselda, Alcibiades y Giselle son mis ejemplos a seguir tanto como científicos, maestros, amigos; gracias infinitas.

Y tú, que estuviste conmigo, gracias.

## ÍNDICE

Hoja de aprobación.....	3
Dedicatoria .....	4
AGRADECIMIENTO.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS .....	11
ABREVIATURAS UTILIZADAS .....	12
RESUMEN.....	15
INTRODUCCIÓN .....	17
FUNDAMENTOS TEÓRICOS .....	18
1.1. Antecedentes.....	18
1.2. Agente etiológico.....	20
1.3. Síntomas y patogenia de la enfermedad COVID-19 .....	23
1.4. Biomarcadores para la identificación oportuna de formas graves de COVID-19	27
Metodología .....	32
2.1. Tipo de Estudio.....	32
2.2. Población del estudio y distribución de los participantes:.....	32
2.3. Criterios de inclusión y exclusión: .....	33
2.3.1. Criterios de Inclusión:.....	33
2.3.2. Criterios de Exclusión:.....	33
2.4. Consideraciones éticas.....	33
2.4.1. Consentimiento informado.....	34
2.4.2. Riesgos y beneficios para los participantes.....	34

2.4.3.	Confidencialidad .....	35
2.5.	Estrategia de reclutamiento.....	35
2.6.	Localización y periodo de realización del estudio.....	35
2.7.	Tamaño de Muestra .....	36
2.8.	Recopilación de datos .....	36
2.9.	Recolección y procesamiento de muestras biológicas.....	36
2.10.	Pruebas de laboratorio realizadas .....	37
2.10.1.	Inmunoensayo de partículas de látex para la determinación de proteína C reactiva	37
2.10.1.1.	Descripción general.....	37
2.10.1.2.	Principio de la prueba de partículas de látex.....	38
2.10.1.3.	Equipo .....	38
2.10.1.4.	Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos ....	39
2.10.1.5.	Procedimiento de la técnica.....	39
2.10.1.6.	Control de Calidad .....	39
2.10.1.7.	Interpretación de resultados .....	40
2.10.2.	Fotometría cinética para la determinación de Lactato deshidrogenasa.....	41
2.10.2.1.	Descripción general.....	41
2.10.2.2.	Principio de la prueba de Fotometría cinética.....	41
2.10.2.3.	Equipo .....	42
2.10.2.4.	Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos ....	42
2.10.2.5.	Procedimiento de la técnica.....	42
2.10.2.6.	Control de Calidad .....	42

2.10.2.7.	Interpretación de resultados .....	43
2.10.3.	Quimioluminiscencia .....	43
2.10.3.1.	Descripción general.....	43
2.10.3.2.	Principio de la prueba IL-6.....	43
2.10.3.2.1.	Equipo.....	44
2.10.3.2.2.	Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos.	44
2.10.3.2.3.	Procedimiento de la técnica.....	44
2.10.3.2.4.	Control de Calidad.....	45
2.10.3.2.5.	Interpretación de resultados.....	45
2.10.3.3.	Principio de la prueba PCT .....	45
2.10.3.3.1.	Equipo.....	45
2.10.3.3.2.	Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos.	46
2.10.3.3.3.	Procedimiento de la técnica.....	46
2.10.3.3.4.	Control de Calidad.....	46
2.10.3.3.5.	Interpretación de resultados.....	47
2.10.3.4.	Principio de la prueba Ferritina.....	47
2.10.3.4.1.	Equipo.....	47
2.10.3.4.2.	Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos.	47
2.10.3.4.3.	Procedimiento de la técnica.....	48
2.10.3.4.4.	Control de Calidad.....	48
2.10.3.4.5.	Interpretación de resultados.....	49
2.10.4.	Análisis de Biometría Hemática .....	49
2.10.4.1.	Descripción general.....	49

2.10.4.2.	Principio de la prueba.....	49
2.10.4.3.	Equipo .....	50
2.10.4.4.	Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos. ...	50
2.10.4.5.	Procedimiento de la técnica.....	50
2.10.4.6.	Control de Calidad .....	50
2.10.4.7.	Interpretación de resultados .....	51
2.11.	Análisis estadístico .....	51
	RESULTADOS .....	52
3.3.	Características demográficas y clínicas de los pacientes COVID-19.....	52
3.4.	Hallazgos de laboratorio de la biometría hemática de los pacientes COVID-19	
	55	
3.5.	Hallazgos de laboratorio de los niveles de proteínas séricas en la cohorte COVID-19 vs controles.....	64
3.6.	Determinación del valor pronóstico de los biomarcadores séricos en pacientes con COVID-19 .....	68
3.7.	Correlación entre los biomarcadores séricos y variables socio-demográficas y clínicas	77
	DISCUSIÓN.....	79
	CONCLUSIONES .....	85
	RECOMENDACIONES .....	86
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
	ANEXOS.....	97

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de la Severidad de la Enfermedad COVID-19 según signos y síntomas .....	24
Tabla 2 Variantes de SARS-CoV-2 según Severidad de la enfermedad .....	26
Tabla 3 Factores de riesgo que predisponen a sufrir formas graves de la enfermedad COVID-19.....	27
Tabla 4 Principales biomarcadores serológicos elevados y disminuidos durante la evolución del COVID-19.....	29
Tabla 5 Cuadro para la interpretación del resultado obtenido para PCT.....	47
Tabla 6. Características socio-demográficas y clínicas de la población de estudio.....	53
Tabla 7 Resultados de la biometría hemática obtenidos de la población de estudio .....	57
Tabla 8 Resultados de la biometría hemática obtenidos de la población de estudio .....	65
Tabla 9 Valor pronóstico de los biomarcadores séricos en pacientes COVID-19.....	72
Tabla 10 Coeficiente de correlación entre las variables de estudio en pacientes COVID-19 positivos .....	77

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1 Mapamundi de Casos de COVID-19. 765,903,278 casos Confirmados al 10/05/2023. ....	19
Figura 2 Datos sobre COVID-19 en Panamá 10 de mayo de 2023. ....	20
Figura 3 Estructura del Coronavirus. Principales componentes estructurales de la partícula del SARS-CoV-2: ARN viral y proteínas estructurales (S, E, M, N).....	22
Figura 4 Representación gráfica de las principales diferencias de los grupos de estudio. ....	54
Figura 5 Representación gráfica de las manifestaciones clínicas reportadas por los pacientes COVID-19.....	55
Figura 6 Representación gráfica de la biometría hemática entre los grupos de estudio..	62
Figura 7 Representación gráfica de los niveles de proteínas séricas entre los grupos de estudio. ....	67
Figura 8 Representación gráfica de análisis de curva ROC de los biomarcadores séricos estudiados.....	71
Figura 9 Mapa de calor de la correlación entre las variables de estudio. ....	78

**ABREVIATURAS UTILIZADAS**

% GRA	Porcentaje de granulocitos
% LYM	Porcentaje de linfocitos
% MON	Porcentaje de monocitos
ACE2	Enzima convertidora de angiotensina 2
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico monocatenario mensajero
AUC	Área bajo la curva (del inglés, Area under the Curve)
BSA	Albúmina de suero bovino
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
CIOMS	Consejo de Organización Internacionales de las Ciencias Médicas
CLIA	Quimioluminiscencia (del inglés, Chemiluminescence immunoassay)
COVID-19	Enfermedad por Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (del inglés, Coronavirus disease 2019)
ELFA	Enzimo inmuno ensayo tipo sandwich con detección final por inmunofluorescencia (del inglés, enzyme-linked fluorescence assay)
ELISA	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (del inglés, enzyme-linked immunosorbent assay)
HBV	Virus de la hepatitis B
HCM	Hemoglobina corpuscular media
HCoV	Coronavirus que afecta humanos
HCT	Hematocrito
HE	Hemaglutinina esterasa
HGB	Hemoglobina
HIV	Virus de la inmunodeficiencia humana
HTLV 1 Y 2	Virus linfotrópico de células T humanas 1 y 2
ICH	Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Productos Farmacéuticos de Uso Humano

IFN- $\gamma$	Interferón gamma (del inglés Human Interferon- $\gamma$ )
IL-1	Interleucina 1
IL-18	Interleucina 18
IL-6	Interleucina 6
LDH	Lactato amino deshidrogenasa
LYM	Linfocitos
MERS	Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (del inglés, Middle East respiratory syndrome)
MERS-CoV	Coronavirus del Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (del inglés, Middle East respiratory syndrome coronavirus)
MON	Monocitos
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducido
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Probabilidad de ocurrencia (Del inglés Odds ratio)
PCR	Proteína C reactiva
PCT	Procalcitonina
Proteína E	Proteína viral de envoltura
Proteína M	Proteína viral de membrana
Proteína N	Proteína viral de la nucleocápside
Proteína S	Proteína viral de la espícula (del inglés, Spike protein)
qRT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (del inglés, Real-Time Quantitative Reverse Transcription PCR)
RBC	Glóbulos rojos (del inglés, Red Blood Cells)
RDW	Ancho de distribución de glóbulos rojos (del inglés, Red Cell Distribution Width)
RLU	Unidades relativas de luz (del inglés, Relative Light Units)
ROC	Característica Operativa del Receptor (del inglés, Receiver Operating Characteristic)
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (del

	inglés, Reverse transcription polymerase chain reaction)
SARS-CoV-2	Coronavirus de tipo 2 causante del Síndrome respiratorio agudo severo (del inglés, Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)
SDRA	Síndrome de distrés respiratorio agudo
SENACYT	Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación
SpO2	Saturación de oxígeno
ssRNA	Ácido ribonucleico monocatenario
TMPRSS2	Serina proteasa celular de transmembrana 2
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
TRIS	Tris(hidroximetil) aminometano
UCI	Unidad de cuidados intensivos
VCM	Volumen corpuscular medio
VES	Velocidad de sedimentación globular
VHA	Virus de la hepatitis A
VOC	Variantes virales emergentes de preocupación (del inglés, Variant of Concern)
VOI	Variantes virales emergentes de interés (del inglés Variant of Interest)

## RESUMEN

Los biomarcadores son indicadores biológicos medibles de la presencia, gravedad o tipo de enfermedad en entornos médicos (L. Zhang & Guo, 2020). En casos de COVID-19 severos los factores de riesgo identificados incluyen la presencia de comorbilidades, edad avanzada y sexo masculino (Gandhi et al., 2020). Asimismo, el aumento y disminución de una serie de biomarcadores pueden orientar hacia la estratificación de la gravedad y el pronóstico (Wu & McGoogan, 2020).

Nos propusimos identificar y caracterizar biomarcadores serológicos para COVID-19 en panameños. El estudio caso-control contempló a 272 participantes reclutados durante abril-diciembre de 2020 (Villarreal et al., 2021), incluyendo 108 casos positivos hospitalizados, confirmados por RT-PCR y 164 controles donantes de sangre, negativos por pruebas de anticuerpos. Las muestras de suero fueron analizadas mediante inmunoensayo de partículas de látex, Inmunoturbidimetría, Quimioluminiscencia e enzimo-inmunoensayo tipo sándwich con detección final por fluorescencia. Las características de la población de muestra fueron: 182 (66.91%) hombres y 90 (33.09%) mujeres ( $P= 0.0654$ ). La edad promedio fue de  $44.75 \pm 11.37$  años, siendo el grupo de participantes COVID-19 positivo significativamente con mayor edad y presentando una mayor frecuencia de al menos una enfermedad crónica, con respecto al grupo de participantes control ( $P= >0.0001$ ). Tomando en consideración los valores de referencia y comparando con el grupo control, los pacientes COVID-19 evidenciaron alteraciones significativas como: eritrocitopenia, anemia, disminución del hematocrito ,

trombocitopenia, monocitosis, disminución del porcentaje de linfocitos ( $P = < 0.0001$ ), leucopenia y granulopenia ( $P = 0.0005$ ), linfopenia ( $P = 0.0023$ ), aumento en el porcentaje de monocitos ( $P = 0.0009$ ), disminución en el volumen corpuscular medio ( $P = 0.0488$ ), aumento del RDW ( $P = 0.0044$ ), ferritina, proteína C reactiva (PCR), lactato amino deshidrogenasa (LDH) ( $P = < 0.0001$ ), interleucina 6 (IL-6) y procalcitonina (PCT) ( $P = 0.0093$  y  $0.0422$ , respectivamente). Mediante análisis de curva ROC se determinó el valor óptimo y el valor predictivo de los biomarcadores, resultando que personas con valores elevados de ferritina, IL-6, PCR, LDH y PCT tienen mayor probabilidad de desarrollar casos moderados-severos por COVID-19.

Palabras claves: SARS-CoV-2, biomarcadores, COVID-19, pronóstico.

## INTRODUCCIÓN

En Panamá, desde inicios de la pandemia por COVID-19 en marzo de 2020, diversos grupos de investigación han fusionado esfuerzos para responder y sobrellevar distintos aspectos de esta situación de emergencia. La presente tesis de maestría forma parte de las actividades planteadas para el proyecto: “Evaluación de pruebas de inmuno diagnóstico y biomarcadores para COVID-19 en Panamá”, el cual resultó beneficiado por la Convocatoria pública de investigación + desarrollo + innovación de respuesta rápida al COVID-19, financiado por SENACYT. Nuestro grupo de investigación ya ha realizado exitosamente la primera fase del proyecto, que consistía en la evaluación del desempeño de pruebas serológicas para la detección de anticuerpos IgM e IgG frente a SARS-CoV-2. Con dicha herramienta, pudimos estimar un porcentaje de seropositividad (para abril-julio 2020) de alrededor 11% en grupos de trabajadores de salud de hospitales públicos y privados de Panamá (Villarreal et al., 2021). En una segunda fase, evaluamos potenciales biomarcadores con valor predictivo para determinar la severidad de la enfermedad COVID-19 utilizando muestras de una cohorte de pacientes y donantes de sangre reclutados en el complejo hospitalario Dr. Arnulfo Arias Madrid.

## FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1. Antecedentes

La enfermedad por coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (COVID-19) es una enfermedad de origen zoonótico, que surgió por primera vez en Wuhan, China, en diciembre de 2019 (Guan et al., 2020). Los coronavirus presentan un alto riesgo de ocasionar pandemias. El coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) es el noveno coronavirus reportado que infecta humanos y el séptimo identificado en los últimos 20 años (Lednicky et al., 2021). Los nuevos coronavirus parecen surgir periódicamente en los seres humanos, principalmente debido a la alta prevalencia, amplia distribución de los coronavirus, gran diversidad genética, frecuente recombinación de sus genomas y el aumento de las actividades de interacción entre humanos y animales (Cui et al., 2019).

La pandemia por COVID-19 ha conllevado a diversas repercusiones de salud pública, no solo causando problemas de salud física, sino que también ha provocado una serie de trastornos psicológicos (Necho et al., 2021) como la ansiedad y la depresión (Luo et al., 2020) trastorno del sueño (Jahrami et al., 2021) y un sinnúmero de consecuencias socio económicas (Mishra et al., 2020).

El 30 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró que la enfermedad COVID-19 es una “emergencia de salud pública de interés internacional”, y se adoptaron intervenciones para mitigar su propagación como: distanciamiento social,

cuarentenas, restricciones de movilidad y de viajes, aumento de pruebas y aumento de números de camas de hospital y en la unidad de cuidados intensivos (UCI) (OMS, n.d.).

Actualmente, para el 10 de mayo del 2023 se registra a nivel mundial una incidencia por COVID-19 de 765,903,278 casos (Figura 1.1). Entre los países más afectados destacan Estados Unidos, China, India, Francia, Alemania, Brasil, Japón, República de Corea, Italia y Reino Unido.

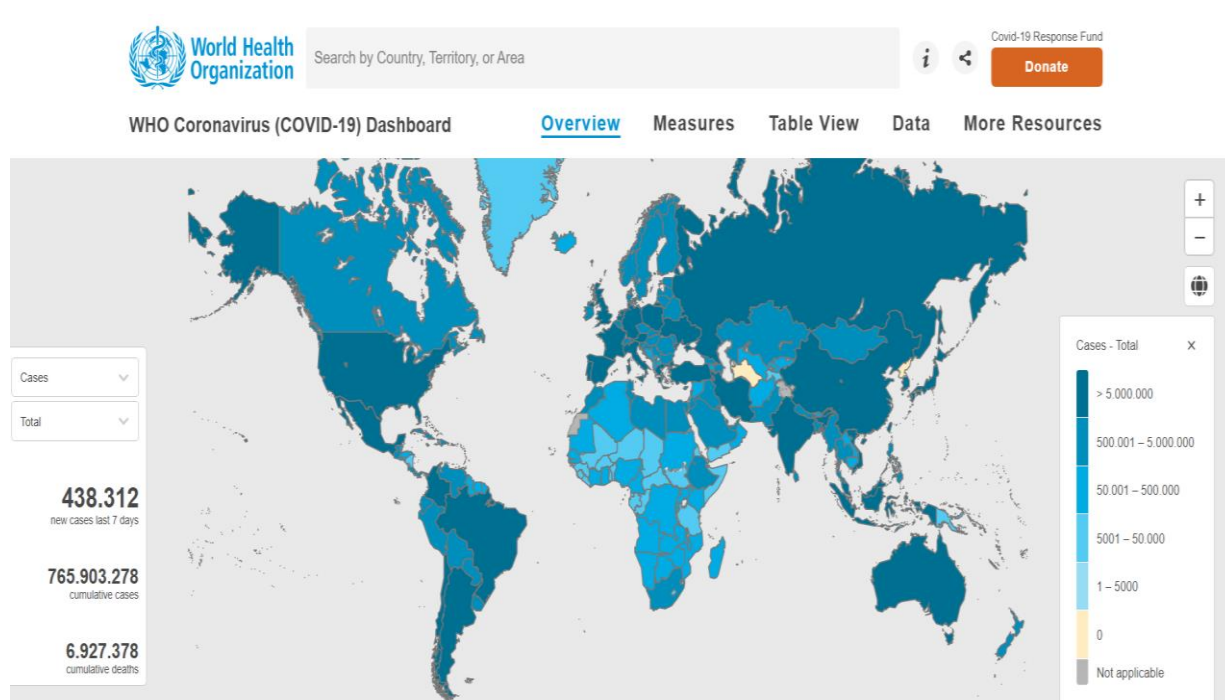


Figura 1 Mapamundi de Casos de COVID-19. 765,903,278 casos Confirmados al 10 de mayo del 2023.

FUENTE: <https://covid19.who.int/>.

En Panamá se registra una incidencia por COVID-19 de 1.037.324 casos confirmados, presentados en la Figura 2

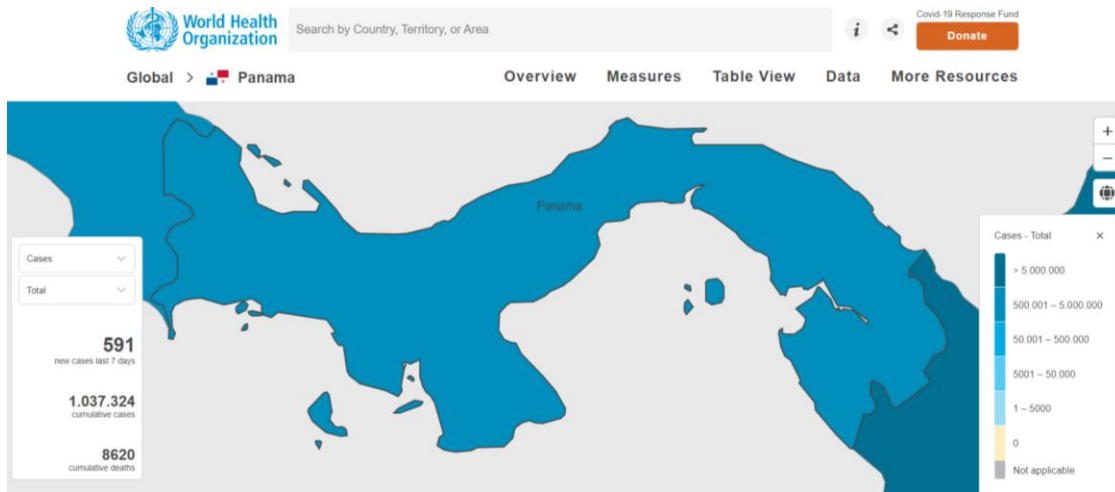


Figura 2 Datos sobre COVID-19 en Panamá 10 de mayo de 2023.  
FUENTE: <https://covid19.who.int/region/amro/country/pa>

La Organización Mundial de la Salud acogió la recomendación del Comité de Emergencia de declarar el fin de la emergencia de salud pública de emergencia internacional por la COVID-19 el 5 de mayo del 2023. Implica que es el momento que los países pasen del modo de emergencia al manejo y control de la COVID-19 con otras enfermedades infecciosas. La COVID-19 no ha terminado. El riesgo continúa. Por esa razón, los países, ni sus sistemas de salud, al igual que sus poblaciones, pueden bajar la guardia.(Paho.org, 2023)

## 1.2. Agente etiológico

El agente causal de esta enfermedad se ha definido como coronavirus del síndrome respiratorio agudo 2 (SARS-CoV-2), el cual es miembro de un grupo de

coronavirus altamente patógeno que afecta a los humanos (HCoV) con repercusiones importantes en la salud pública.

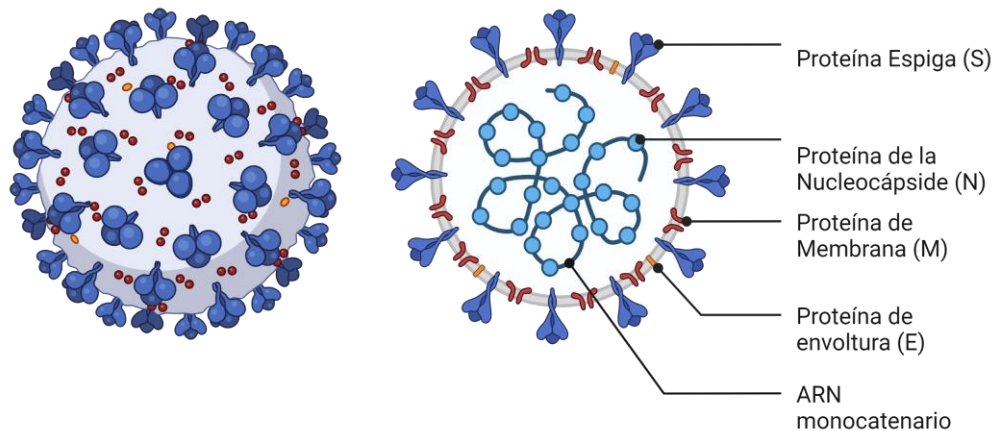
En las dos últimas décadas se han producido tres grandes brotes internacionales de coronavirus que han causado preocupación sanitaria mundial. A finales del 2002 el SARS-CoV nombrado así por los síntomas asociados al síndrome respiratorio agudo severo (SARS); en el 2012-2013 surgió el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) cuyo agente causal se denominó síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) y en diciembre del 2019 el SARS-CoV-2, que causó la enfermedad COVID-19 (Guarner, 2020).

Los coronavirus pertenecen a la subfamilia *orthocoronavirinae* de la familia *Coronaviridae* y al orden Nidovirales. La subfamilia *Coronavirinae* se clasifica en cuatro grupos: alfacoronavirus, beta coronavirus, gammacoronavirus y delta coronavirus, de los cuales los gamma y delta suelen infectar a las aves y posiblemente a los mamíferos (Woo et al., 2012). Los alfa y los beta infectan mamíferos y son capaces de causar enfermedades a los humanos (Cui et al., 2019). Existen siete cepas de coronavirus humanos y entre ellas se encuentran el HCoV-229E, el HCoV-OC43, el HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV Y SARS-CoV-2 (Kin et al., 2015).

El SARS-CoV-2 es un virus del género beta coronavirus (Renu et al., 2020). Con genoma de Ácido ribonucleico (ARN) monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva, con una envoltura de bicapa lipídica. Las proteínas estructurales que lo componen son: la proteína de espiga o espícula (S), que es la proteína más expuesta en la superficie del virus, la proteína de envoltura (E) que facilita el ensamblaje y liberación del virus, la proteína de la membrana (M) la cual es una proteína estructural más abundante en el

virión que le da su forma y la proteína de la nucleocápside (N) necesaria para el empaquetamiento del ARN viral en la partícula viral durante el ensamblaje viral y la hemaglutinina esterasa (HE) que actúa como hemaglutinina uniéndose a los ácidos siálicos en las glucoproteínas de superficie (Figura 1.3). De estas cinco proteínas, las de mayor importancia son la proteína N que conforma la cápside y estructura viral y la proteína S que interactúa en la unión del virus a las células huésped (Hokello et al., 2020)(Jaime & Gabriela, 2020).

### Estructura del SARS-CoV-2



**Figura 3** Estructura del Coronavirus.  
Principales componentes estructurales de la partícula del SARS-CoV-2: ARN viral y proteínas estructurales (S, E, M, N).  
Creado en BioRender.com.

El ciclo viral del coronavirus inicia en las células huésped; La proteína S del virus, se une al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) en las células diana del huésped. Este receptor se expresa en varios órganos del cuerpo,

principalmente en pulmones, riñones e intestino. Una vez que el virus ingresa a la célula huésped, se libera el ARN genómico de sentido positivo, que es utilizado como plantilla durante el proceso de replicación. Se transcribe el ARN mensajero (ARNm) que se traducen en proteínas virales. La proteína N se une al genoma y la proteína M se asocia con las membranas del retículo endoplásmico. Posteriormente el ARNm y las proteínas de la nucleocápside se combinan para formar los viriones que se transportan hacia la membrana plasmática ensamblándose las partículas virales para liberarse e infectar nuevas células (Oliva Marin, 2020).

### 1.3. Síntomas y patogenia de la enfermedad COVID-19

Los síntomas y signos de COVID-19 en su mayoría son de tipo respiratorio, que incluyen: fiebre, fatiga, tos seca, dolor de garganta, cefalea, mialgia o artralgia, escalofríos, náuseas o vómitos, congestión nasal, diarrea, hemoptisis, congestión conjuntival, disnea, producción de esputo, pérdida temporal de los sentidos del gusto y olfato. La presentación de la enfermedad en la mayoría de las personas (80% de los casos) es de tipo asintomática o con el desarrollo de síntomas leves o moderados. En la enfermedad leve, los síntomas pueden ser fiebre, tos seca, cambios en el sentido del gusto y olfato, sin disnea. En la enfermedad moderada, se presentan evidencias clínicas o radiográficas, saturación de oxígeno < 94%, con o sin dificultad para respirar. En la enfermedad severa (14% de los casos), con una saturación de oxígeno < 94%, frecuencia respiratoria, > 30 respiraciones por minuto, > 50% de infiltrado pulmonar y en la enfermedad crítica (5% de los casos), con falla respiratoria, síndrome del distrés respiratorio Agudo (SDRA), sepsis y shock séptico, tromboembolismo y/o falla

multiorgánica, incluyendo lesión renal aguda y falla cardíaca (National Institutes of Health, 2021) o disfunción multiorgánica, esta última que en muchos casos desencadena en el fallecimiento del paciente (W. Zhang et al., 2020). Ver Tabla 1 acerca de severidad de la enfermedad en conjunto con signos y síntomas.

Tabla 1 Clasificación de la Severidad de la Enfermedad COVID-19 según signos y síntomas

<b>Severidad de la Enfermedad</b>	<b>Signos y síntomas</b>
Asintomática o infección pre sintomática	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prueba positiva para SARS-CoV-2.</li> <li>• Síntomas no consistentes con COVID-19.</li> </ul>
Leve	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Signos y síntomas de COVID-19 (fiebre, tos, dolor de garganta, malestar, dolor de cabeza, dolor muscular, vómitos, diarrea, anosmia, ageusia)</li> <li>• Sin dificultad para respirar, disnea o imágenes de tórax anormales.</li> </ul>
Moderada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Evidencia de alteración de las vías respiratorias inferiores durante la evaluación clínica o la obtención de imágenes.</li> <li>• Saturación de oxígeno (SpO<sub>2</sub>) ≥94 %.</li> </ul>
Severa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Saturación de oxígeno (SpO<sub>2</sub>) ≤94 %.</li> <li>• Relación entre la presión arterial parcial de oxígeno y la fracción de oxígeno inspirado (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) &lt;300 mmHg.</li> <li>• Frecuencia respiratoria &gt;30 respiraciones/min, o infiltrado pulmonar &gt;50%.</li> </ul>
Crítica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Falla respiratoria, shock séptico, y /o disfunción de múltiples órganos.</li> </ul>

Información extraída de (Zawilska et al., 2021).

La OMS en conjunto con expertos, instituciones e investigadores ejecutan la vigilancia y evaluación de la evolución del SARS-CoV-2 desde enero del 2020, categorizando a las variantes emergentes del virus, en variantes de interés (VOI) y variantes preocupantes (VOC), priorizando el seguimiento y la investigación a escala mundial para orientar la respuesta a la pandemia de COVID-19. Las características fenotípicas tales como: trasmisibilidad, gravedad de la enfermedad, riesgo de reinfección e impactos en el diagnóstico y la eficacia de la vacuna son actualizadas semanalmente (OMS, 2022).

Han surgido variaciones genéticas del SARS-CoV-2, vinculadas a una mayor transmisión, evasión inmunológica y severidad de la enfermedad que se describen en la Tabla 2.

**Tabla 2 Variantes de SARS-CoV-2 según Severidad de la enfermedad**

<b>Nomenclatura de la OMS</b>	<b>País de origen</b>	<b>Severidad de la enfermedad</b>	<b>Referencia</b>
Alfa	Reino Unido	Mayor riesgo de enfermedad severa en hombres que en mujeres.	(Li et al., 2020)
Beta	Sudáfrica	Grave, crítica	(Tegally et al., 2021)
Gamma	Japón/Brasil	Severa	(Lin et al., 2021)
Delta	India	Crítica	(Lin et al., 2021)
Épsilon	Estados Unidos	Moderada	(Yang et al., 2021)
Eta	Múltiples países	Moderada	(Li et al., 2020) (Vaidyanathan, 2021)
Iota	Estados Unidos	Moderada	(Celik et al., 2021)
Kappa	India	Moderada	(Li et al., 2020) (Vaidyanathan, 2021)
Lambda	Perú	Moderada	(Celik et al., 2021)
Mu	Colombia	Desconocida	(Laiton-Donato et al., 2021)
Ómicron	África	Moderada	(Hageman & Alkureishi, 2022)
Theta	Filipinas	Moderada	(Tao et al., 2021) (Celik et al., 2021)
Información extraída de (Islam & Iqbal, 2020)(Flores-Vega et al., 2022).			

La severidad de la enfermedad por COVID-19 va a depender también de factores genéticos tales como polimorfismos en los genes de la ACE2 y la serina proteasa celular de transmembrana 2 (TMPRSS2), y de factores no genéticos de relevancia biomédica como la presencia de comorbilidades, tales como: enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedad respiratoria crónica, obesidad, anemia falciforme, enfermedad crónica del riñón, hipertensión, inmunosupresión y cáncer. En la Tabla 3 se

consolidan los factores de riesgo más frecuentes que predisponen a sufrir formas graves de la enfermedad.

**Tabla 3** Factores de riesgo que predisponen a sufrir formas graves de la enfermedad COVID-19.

<b>Factor de Riesgo</b>	<b>Referencia</b>
Tener una edad avanzada ( $\geq 60$ años de edad)	(Wu & McGoogan, 2020)
Género masculino	(Gandhi et al., 2020)
Hipertensión	(Sharma et al., 2022)
Enfermedad cardiovascular	(Sharma et al., 2022)
Diabetes	(Sharma et al., 2022)
Enfermedad respiratoria crónica	(Wu & McGoogan, 2020) (Gandhi et al., 2020)
Obesidad	(Wu & McGoogan, 2020) (Gandhi et al., 2020)
Enfermedad renal crónica	(Wu & McGoogan, 2020) (Gandhi et al., 2020)

#### 1.4. Biomarcadores para la identificación oportuna de formas graves de COVID-19

Hasta el momento, se han identificado una serie de marcadores séricos que pueden orientar hacia la estratificación de la gravedad y el pronóstico de COVID-19. Hallazgos asociados con una peor presentación de la enfermedad incluyen incremento de: ferritina, PCR, IL-6, PCT, LDH y marcadores hematológicos tales como niveles glóbulos blancos disminuidos (Villa Palacio & López Henao, 2020), disminución de conteo de linfocitos (linfopenia) y disminución del conteo plaquetario (Zhou et al., 2020). Se ha reportado, que los niveles séricos de PCR, PCT, dímero D y ferritina aumentan notablemente en los casos críticos de COVID-19 en comparación con los severos (Zhou

et al., 2020). Se piensa que el aumento de los niveles de PCR, PCT y ferritina podría correlacionarse con una infección bacteriana secundaria, lo que aumenta un mal pronóstico clínico (Zhou et al., 2020). Además, la cinética de la respuesta inflamatoria circulante, como la IL-6, puede resultar fundamental como biomarcador predictivo y tomar decisiones para tratamiento inmunomodulador oportuno (Zhu et al., 2020), puesto que el aumento de los niveles de IL-6 se correlaciona con mayores tasas de mortalidad (Gómez et al., 2020).

Diversos estudios evidencian que los niveles PCR, PCT, IL-6, velocidad de sedimentación globular (VES), proteína amiloide A sérica y ferritina sérica fueron significativamente más altos en los pacientes graves en comparación con los casos no graves (WHO & Aylward, Bruce (WHO); Liang, 2020). Además, los valores altos de PCT parecen depender de la gravedad de la COVID-19, aproximadamente los niveles de PCT son cuatro veces mayor en casos severos y ocho veces mayor en casos críticos en comparación con los casos moderados; pueden estar asociados a la coinfección bacteriana y puede contribuir a determinar la gravedad de la COVID-19 (Hu et al., 2020). En la tabla 4 se resumen los biomarcadores elevados y disminuidos para la estratificación de la gravedad y pronóstico del COVID-19.

Tabla 4 Principales biomarcadores serológicos elevados y disminuidos durante la evolución del COVID-19.

<b>Parámetro</b>	<b>Rango de referencia</b>	<b>Que se reporta en COVID-19</b>	<b>Referencia</b>
Ferritina	30-400 (ng/ml)	Elevado	(L. Zhang & Guo, 2020) (Villa Palacio & López Henao, 2020)
IL-6	<7.0 (pg/ml)	Elevado	(L. Zhang & Guo, 2020) (Miguel-Bayarri et al., 2012)
LDH	140-271 (U /L)	Elevado	(Henry et al., 2020)
PCR	<5.0 (mg/L)	Elevado	(L. Zhang & Guo, 2020)
PCT	0.02-0.05 (ng/ml)	Elevado	(L. Zhang & Guo, 2020)
Glóbulos Rojos	3.8-5.9 (10 <sup>6</sup> / $\mu$ l)	Disminuído	(Kazancioglu et al., 2020)
Hemoglobina	12-18 (g /dl)	Disminuído	(Udayar et al., 2022)
Linfocitos	1.0-4.8 (10 <sup>3</sup> / $\mu$ l) 17-48 (%)	Disminuído	(Villa Palacio & López Henao, 2020)
Monocitos	0.1-1.2 (10 <sup>3</sup> / $\mu$ l) 3-10 (%)	Elevado	(Mao et al., 2021)
Hematocrito	35-53 (%)	Disminuído	(Kazancioglu et al., 2020)

La ferritina es una proteína intracelular cuya propiedad principal es el almacenamiento de hierro y es un mediador clave de la desregulación inmunológica, especialmente cuando ocurre hiperferritinemia extrema, ocasionando efectos inmunosupresores y pro inflamatorios directos, que contribuyen a la tormenta de citoquinas (Vargas-vargas & Cortés-rojo, 2020).

La proteína C reactiva (PCR) es una proteína plasmática circulante, cuya concentración aumenta rápida y extensamente en una respuesta mediada por citocinas a la lesión tisular, la infección y la inflamación (Thompson et al., 1999).

La Procalcitonina (PCT) es el precursor de la hormona calcitonina y se produce en respuesta a las infecciones bacterianas sistémicas, sepsis y cuando existe daño tisular (Neuman & Buchmeier, 2020).

La LDH es una enzima intracelular que se encuentra en las células de la mayoría de los órganos, la cual cataliza la conversión de piruvato a lactato, con interconversión concomitante de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>) (Hsu & Sabatini, 2008).

Estudios indican que el rápido deterioro clínico y alto riesgo de mortalidad asociado al COVID-19 severo puede estar relacionado a la tormenta de citoquinas, que se describe como una hiperinflamación sistémica descontrolada causada por la liberación de grandes cantidades de citoquinas proinflamatorias como la interleucina 1 (IL-1), IL-6, interleucina 18 (IL-18), interferón gama (IFN- $\gamma$ ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (Ye et al., 2020). La IL-6 es una citoquina pleiotrópica que media la transición de la fase aguda a la crónica de los procesos infecciosos (Tanaka & Kishimoto, 2012) y su nivel en pacientes críticos es aproximadamente un orden de magnitud mayor que en pacientes con COVID-19 leve (X. Chen et al., 2020).

Las manifestaciones de la infección por SARS-CoV-2 se presentan principalmente a nivel del tracto respiratorio; sin embargo, pueden involucrar otros sistemas como el hematopoyético. En vasos sanguíneos pulmonares la deposición de plaquetas evidenciada en la trombocitopenia es un importante característica del SARS y

de valor pronóstico en pacientes con COVID-19 (Y. Liu et al., 2020). Los leucocitos pueden estar disminuidos con valores totales a menores de  $< 2 \times 10^9 /L$  en casos severos. La linfopenia se presenta de forma moderada o severa con valores absolutos de  $0,5-1 \times 10^9/L$  y  $< 0,5 \times 10^9/L$ , respectivamente, y se asocia con un riesgo mayor de desarrollar SDRA al igual que una probabilidad mayor de gravedad e ingreso a unidad de cuidados intensivo

## **METODOLOGÍA**

### 2.1. Tipo de Estudio

Transversal con muestreo por conveniencia.

### 2.2. Población del estudio y distribución de los participantes:

Las muestras de suero y datos de este estudio provienen del proyecto de investigación: Evaluación de pruebas de inmuno diagnóstico y biomarcadores para la enfermedad COVID-19 en Panamá. Para el universo de estudio en este trabajo, se consideraron muestras y datos de personas expuestas y no expuestas al coronavirus SARS-CoV-2. Todos los sujetos que participaron en el estudio cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión que se describen en el siguiente apartado.

Para esta tesis, los participantes se definieron y distribuyeron de la siguiente manera:

Grupo 1: Sujetos con diagnóstico por COVID-19 positivos y confirmados por la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) hospitalizados en el complejo hospitalario Dr. Arnulfo Arias Madrid de la Caja de Seguro Social. Se excluyeron pacientes en unidades de cuidados intensivos y sala de semi intensivo según criterios de exclusión.

Grupo 2: Sujetos controles, participantes negativos a COVID-19 confirmados por pruebas serológicas. Fue una muestra de población sana, tomada en el mismo periodo de tiempo mediante el uso de muestras de donantes de sangre, captados de manera voluntaria en los hospitales participantes en el estudio. Los donantes aprobaron la

evaluación de salud para donación y negativos en sus exámenes de laboratorios por otras infecciones (Chagas, HIV, HBV, HAgAV, HTLV1 y 2, entre otros).

### 2.3. Criterios de inclusión y exclusión:

#### 2.3.1. Criterios de Inclusión:

- Tener disponibilidad para completar las actividades del estudio.
- Haber otorgado un consentimiento informado.
- Personas de  $\geq 18$  años de ambos sexos.

#### 2.3.2. Criterios de Exclusión:

- Contraindicación para la punción venosa.
- Pacientes en Unidad de Cuidados intensivos y Semi intensivo.

### 2.4. Consideraciones éticas

El protocolo de estudio fue diseñado e implementado de acuerdo con la Guía Tripartita Armonizada para las Buenas Prácticas Clínicas del Consejo Internacional para la Armonización de los Requisitos Técnicos de los Productos Farmacéuticos de Uso Humano (ICH), siguiendo las regulaciones locales vigentes y de acuerdo con los principios éticos establecidos en la declaración de Helsinki, versión 2013. Además, se utilizaron las Pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2016.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité Nacional de Bioética de la Investigación de Panamá (Ref. EC-CNBI-2020-04-43). Todos los participantes dieron su consentimiento informado y no se violó la confidencialidad del participante.

#### 2.4.1. Consentimiento informado

El propósito de la investigación fue explicado a todas las personas identificadas para el reclutamiento en la investigación. El consentimiento informado de todas las personas que aceptaron participar en la investigación fue obtenido antes de que un miembro capacitado del equipo de investigación realizara cualquier procedimiento como parte de la investigación. Cada participante fue informado de que la participación en la investigación era voluntaria y que él / ella era libre de retirarse, sin justificación de la investigación en cualquier momento sin consecuencias y sin afectar las responsabilidades profesionales.

#### 2.4.2. Riesgos y beneficios para los participantes

Esta investigación presentó un riesgo mínimo para los sujetos participantes, que implicó la recolección de una pequeña cantidad de sangre. El principal beneficio del estudio para los participantes fue indirecto, ya que los datos recopilados ayudarán a mejorar el reconocimiento temprano de pacientes COVID-19 propensos a desarrollar formas graves de la enfermedad.

### 2.4.3. Confidencialidad

Se mantiene la confidencialidad de los participantes durante toda la investigación. Todos los sujetos que participaron recibieron un número de identificación del estudio por parte del equipo de investigación para la codificación de cuestionarios y muestras. El enlace de este número de identificación con las personas es mantenido por el equipo de investigación.

### 2.5. Estrategia de reclutamiento

Los participantes donantes de sangre, se les invitó a participar al estudio por el personal de salud del banco de sangre de los hospitales participantes.

Los participantes positivos fueron captados en las salas COVID-19 de los nosocomios participantes, donde fueron invitados a participar al estudio por parte de reclutadores autorizados para ingresar a las dependencias.

### 2.6. Localización y periodo de realización del estudio

Los participantes fueron reclutados de los hospitales Dr. Arnulfo Arias Madrid en la ciudad de Panamá y del Hospital Dr. Manuel Amador Guerrero de la ciudad de Colón. El periodo del muestreo se ejecutó entre los meses de abril a diciembre de 2020, meses en los cuales se reportaron 35,237 casos positivos acumulados y 920 hospitalizados (Francisco, 2020). La mayoría de los linajes asociados con casos importados detectados

fueron A.1, A.3,B,B.1y B2.1 sin embargo también el linaje A.2.1/19B fue introducido en el país  $\geq 3$  semanas antes del primer caso detectado (Franco et al., 2021).

## 2.7. Tamaño de Muestra

Teniendo en cuenta que las muestras proceden de un proyecto madre. Se utilizaron para esta tesis de maestría las muestras de 100 participantes COVID-19 positivos (confirmados por qRT-PCR) y 227 participantes COVID-19 negativos (confirmados por pruebas serológicas). Por lo que para esta tesis el tamaño de la muestra total fue de 327 participantes.

## 2.8. Recopilación de datos

Se utilizó un formulario de captación de datos para recabar la información demográfica tales como: edad, sexo, profesión, entre otros. Además, se registró información sobre síntomas y estado de salud relacionado a COVID-19 y de exposición al SARS-CoV-2 de los participantes. (Ver en la sección de anexos).

## 2.9. Recolección y procesamiento de muestras biológicas

A los participantes se les extrajo una muestra de sangre periférica por venopunción, en tubos con y sin anticoagulante. Todas las muestras recolectadas fueron tomadas por tecnólogos médicos idóneos, respetando las medidas de bioseguridad necesarias y utilizando equipos de protección personal (guantes, batas desechables,

mascarillas y lentes). Se etiquetaron las muestras con la siguiente información: código del sujeto y fecha. Las muestras fueron transportadas en neveras con pads fríos al laboratorio de estudio (INDICASAT-AIP), donde fueron centrifugadas (Centrífuga 5810R, Eppendorf) para la obtención del suero y plasma, para luego ser dividida en alícuotas de aproximadamente 1 ml en crioviales y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  (Panasonic MDF-U33V-PA) hasta el momento de análisis. Las muestras fueron inactivadas en incubador a baño maría (Thermo Scientific) durante 60 min a  $56^{\circ}\text{C}$  previo a la realización de los ensayos de laboratorio para determinar los biomarcadores.

El personal de investigación involucrado en la recolección y transporte de muestras recibió capacitación en prácticas de manejo seguro y procedimientos de descontaminación de derrames.

## 2.10. Pruebas de laboratorio realizadas

Las metodologías que se utilizaron para la detección de biomarcadores inmunológicos se incluyen: inmunoensayo de partículas de látex, fotometría cinética, Inmunoturbidimetría, Quimioluminiscencia (CLIA) e enzimo inmunoensayo tipo sándwich con detección final por fluorescencia (ELFA).

### 2.10.1. Inmunoensayo de partículas de látex para la determinación de proteína C reactiva

#### 2.10.1.1. Descripción general

Inmunoanálisis de látex se utilizó para determinar las concentraciones de proteína C reactiva en sangre con muestras de suero. El protocolo se ejecutó siguiendo las

instrucciones del fabricante. La aglutinación tuvo lugar cuando se produjo la reacción antígeno-anticuerpo entre la PCR de la muestra y el anticuerpo anti-PCR, absorbido por las partículas de látex. Esta aglutinación se detecta como un cambio de absorbancia (572nm), con una tasa de cambio proporcional a la cantidad de PCR en la muestra. (Coulter, n.d.)

#### 2.10.1.2. Principio de la prueba de partículas de látex

El reactivo PCR se utiliza para medir la concentración de proteína C reactiva mediante un método turbidimétrico. En la reacción, la proteína C reactiva se combina con un anticuerpo específico para formar complejos antígeno-anticuerpo insolubles. Los complejos inmunes formados en solución dispersan la luz en proporción a su tamaño, forma y concentración. Los turbidímetros miden la reducción de la luz incidente debido a la reflexión, absorción o dispersión. En este procedimiento, la medida de la tasa de disminución de la intensidad de la luz transmitida (aumento de la absorbancia) a través de partículas suspendidas en solución es el resultado de los complejos formados durante la reacción antígeno-anticuerpo.

Esquema de la reacción química



#### 2.10.1.3. Equipo

Analizador de Química AU5800 Beckman Coulter (Coulter, n.d.)

#### 2.10.1.4. Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos

Reactivo de Proteína C Reactiva: listo para uso, no requiere preparación. Contenido: Tampón Tris (pH 7,5) 80 mmol/L, Cloruro de sodio 125 mmol/L, Polietilenglicol 6000 1,5 %, Anticuerpos anti-PCR de cabra  $\approx$  0,6 g/L. También contiene conservantes. Almacenamiento y estabilidad: Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta cuando se almacenan entre 2 y 8 °C. Las botellas de reactivo abiertas son estables durante 90 días cuando se almacenan en el compartimento refrigerado del analizador.

#### 2.10.1.5. Procedimiento de la técnica

El equipo de química sanguínea Beckman coulter utiliza un sistema completamente automatizado que dosifica los volúmenes de muestra y reactivo adecuados por cubeta, en una relación de una parte de muestra por 26 partes de reactivo. El sistema monitorea el cambio de absorbancia a 340 nanómetros. Este cambio en la absorbancia es proporcional a la concentración de proteína C reactiva en la muestra y el sistema lo utiliza para calcular y expresar la concentración de proteína C reactiva en función de una curva de calibración predeterminada ajustada de un solo punto (Beckman Coulter, 2020).

#### 2.10.1.6. Control de Calidad

Se utilizó un calibrador múltiple de cinco puntos de proteína sérica cuya calibración es estable por 90 días. El control de calidad durante el funcionamiento del analizador Beckman Coulter AU, se deben analizar al menos dos niveles de un material de control de inmunología adecuado una vez al día como mínimo. La calibración se

realizó al utilizar un lote nuevo de reactivo y después de los pasos específicos de mantenimiento o solución de problemas descritos en la Guía del usuario correspondiente. Las pruebas de control de calidad se realizaron acuerdo con los requisitos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

#### 2.10.1.7. Interpretación de resultados

Los resultados fueron impresos automáticamente para cada muestra en mg/L a 37°C. El reactivo de proteína C reactiva es lineal de 5 a 300 mg/L usando). Las muestras que excedieron el límite superior de linealidad se diluyeron y repitieron y el resultado fue multiplicado por el factor de dilución automáticamente utilizando AUTO REPEAT RUN. Las muestras con concentraciones muy altas de PCR (> 750 mg/dL) pueden generar resultados bajos falsos sin las alarmas apropiadas debido al exceso de antígeno en la muestra. Nota: Las muestras de pacientes con un metabolismo de lipoproteínas anormal, como los que se observan en la colecistitis o la enfermedad hepática obstructiva, pueden dar resultados de PCR artificialmente elevados. Estas muestras se caracterizan por tener valores de Colesterol extremadamente elevados (>387 mg/dL) y Bilirrubina elevados. Dichas muestras deben diluirse 1 parte de muestra en 4 partes de agua desionizada antes del análisis y el resultado multiplicado por 5. Valores esperados Adultos:  $6 < 5$  mg/L Los valores esperados pueden variar según la edad, el sexo, la dieta y la ubicación geográfica. Cada laboratorio debe determinar sus propios valores esperados según lo dictan las buenas prácticas de laboratorio.

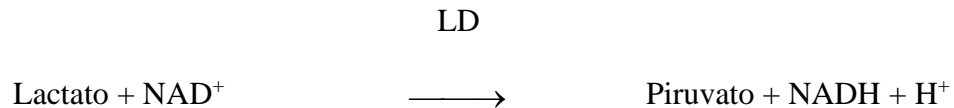
## 2.10.2. Fotometría cinética para la determinación de Lactato deshidrogenasa

### 2.10.2.1. Descripción general

Determinación cuantitativa de la actividad de lactato deshidrogenasa en suero humano en analizadores Beckman Coulter AU.

### 2.10.2.2. Principio de la prueba de Fotometría cinética

El procedimiento para determinar LDH utiliza una modificación del método de Wacker y col (Wacker et al., 1956)(Amador et al., 1963). La LDH cataliza la reducción del piruvato por el NADH. La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio determinado fotométricamente es proporcional a la concentración catalítica de LDH en la muestra. El lactato y el Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD) se convierten en piruvato y Nicotinamida Adenina Dinucleótido reducido (NADH) catalizado por Lactato deshidrogenasa (LD). NADH absorbe fuertemente la luz a 340 nm, mientras que el NAD no. La velocidad del cambio de la absorbancia a 340 nm es proporcional a la actividad de Lactato deshidrogenasa en la muestra (Poggiali et al., 2020).



#### 2.10.2.3. Equipo

Analizador de Química AU5800 Beckman Coulter (Coulter, n.d.).

#### 2.10.2.4. Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos

Reactivo de LDH listo para su uso. Concentración final de ingredientes reactivos: Tampón AMP, pH 8.9 (37°C) 230 mmol/l, Lactato 70 mmol/l, NAD<sup>+</sup> 10 mmol/l. También contiene conservantes. Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta cuando se almacenan entre 2 y 8 °C. Los reactivos abiertos son estables durante 30 días cuando se almacenan en el compartimento refrigerado del analizador. Los reactivos abiertos son estables durante 14 días cuando se almacenan en el compartimento refrigerado del analizador AU5800.

#### 2.10.2.5. Procedimiento de la técnica

El protocolo se ejecutó siguiendo las instrucciones del fabricante realizado por el analizador de forma automatizada.

#### 2.10.2.6. Control de Calidad

La calibración de este procedimiento de lactato deshidrogenasa en el AU5800 se basa en la determinación experimental de la absorptividad molar a 340/660nm. Se realizaron dos niveles de un material de control de calidad apropiado una vez al día como mínimo. Las pruebas de control de calidad se realizaron de acuerdo con los requisitos reglamentarios y el procedimiento estándar de cada laboratorio.

#### 2.10.2.7. Interpretación de resultados

Los resultados se imprimieron para cada muestra en U/L a 37°C. Los valores esperados en adultos son de 140-271 U/L. Los valores esperados pueden variar debido a la edad, sexo, alimentación y ubicación geográfica. Cada laboratorio debe determinar sus propios valores de referencia como lo indican las buenas prácticas de laboratorio. Una cantidad mínima de hemólisis causa un incremento significativo en la LD debido a los altos niveles de esta enzima en los glóbulos rojos. El procedimiento de la LD es lineal desde 25ª 1200 U/L. Las muestras que excedieron el límite superior de la linealidad fueron diluidas, repetidas y el resultado fue multiplicado por el factor de dilución utilizando la opción de AUTO REPEAT RUN.

#### 2.10.3. Quimioluminiscencia

##### 2.10.3.1. Descripción general

El ensayo Access IL-6 es una prueba de diagnóstico in vitro para la medición cuantitativa de IL-6 en suero y plasma humanos (heparina).

El ensayo Access IL-6 es un inmunoensayo quimioluminiscente de partículas paramagnéticas y está diseñado para su uso en analizadores de inmunoensayo Access.

##### 2.10.3.2. Principio de la prueba IL-6

La Quimioluminiscencia (CLIA) se define como la emisión de radiación electromagnética (normalmente en la región del visible o del infrarrojo cercano) producida por una reacción química. Como la intensidad de emisión es función de la

concentración de las especies químicas implicadas en la reacción quimioluminiscente, las medidas de la intensidad de emisión pueden emplearse con fines analíticos.(García-Campana, 2001).

#### 2.10.3.2.1. Equipo

Unicel DxI 800, Beckman Coulter

#### 2.10.3.2.2. Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos

Reactivo de IL-6 listo para su uso. Partículas paramagnéticas recubiertas con un anticuerpo monoclonal IL-6 anti-humano de ratón, albúmina de suero bovino (BSA), surfactante, < 0,1 % de azida sódica, 0,17 % de ProClin 300 (preservante para diagnóstico *in vitro*) y Tris(hidroximetil)aminometano (TRIS). Tampón salino TRIS, proteínas (porcina, caprina, bovina, de ratón), surfactante, < 0,1% de azida sódica y 0,17% de ProClin 300. Conjugado de fosfatasa alcalina (bovina) anti-IL-6 humana de cabra, BSA, surfactante, < 0,1 % de azida sódica y 0,17 % de ProClin 300.

Se requirieron calibradores, controles de calidad, diluyente y sustrato.

#### 2.10.3.2.3. Procedimiento de la técnica

Mezclar el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el instrumento. Se utilizó ciento diez (110)  $\mu$ l de muestra del paciente para cada determinación, además del contenedor de muestras y los volúmenes muertos del sistema. La unidad de medida predeterminada del sistema para los resultados de las muestras es pg/mL.

#### 2.10.3.2.4. Control de Calidad

Los materiales de control de calidad simulan las características de las muestras de pacientes y son esenciales para monitorear el desempeño del sistema de los ensayos inmunoquímicos. Se incluyen dos niveles de analito. Cada laboratorio debe establecer valores medios y rangos aceptables para asegurar un desempeño adecuado. Los resultados de control de calidad que no se encuentran dentro de los rangos aceptables pueden indicar resultados de prueba no válidos.

#### 2.10.3.2.5. Interpretación de resultados

El software del sistema determinó automáticamente los resultados de las pruebas del paciente utilizando un modelo matemático de curva logística ponderada de cuatro parámetros. La cantidad de analito en la muestra se determinó a partir de la producción de luz medida por medio de los datos de calibración almacenados. (Miguel-Bayarri et al., 2012).

#### 2.10.3.3. Principio de la prueba PCT

El ensayo de PCT es un inmunoensayo de dos pasos para la determinación cuantitativa de PCT en suero y plasma humanos, utilizando CLIA (Clinical Chemistry - Abbott Laboratories, 2017).

##### 2.10.3.3.1. Equipo

ARCHITECT-ABBOT

#### 2.10.3.3.2. Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos

Se utilizaron micropartículas recubiertas con Anti -PCT de ratón, en TRIS con albúmina bovina, estabilizadores, inmunoglobulina G (IgG) de rata, y tritón X-405. El conjugado utilizado fue un Anti PCT de ratón marcado con acridinio conjugado en tampón fosfato con estabilizador de proteína (bovina) y Tritón X-405. Concentración mínima: 270 ng/mL. Conservantes: ProClin 950 y azida sódica. Solución preactivadora ARCHITECT que contiene Peróxido de hidrógeno al 1,32 % (p/v). Solución activadora ARCHITECT que contiene 0,35 N hidróxido de sodio. Tampón de lavado ARCHITECT que contiene tampón de fosfato solución salina.

#### 2.10.3.3.3. Procedimiento de la técnica

Se combinan micropartículas paramagnéticas recubiertas de muestra y anti-PCT. El PCT presente en la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anti-PCT. Después del lavado, se agrega conjugado anti-PCT marcado con acridinio para crear una mezcla de reacción. Después de otro ciclo de lavado, se agregan a la mezcla de reacción las soluciones de activación previa y activación. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades relativas de luz (RLU). Existe una relación directa entre la cantidad de PCT en la muestra y las RLU detectadas por la óptica ARCHITECT iSystem.

#### 2.10.3.3.4. Control de Calidad

Se realizó curva de calibración con los calibradores A-F por duplicado. Se analizó una sola muestra de cada nivel de control para evaluar la calibración del ensayo. Se aseguró que los valores de control del ensayo estén dentro de los rangos especificados en

el prospecto del paquete de control respectivo. Cada laboratorio debe establecer rangos de control para monitorear el desempeño aceptable del ensayo.

#### 2.10.3.3.5. Interpretación de resultados

El ensayo Architech BRAHMS PCT utiliza un método de cálculo de datos de ajuste a una curva logística de cuatro parámetros (4PLC, ponderado) para generar la curva de calibración.

**Tabla 5** Cuadro para la interpretación del resultado obtenido para PCT

<b>Concentración de PCT (ng/ml o µg/l)</b>	<b>Interpretación</b>
< 0.1	Indica la ausencia de una infección bacteriana.
0.1 a < 0.25	Es poco probable que haya una infección bacteriana.
0.25 a < 0.5	Es posible que haya una infección bacteriana
≥ 0.5	Se sugiere la presencia de una infección bacteriana

#### 2.10.3.4. Principio de la prueba Ferritina

El ensayo de Ferritina es un inmunoensayo de quimioluminiscencia de partículas paramagnéticas para la determinación cuantitativa de los niveles de ferritina en suero y plasma (heparina) humanos (Systems, 2020).

##### 2.10.3.4.1. Equipo

Unicel DxI 800, Beckman Coulter

##### 2.10.3.4.2. Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos

Reactivo de Ferritina listo para su uso almacenado a una temperatura de 2 a 10 °C. El reactivo está compuesto por partículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo

monoclonal antiferritina de ratón suspendidas en solución salina tampón TRIS, con surfactante, seroalbúmina bovina (BSA), azida sódica al < 0,1 % y ProClin\* 300 al 0,1 % y Conjugado de antiferritina de cabra-fosfatasa alcalina (bovina) en solución salina tampón TRIS, con surfactante, BSA, proteína (cabra, murina), azida sódica al < 0,1 % y ProClin 300 al 0,1 %. También se utilizan diluyentes, sustrato y solución tamponada de lavado.

#### 2.10.3.4.3. Procedimiento de la técnica

Se utilizaron diez (10)  $\mu\text{L}$  de muestra para cada determinación, además del volumen de muerto del recipiente para la muestra; y sesenta y seis (66)  $\mu\text{L}$  de muestra además de los volúmenes de tara del sistema y del envase para cada determinación con el dispositivo de dilución incorporada del sistema DxI. La unidad de medida predeterminada de los resultados de las muestras es ng/mL. Para las muestras que contienen < 1500 ng/mL ( $\mu\text{g/L}$ ) de ferritina se realiza una dilución con cuatro volúmenes del Access Ferritin Calibrator S0 (cero), Access Sample Diluent A, o Access Wash Buffer II. El factor de predilución es 5.

#### 2.10.3.4.4. Control de Calidad

Se realiza una curva de calibración de 5 puntos cuya estabilidad en el analizador es de 28 días. Los materiales de control de calidad simulan las características de las muestras de los pacientes y son esenciales para controlar el rendimiento del sistema de ensayos inmunoquímicos; deben incluirse materiales de control de calidad en cada período de 24 horas que abarcaron dos niveles de concentración de compuesto. Cada

laboratorio establece los valores medios y los rangos aceptables para garantizar resultados correctos.

#### 2.10.3.4.5. Interpretación de resultados

Los resultados de las pruebas de los pacientes fueron determinados automáticamente por el software del sistema utilizando un modelo matemático de curva logística compensada de cuatro parámetros (4PLC). La cantidad de analito en la muestra se determinó a partir de la producción de luz medida mediante los datos de calibración almacenados. Los Valores de referencia son 23.9 ng/ml a 336.2 ng/ml (Yu et al., 2021).

#### 2.10.4. Análisis de Biometría Hemática

##### 2.10.4.1. Descripción general

El MYTHIC 18 es un analizador de hematología automatizado para uso diagnóstico *in vitro* en laboratorios clínicos por personal autorizado.

##### 2.10.4.2. Principio de la prueba

El conteo de los elementos celulares en una muestra de sangre se realiza con la técnica de impedanciometría. Esta técnica se basa en la modificación de la impedancia de una apertura calibrada empapada en un electrolito y recorriendo un curso constante entregado por dos electrodos ubicados a ambos lados de la apertura. Un vacío aplicado en un lado de la abertura permite el paso de las células. Oponen su volumen físico al paso del curso. Se registra un impulso de tensión en el terminal de los electrodos. La altura de este impulso es proporcional al volumen de la celda.

El análisis de eritrocitos se realiza mediante impedanciometría en la cámara de recuento de glóbulos rojos y mediante el análisis de la hemoglobina dentro de la cámara de glóbulos blancos como se describió anteriormente. Se obtienen siete parámetros: entre los cuales se encuentran recuento de glóbulos rojos (RBC), hemoglobina (HGB) y hematocrito (HCT).

El hematocrito (HCT) se mide por el volumen de integración de todos los glóbulos rojos que fluyen en la abertura de la cámara de recuento de glóbulos rojos.

#### 2.10.4.3. Equipo

Mythic-18

#### 2.10.4.4. Materiales utilizados y condiciones de almacenamiento de reactivos.

Se utilizan diluyente de muestras, lisante de glóbulos rojos, reactivo para medición de hemoglobina, glóbulos rojos nucleados, diferenciación de glóbulos blancos; tinte para reticulocitos y para las células sanguíneas. Se almacenan a temperatura ambiente (25°C).

#### 2.10.4.5. Procedimiento de la técnica

Se mezclaron manualmente las muestras y se colocó el tubo donde la sonda aspiró automáticamente 9.8 µl de muestra. Una vez que el analizador terminó el proceso de análisis, el resultado se mostró en la pantalla de resultados. (Reserved, n.d.)

#### 2.10.4.6. Control de Calidad

Los controles están preparados con tres niveles, a saber, bajo, normal y alto. El uso diario de todos los niveles verifica el funcionamiento del analizador y garantiza la

obtención de resultados fiables. Los calibradores también son productos de sangre completa preparados industrialmente, fabricados específicamente para la calibración de WBC, RBC, HGB, MCV, PLT y otros parámetros del analizador de hematología, a fin de construir la trazabilidad metrológica de los resultados del análisis. Se almacenan de 2 - 8 °C.

#### 2.10.4.7. Interpretación de resultados

Se compararon los valores obtenidos con los rangos de referencia establecidos por la metodología.

#### 2.11. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo calculando las frecuencias y porcentajes para variables categóricas. Para las variables continuas se calculó la media, la desviación estándar y comparación con los rangos de referencia. Para evaluar la asociación de factores de riesgo se calculó el odds ratio (OR) con un intervalo de confianza de 95%. Se realizó análisis bivariado a través de chi cuadrado, evaluando el grado de asociación o independencia entre las determinaciones cuantitativas de los biomarcadores evaluados y los factores de riesgo recopilados, tomando como significativo un  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### 3.3. Características demográficas y clínicas de los pacientes COVID-19

Para este estudio, se analizaron muestras de suero de un total de 272 participantes. De estos, 108 personas fueron reclutadas de la sala de aislamiento COVID-19 de los Hospitales Dr. Arnulfo Arias Madrid con 99 (91.67%) y Dr. Manuel Amador Guerrero con 9 (8.33%) participantes respectivamente, los cuales presentaban sintomatología moderada, definida como pacientes con signos clínicos de neumonía (fiebre, tos, disnea, taquipnea) pero sin signos de neumonía grave, en particular saturación de oxígeno ( $SpO_2$ )  $\geq 90\%$  con aire ambiente según la OMS (Manual de manejo clínico de la COVID-19, 2021). Además, como controles sanos, se incluyó en el análisis, los resultados hematológicos de 164 participantes reclutados en centros de donación de sangre y que resultaron negativos a pruebas serológicas de anticuerpos frente a SARS-CoV-2 mediante inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral y ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

La estadística descriptiva de la población de estudio se indica en la Tabla 6, en donde podemos destacar que la distribución de la muestra por sexo fue de 182 (66.91%) hombres y 90 (33.09%) mujeres, no encontrando diferencias significativas por sexo entre los grupos de estudio ( $P= 0.0654$ ), donde, en el grupo de pacientes COVID-19 el 60.18% fueron hombres. La edad promedio de la población de estudio fue de  $44.75 \pm 11.37$  años, siendo el grupo de participantes del grupo COVID-19 significativamente con mayor edad y presentando una mayor frecuencia de al menos una enfermedad crónica, con respecto al

grupo de participantes sanos (Figura 5,  $P = > 0.0001$ ). Dentro de pacientes COVID-19, las enfermedades crónicas mayormente reportadas incluyen: hipertensión 56 (51.85%), Diabetes 33 (30.55%) e Insuficiencia renal 15 (13.88%).

**Tabla 6.** Características socio-demográficas y clínicas de la población de estudio

<b>Variables</b>	<b>Total de la muestra</b>	<b>Grupo 1 (Pacientes COVID-19)</b>	<b>Grupo 2 (Controles sanos)</b>	<b><i>P</i></b>
Género n (%)	<b>N= 272</b>	<b>n= 108</b>	<b>n= 164</b>	
Hombres	182 (66.91%)	65 (60.18%)	117 (71.34%)	0.0654
Mujeres	90 (33.09%)	43 (39.81%)	47 (28.66%)	
Edad M ( $\pm$ DS)	44.75 $\pm$ 11.37	56.92 $\pm$ 15.27	36.82 $\pm$ 11.33	< 0.0001
Enfermedad crónica	171 (62.87%)	26 (24.07%)	145 (88.41%)	< 0.0001
No tiene				
$\geq 1$ enfermedad crónica	101 (37.13%)	82 (75.92%)	19 (11.59%)	

Observaciones: Los datos son la mediana (M), n (%), donde N es el número total de participantes con datos disponibles. Los valores de *P* comparan los casos COVID-19 y los participantes sanos a través de la prueba exacta de Fisher o la prueba t de Student, donde tomamos como significativo los valores < 0.05.

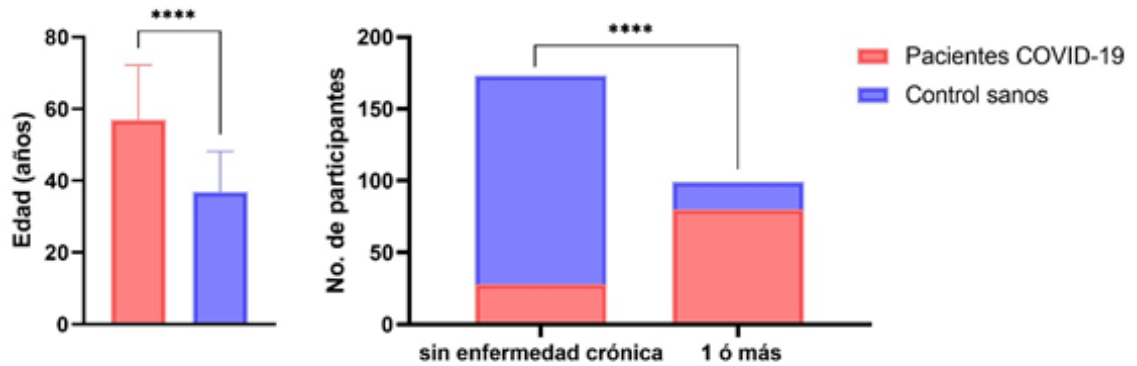
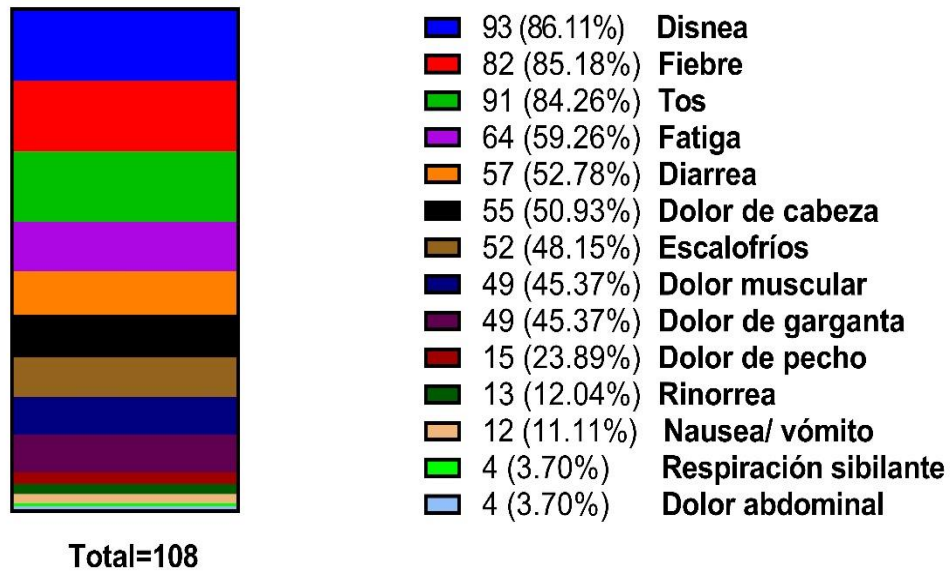


Figura 4 Representación gráfica de las principales diferencias de los grupos de estudio.

Los colores de las barras representan a los grupos de estudio, en A) se representa la media de la edad, siendo significativamente de mayor edad los participantes del grupo de pacientes COVID-19. En B) se representa el número de participantes por grupo que reportaron no tener o padecer de al menos una enfermedad crónica, encontrándose mayor proporción de personas con comorbilidades en el grupo de pacientes COVID-19.

La Figura 5 resume las manifestaciones clínicas relacionadas a COVID-19 reportadas por los participantes del grupo 1. Estos casos moderados con mayor frecuencia padecieron: disnea 93 (86.11%), fiebre 92 (85.18%), tos 91 (84.26%) y fatiga 64 (59.26%).



**Figura 5** Representación gráfica de las manifestaciones clínicas reportadas por los pacientes COVID-19.

En la barra se representan por colores los signos y síntomas reportados por un total de 108 pacientes hospitalizados en sala de aislamiento COVID-19, donde los resultados se muestra n (%). Los síntomas anosmia y ageusia no fueron considerados en la encuesta realizada.

#### 3.4. Hallazgos de laboratorio de la biometría hemática de los pacientes COVID-19

La tabla 7 resume todos los resultados del análisis hematológico realizado a la población de muestra. Comparando entre los grupos 1 y 2, encontramos diferencias significativas entre los resultados del recuento de glóbulos rojos (RBC), hemoglobina (HGB), hematocrito (HCT), linfocitos (LYM), monocitos (MON), porcentaje de linfocitos (%LYM), porcentaje de monocitos (%MON) y el porcentaje de granulocitos (%GRA) (Figura 3.3). Además, tomando en consideración el rango de valores normales,

los participantes del grupo de pacientes COVID-19 mostraron valores significativamente alterados con respecto al grupo control en las siguientes: leucopenia 7 (14.89%,  $P=0.0005$ ), eritrocitopenia 9/47 (19.15%,  $P= < 0.0001$ ), recuento de HGB bajo 24/47 (51.06%,  $P= < 0.0001$ ), recuento de HCT bajo 9/47(19.15%,  $P= < 0.0001$ ), trombocitopenia 8/47 (17.02%,  $P= < 0.0001$ ), linfopenia 5/47 (10.64%,  $P= 0.0023$ ), monocitosis 15/47 (31.91%,  $P= < 0.0001$ ), granulocitopenia 7/47 (14.89%,  $P= 0.0005$ ), % LYM bajo 9/47 (19.15%,  $P= < 0.0001$ ), % MON alto 40/47 (85.11%,  $P= 0.0009$ ), volumen corpuscular medio (MCV) bajo 2/47 (4.25%,  $P= 0.0488$ ) y la amplitud de distribución eritrocitaria (RDW) alto 24/47 (51.06%,  $P= 0.0044$ ).

Tabla 7 Resultados de la biometría hemática obtenidos de la población de estudio

<b>Parámetro</b>	<b>Total de la muestra</b>	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>P</b>	<b>Rango de valores normales</b>
<b>M (DS)</b>	<b>N= 211</b>	<b>(Pacientes COVID-19)</b>	<b>(Controles sanos)</b>	<b>(IC95%)</b>	
<b>Min.</b>		<b>n= 47</b>	<b>n= 164</b>		
<b>Max.</b>					
WBC (10 <sup>3</sup> /μl)	6.76 (± 1.79) Min. 2.8 Max. 14.7	7.22 (± 2.65) Min. 2.8 Max. 13.2	6.63 (± 1.43) Min. 4.3 Max. 14.7	0.1519 (-0.22 a 1.39)	4.5 - 10.5
Leucopenia < 4.5, n/N (%)	9/211 (4.26%)	7/47 (14.89%)	2/164 (1.22%)	0.0005	
RBC (10 <sup>6</sup> /μl)	4.89 (± 0.67) Min. 2.81 Max. 8.18	4.27 (± 0.87) Min. 2.81 Max. 8.18	5.07 (± 0.46) Min. 3.66 Max. 6.17	< 0.0001 (-1.07 a -0.54)	3.8 - 5.9
Eritrocitopenia < 3.8, n/N (%)	10/211 (4.74%)	9/47 (19.15%)	1/164 (0.61%)	< 0.0001	
HGB (g/dl)	12.97 (± 1.87) Min. 7.0 Max. 21.8	11.32 (±2.56) Min. 7.0 Max. 21.8	13.45 (±1.28) Min. 10.2 Max. 15.9	< 0.0001 (-2.91 a -1.36)	12.0 -18.0
HGB < 12, n/N (%)	38/ 211 (18.01%)	24/47 (51.06%)	14/164 (8.54%)	< 0.0001	

HGB > 18, n/N (%)	1/211 (0.47%)	1/47 (2.13%)	0/164 (0%)	0.2227	
HCT (%)	45.84 (± 6.00) Min. 27.0 Max. 74.2	39.77 (±7.58) Min. 27.0 Max. 74.2	47.58 (±4.06) Min. 36.1 Max. 55.3	< 0.0001 (-10.12 a -5.51)	35.0 - 53.0
HCT < 35, n/N (%)	9/211 (4.26%)	9/47(19.15%)	0/164 (0%)	< 0.0001	
HCT > 53, n/N (%)	1/211 (0.47%)	1/47 (2.13%)	0/164 (0%)	0.2227	
PLT (10 <sup>3</sup> /μl)	298.69 (±98.03) Min. 35.0 Max. 755.0	295.77 (±163.90) Min. 35.0 Max. 755.0	299.52 (±69.26) Min. 102.0 Max. 530.0	0.8787 (-52.97 a 45.45)	150.0 - 400.0
Trombocitopenia < 150, n/N (%)	9/211 (4.26%)	8/47 (17.02%)	1/164 (0.61%)	< 0.0001	
LYM (10 <sup>3</sup> /μl)	2.21 (±0.63) Min. 0.70 Max. 5.0	1.96 (±0.87) Min. 0.70 Max. 3.70	2.29 (±0.52) Min. 1.40 Max. 5.0	0.0163 (-0.59 a -0.06)	1.0 - 4.8
Linfopenia	6/211 (2.84%)	5/47 (10.64%)	1/164 (0.61%)	0.0023	
Linfocitosis n/N (%)	1/211 (0.47%)	0/47 (0%)	1/164 (0.61%)	1	
Monocitos (MON) (10 <sup>3</sup> /μl)	0.97 (±0.41) Min. 0.30 Max. 3.80	1.16 (± 0.63) Min. 0.30 Max. 3.80	0.91 (±0.29) Min. 0.30 Max. 2.10	0.0114 (0.06 a 0.44)	0.1 - 1.2
Monocitosis n/N (%)	28/211 (13.27)	15/47 (31.91%)	13/164 (7.93%)	< 0.0001	

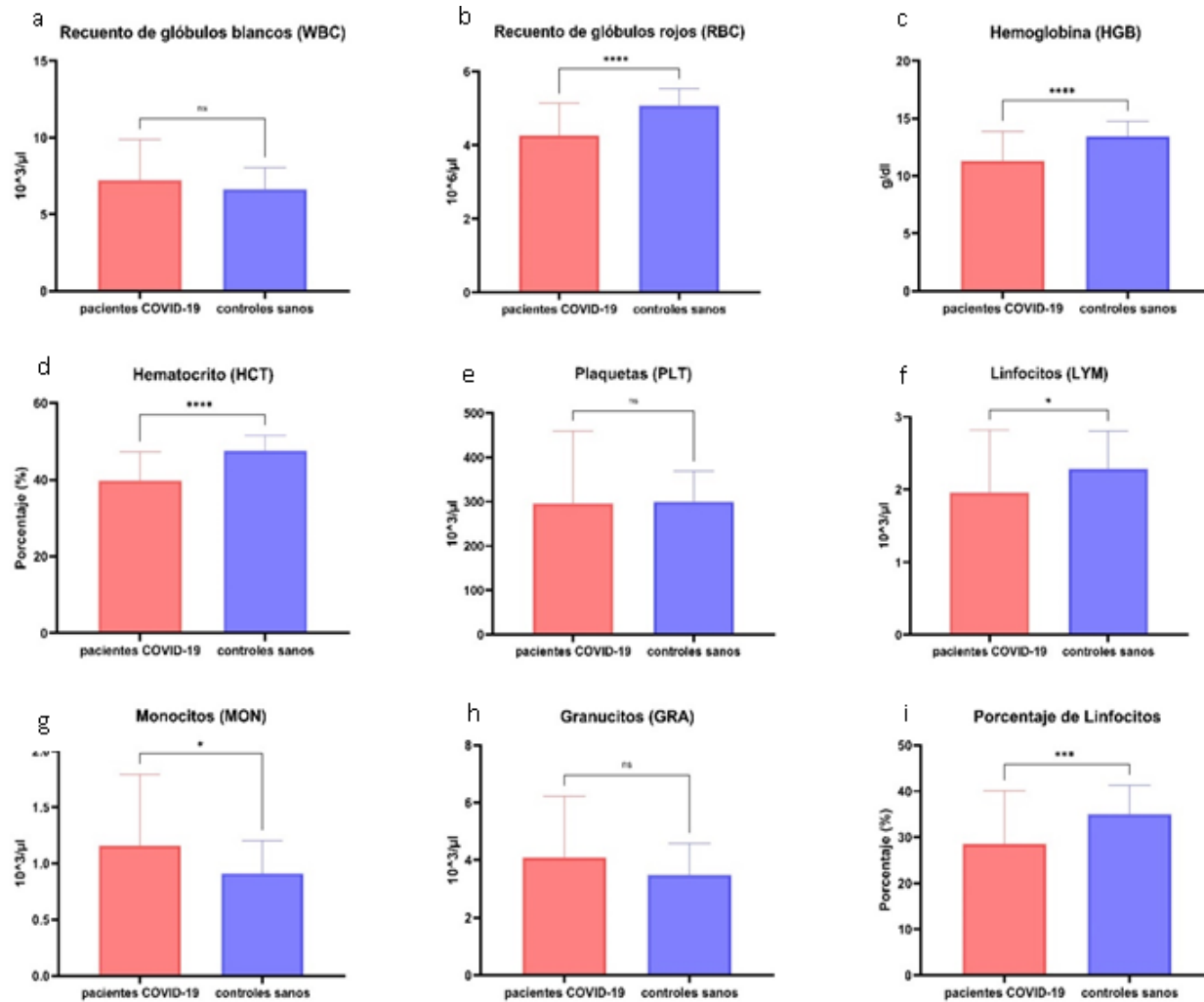
Granulocitos (GRA) ( $10^3/\mu\text{l}$ )	3.62 ( $\pm 1.41$ ) Min. 0.90 Max. 10.60	4.10 ( $\pm 2.13$ ) Min. 0.90 Max. 10.50	3.49 ( $\pm 1.09$ ) Min. 1.90 Max. 10.60	0.0887 (-0.56 a 7.67)	2.0 - 8.0
Granulocitopenia n/N (%)	9/211 (4.26%)	7/47 (14.89%)	2/164 (1.22%)	0.0005	
LYM (%)	33.55 ( $\pm 8.19$ ) Min. 7.60 Max. 58.60	28.63 ( $\pm 11.42$ ) Min. 7.60 Max. 57.50	34.96 ( $\pm 6.38$ ) Min. 19.80 Max. 58.60	0.0006 (-9.82 a -2.85)	17.0 - 48.0
% LYM < 17, n/N (%)	9/ 211 (4.26%)	9/47 (19.15%)	0 (0%)	< 0.0001	
MON (%)	14.35 ( $\pm 4.75$ ) Min. 6.30 Max. 25.60	16.13 ( $\pm 7.20$ ) Min. 8.30 Max. 46.60	13.85 ( $\pm 3.65$ ) Min. 6.30 Max. 25.60	0.0402 (0.11 a 4.47)	3.0 - 10.0
% MON > 10, n/N (%)	136/211 (64.45%)	40/47 (85.11%)	96/164 (58.54%)	0.0009	
Granulocitos (GRA) (%)	51.99 ( $\pm 9.06$ ) Min. 27.00 Max. 83.60	54.75 ( $\pm 13.54$ ) Min. 31.10 Max. 83.60	51.19 ( $\pm 7.16$ ) Min. 27.00 Max. 72.40	0.0173 (0.63 a 6.48)	43.0 - 76.0
% GRA < 43, n/N (%)	28/211 (13.27%)	10/47 (21.28%)	18/164 (10.98%)	0.0864	
Volumen corpuscular medio (MCV) ( $\mu\text{M}^3$ )	93.86 ( $\pm 5.00$ ) Min. 65.80 Max. 103.30	93.67 ( $\pm 7.50$ ) Min. 65.80 Max. 103.30	93.92 ( $\pm 4.04$ ) Min. 82.50 Max. 103.80	0.8311 (-2.52 a 2.04)	80.0 - 99.0

MCV < 80, n/N (%)	2/211 (0.95%)	2/47 (4.25%)	0/164 (0%)	0.0488	
Hemoglobina corpuscular media (MCH) (pg)	26.55 ( $\pm$ 2.01) Min. 17.90 Max. 38.30	26.59 ( $\pm$ 3.40) Min. 17.90 Max. 38.30	26.54 ( $\pm$ 1.40) Min. 22.80 Max. 29.90	0.9176 (-0.97 a 1.07)	26.0 - 33.0
MCH bajo n/N (%)	56/211 (26.54%)	16/47 (34.04%)	40/164 (24.39)	0.1942	
Concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC) (g/dl)	28.27 ( $\pm$ 1.31) Min. 24.60 Max. 38.20	28.35 ( $\pm$ 2.44) Min. 24.60 Max. 38.20	28.25 ( $\pm$ 0.73) Min. 26.20 Max. 30.80	0.7981 (-0.63 a 0.81)	31.0 - 37.0
Amplitud de distribución eritrocitaria (RDW) (%)	14.15 ( $\pm$ 0.97) Min. 11.70 Max. 18.60	14.47 ( $\pm$ 1.41) Min. 11.70 Max. 18.60	14.06 ( $\pm$ 0.78) Min. 12.10 Max. 17.30	0.0596 (-0.02 a 0.84)	11.4 - 14.4
RDW alto n/N (%)	69/211 (32.70%)	24/47 (51.06%)	45/164 (27.44%)	0.0044	
Volumen plaquetario medio (MPV) ( $\mu$ M <sup>3</sup> )	9.09 ( $\pm$ 0.88) Min. 6.70 Max. 11.60	9.04 ( $\pm$ 1.06) Min. 6.70 Max. 11.10	9.11 ( $\pm$ 0.83) Min. 7.30 Max. 11.60	0.6901 (-0.40 a 0.27)	6.5 - 11.0
Hematocrito plaquetario (HCT-PLT) (%)	0.27 ( $\pm$ 0.08) Min. 0.05	0.26 ( $\pm$ 0.12) Min. 0.05	0.27 ( $\pm$ 0.06) Min. 0.08	0.7173 (-0.04 a 0.03)	0.10 - 0.45

	Max. 0.60	Max. 0.60	Max. 0.53		
Ancho de distribución plaquetario (PDW)	15.10 ( $\pm 1.57$ )	14.72 ( $\pm 1.98$ )	15.22 ( $\pm 1.45$ )	0.1183	
(%)	Min. 10.80	Min. 10.80	Min. 10.80	(-1.12 a 0.13)	25.0 - 65.0
	Max. 22.40	Max. 22.40	Max. 19.5		

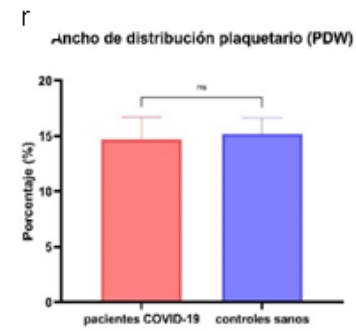
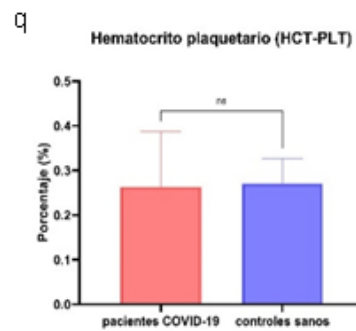
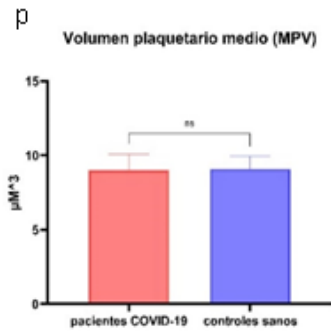
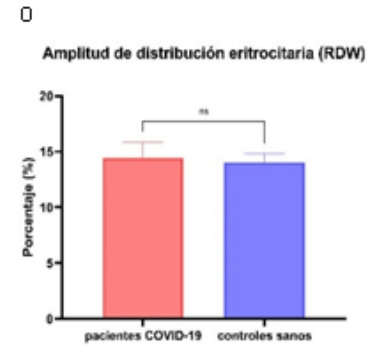
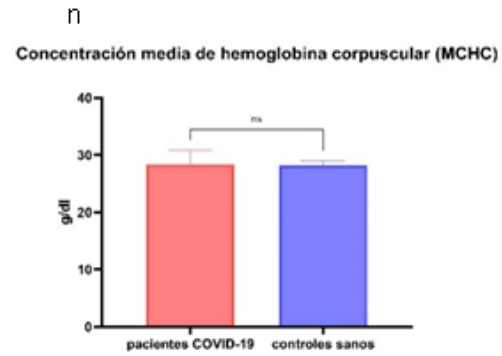
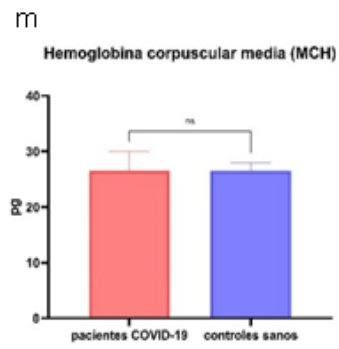
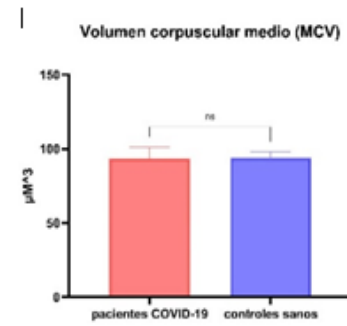
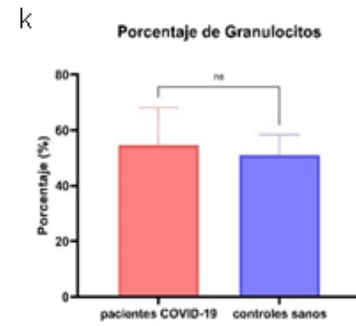
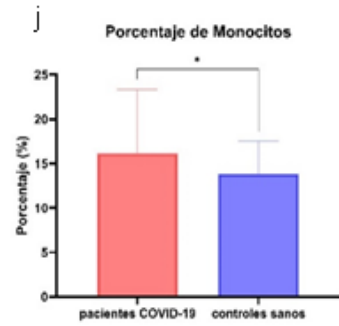
---

Observaciones: Los datos reflejan la media (M)  $\pm$  la desviación estándar (DS), n/N (%), donde N es el número total de participantes con datos disponibles. Los valores de *P* comparan los casos COVID-19 y los participantes sanos a través de la prueba t de Student no emparejada con correlación de Welch o la Prueba exacta de Fisher, donde tomamos como significativo los valores  $< 0.05$ .



**Figura 6** Representación gráfica de la biometría hemática entre los grupos de estudio.

Se analizaron los parámetros: a) WBC, b) RBC, c) HGB, d) HCT, e) PLT, f) LYM, g) MON, h) GRA, i) %LYM, j) %MON, k) %GRA, l) MCV, m) MCH, n) MCHC, o) RDW, p) MPV, q) HCT-PCT y r) RDW. En cada gráfica se representan las medias y la desviación estándar de cada grupo de participantes identificados por colores. Los grupos fueron comparados mediante análisis t de Student no emparejada con correlación de Welch. Las diferencias estadísticamente significativas, se muestran como: \* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001 y \*\*\*\* P<0.0001). ns= no significativo.



### 3.5. Hallazgos de laboratorio de los niveles de proteínas séricas en la cohorte COVID-19 vs controles

La tabla 8 resume los resultados obtenidos al comparar los niveles de los parámetros inmunoserológicos evaluados entre los grupos de estudio. Diferencias estadísticamente significativas se encontraron con todos los biomarcadores evaluados: ferritina, proteína C reactiva (PCR), lactato amino deshidrogenasa (LDH) ( $P = < 0.0001$ ), interleucina 6 (IL-6) y procalcitonina (PCT) ( $P = 0.0093$  y  $0.0422$ , respectivamente) (Figura 3.4). La proporción de elevación de los niveles de ferritina sobre 400 ng/ml fue significativamente mayor en el grupo de participantes COVID-19 positivos 66.87% vs el grupo control 2.78% ( $P = < 0.0001$ ), niveles altos de IL-6 con 82.60% vs 5.40% ( $P = < 0.0001$ ), niveles altos de PCR con 70.65% vs 12.74% ( $P = < 0.0001$ ), niveles altos de LDH con 10.23% vs 0.63% ( $P = 0.0005$ ) y niveles altos de PCT con 17.35% vs 0% ( $P = < 0.0001$ ). Asimismo, la proporción de disminución de los niveles de LDH fue mayor en el grupo de control sano con en 86.71% de las muestras analizadas con respecto al 35.23% del grupo de pacientes COVID-19 ( $P = < 0.0001$ ).

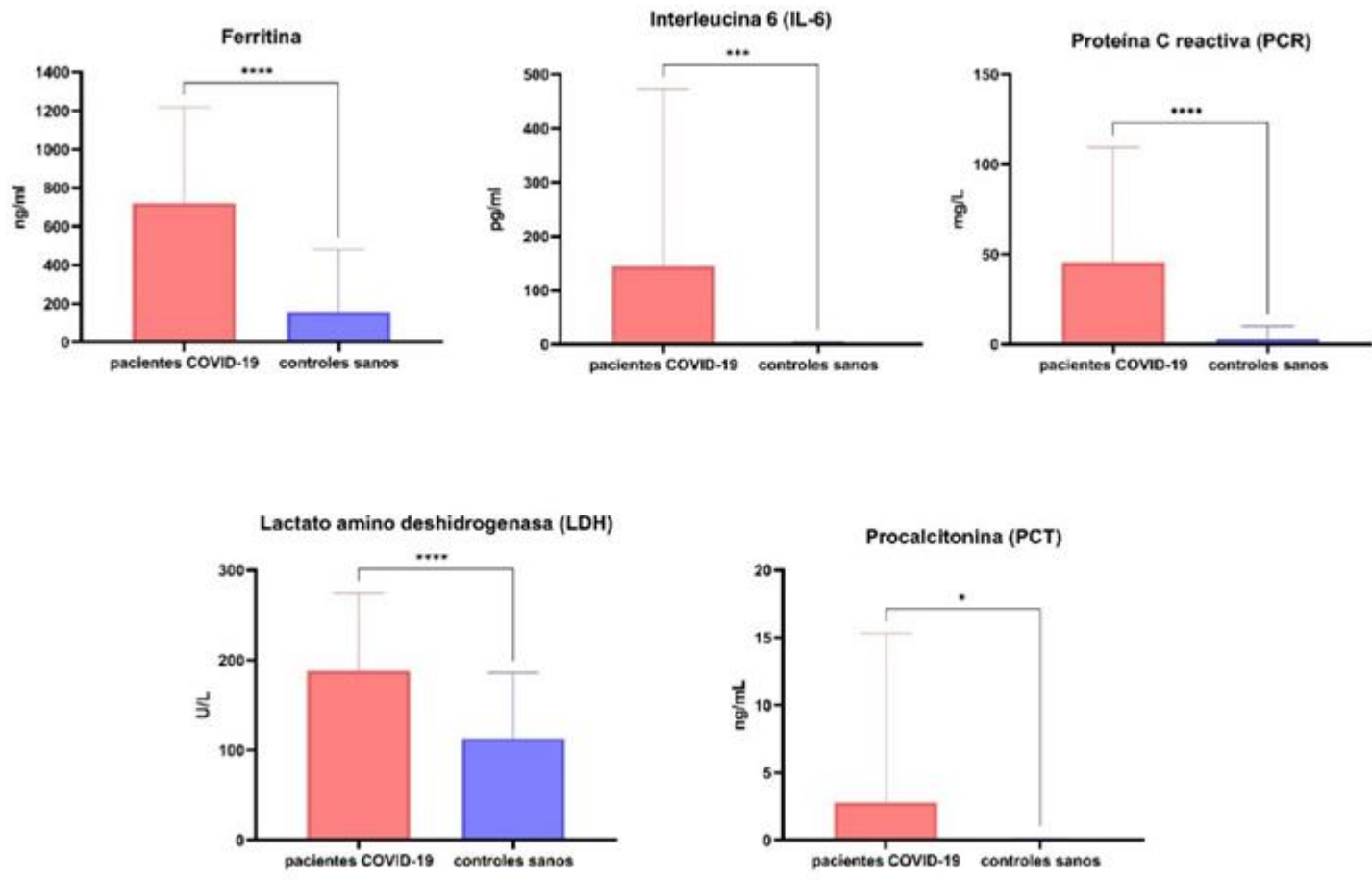
**Tabla 8** Resultados de la biometría hemática obtenidos de la población de estudio

<b>Parámetro</b>	<b>Total de la muestra</b>	<b>Grupo 1</b> <b>(Pacientes COVID-19)</b>	<b>Grupo 2</b> <b>(Controles sanos)</b>	<b>P</b> <b>(IC95%)</b>	<b>Rango de valores normales</b>
<b>M (DS)</b>					
<b>Min.</b>					
<b>Max.</b>					
Ferritina	499.08 ( $\pm$ 498.17) Min. 7.40 Max. 1,962.6	720.80 ( $\pm$ 497.97) Min. 37.30 Max. 1,500.0	157.53 ( $\pm$ 321.47) Min. 7.40 Max. 1962.6	< 0.0001 (381.44 a 745.08)	30.0-400.0
Ferritina alto >400 n/N (%)	47/105 (44.76%)	46/69 (66.67%)	1/36 (2.78%)	< 0.0001	
IL-6 (pg/ml)	94.95 ( $\pm$ 272.38) Min. 0.30 Max.1,620.0	144.85 ( $\pm$ 327.59) Min.1.20 Max. 1,620.0	1.90 ( $\pm$ 2.58) Min. 0.30 Max. 11.7	0.0093 (35.92 a 249.99)	<7.0
IL-6 alto n/N (%)	59/106 (55.66%)	57/69 (82.60%)	2/37 (5.40%)	< 0.0001	
PCR (mg/L)	18.84 ( $\pm$ 44.06) Min. 0.00 Max. 326.00	45.56 ( $\pm$ 63.72) Min. 0.05 Max. 326.00	3.14 ( $\pm$ 7.01) Min. 0.00 Max.75.30	< 0.0001 (32.28 a 52.49)	<5.0
PCR alto >5.0 n/N (%)	85/29 (34.14%)	65/92 (70.65%) (51.06%)	20/157 (12.74%)	< 0.0001	

LDH (U/L)	140.08 ( $\pm$ 85.67) Min. 22.0 Max. 975.00	188.45 ( $\pm$ 85.79) Min. 62.00 Max.549.00	113.14 ( $\pm$ 73.03) Min. 22.00 Max. 975.00	< 0.0001 (54.93 a 95.70)	
LDH >140,0, n/N (%)	168/246 (68.29%)	31/88 (35.23%)	137/158 (86.71%)	< 0.0001	140-271
LDH < 271, n/N (%)	10/246 (4.06%)	9/88 (10.23%)	1/58 (0.63%)	0.0005	
PCT (ng/mL)	0.87 ( $\pm$ 8.32) Min. 0.00 Max. 100.0	2.08 ( $\pm$ 13.13) Min. 0.01 Max. 100.0	0.06 ( $\pm$ 0.09) Min. 0.00 Max.0.5	0.0422 (0.10 a 5.39)	0.02-0.05
PCT >0.5, n/N (%)	17/185 (9.19%)	17/98 (17.35%)	0/87 (0%)	< 0.0001	

---

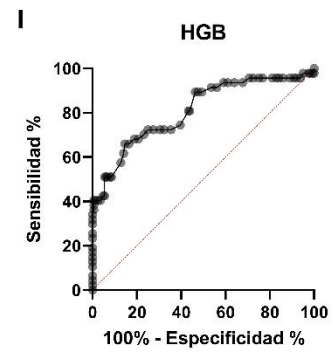
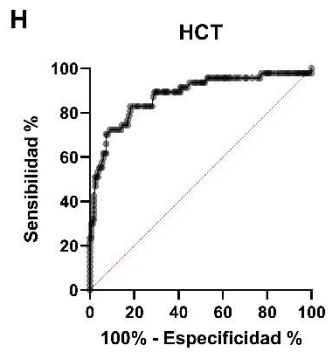
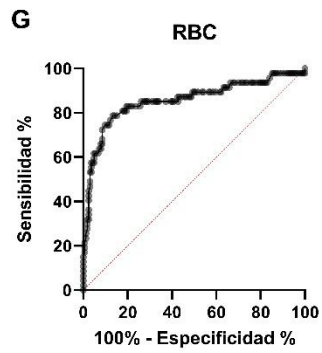
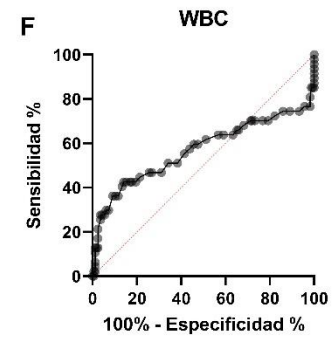
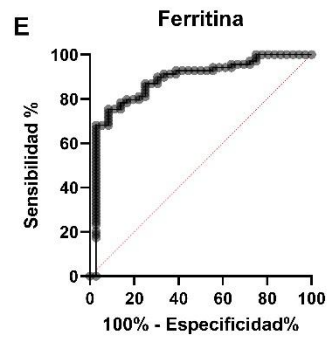
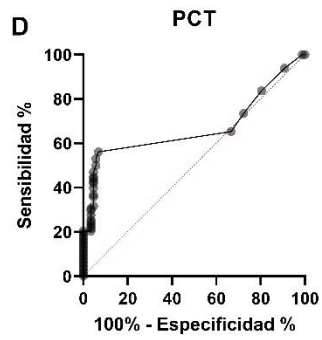
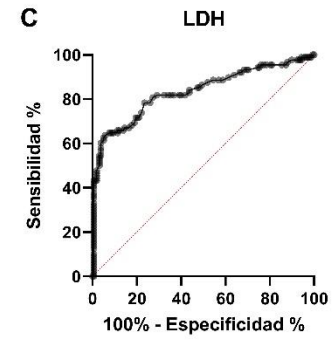
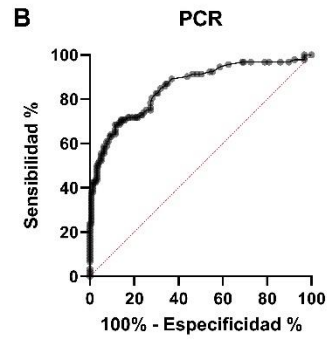
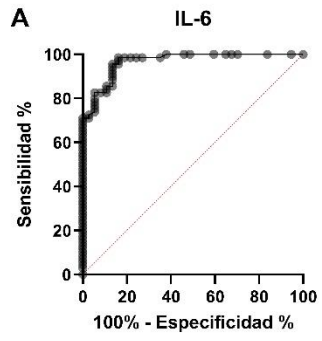
Observaciones: Los datos reflejan la media (M)  $\pm$  la desviación estándar (DS), n/N (%), donde N es el número total de participantes con datos disponibles. Los valores de *P* comparan los casos COVID-19 y los participantes sanos a través de la prueba t de Student no emparejada con correlación de Welch o la Prueba exacta de Fisher, donde tomamos como significativo los valores < 0.05.

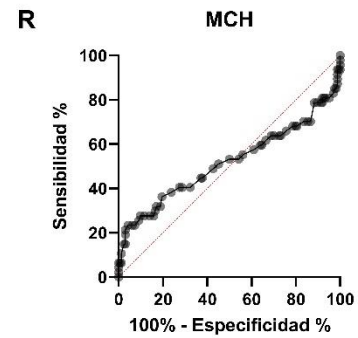
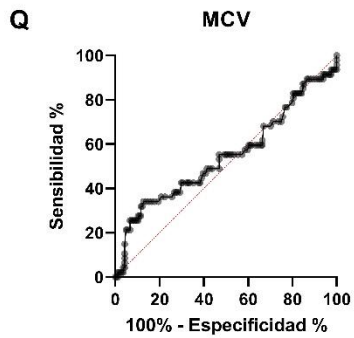
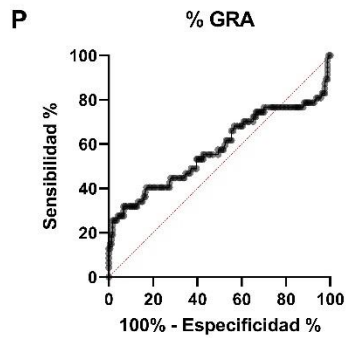
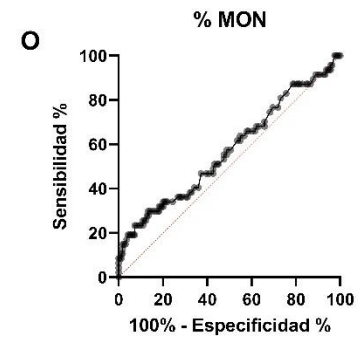
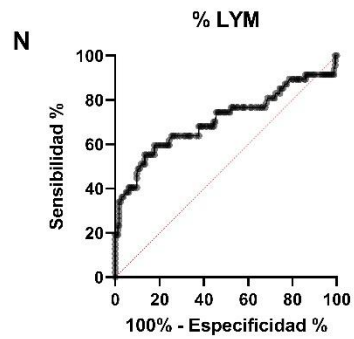
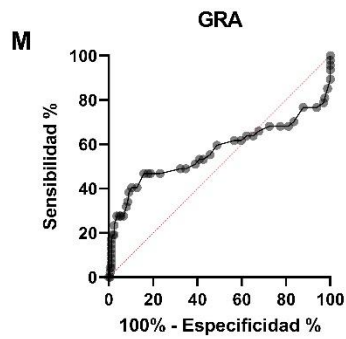
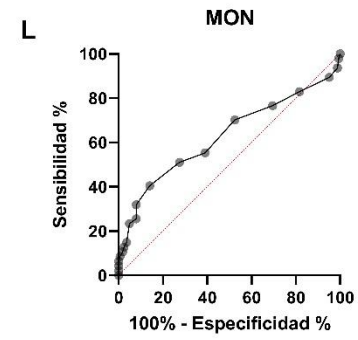
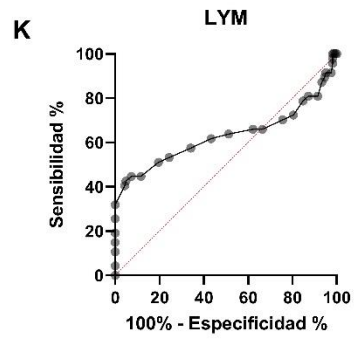
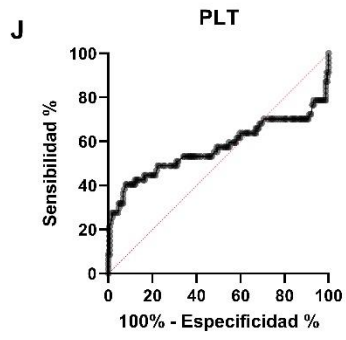


lias y  
liante  
as, se

### 3.6. Determinación del valor pronóstico de los biomarcadores séricos en pacientes con COVID-19

Nos propusimos a evaluar la capacidad de los parámetros séricos para predecir la enfermedad COVID-19. Para ello, realizamos un análisis de curva de característica operativa del receptor (ROC) (Figura 8), que nos permitió determinar el valor óptimo o de corte, área bajo la curva (AUC), sensibilidad, especificidad, ratio de probabilidad (Likelihood ratio) de cada biomarcador sérico, que se resumen en la Tabla 9. En base a la sensibilidad y especificidad calculada, más la seroprevalencia para COVID-19 reportada para el periodo del estudio (18%), se calculó el valor predictivo positivo y negativo para cada parámetro. Así mismo, en base al valor de corte calculado, se realizaron análisis de curvas de Kaplan-Meier para determinar si los participantes con niveles mayores del punto de corte tienen mayor probabilidad de enfermarse.





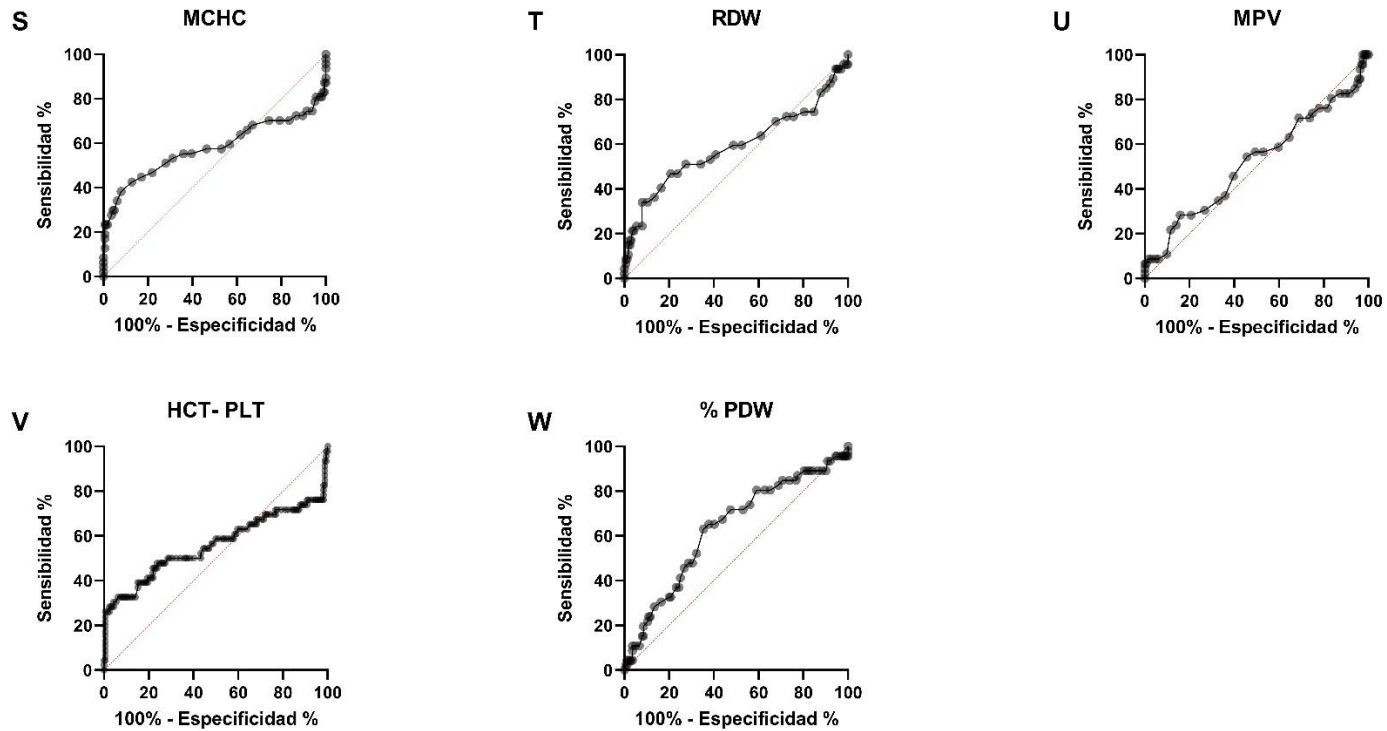


Figura 8 Representación gráfica de análisis de curva ROC de los biomarcadores séricos estudiados.

Se analizaron los parámetros: a) IL-6, b) PCR, c) LDH, d) PCT, e) Ferritina f) WBC, g) RBC, h) HCT, i) HGB j) PLT, k) LYM, l) MON, m) GRA, n) %LYM, o) %MON, p) % GRA, q) MCV, r) MCH, s) MCHC, t) RDW, u) MPV, v) HCT-PLT, w) %PDW.

**Tabla 9 Valor pronóstico de los biomarcadores séricos en pacientes COVID-19**

<b>Parámetro</b>	<b>Valor de corte</b>	<b>AUC (IC95%)</b>	<b>Sensibilidad % (IC95%)</b>	<b>Especificidad % (IC95%)</b>	<b>Likelihood ratio</b>	<b>PPV (%)</b>	<b>NPV (%)</b>	<b><i>P</i></b>
WBC	6.35 10 <sup>3</sup> /μl	0.57	63.83	43.29	1.13	19.81	84.50	0.1540
		(0.45 - 0.68)	(49.54- 76.03)	(35.95 - 50.94)				
RBC	4.47	0.86	65.96	92.07	8.32	64.61	92.49	<0.0001
		(0.78 - 0.93)	(51.67 - 77.83)	(86.91 - 95.31)				
HGB	12.75	0.81	72.34	69.51	2.37	34.25	91.97	<0.0001
		(0.73 - 0.89)	(58.24 - 83.06)	(62.09 - 76.04)				
HCT	41.35	0.88	61.70	93.29	9.20	66.87	91.73	<0.0001
		(0.82 - 0.94)	(47.43 - 74.21)	(88.39 - 96.21)				
PLT	229.5	0.57	42.55	85.98	3.03	39.98	87.21	0.1434

		(0.45 -	(29.51 -	(79.83 -				
		0.69)	56.72)	90.47)				
		0.63	61.70	56.71				
LYM	2.15	(0.51 -	(47.43 -	(49.06 -	1.42	23.83	87.09	0.0067
		0.74)	74.21)	64.05)				
		0.63	70.21	47.56				
MON	0.85	(0.52 -	(56.02 -	(40.06 -	1.34	22.71	87.91	0.0082
		0.73)	81.35)	55.17)				
		0.57	27.66	96.34				
GRA	5.25	(0.45 -	(16.94 -	(92.25 -	7.56	62.39	85.85	0.1616
		0.68)	41.76)	98.31)				
		0.71	51.06	88.41				
% LYM	27.65	(0.61 -	(37.24 -	(82.61 -	4.41	49.16	89.17	<0.0001
		0.81)	64.72)	92.46)				
		0.57	65.96	42.07				
% MON	12.55	(0.47 -	(51.67 -	(34.78 -	1.14	20.00	84.92	0.1319

		0.67)	77.83)	49.73)				
		0.58	76.60	29.88				
% GRA	46.70	(0.47 -	(62.78 -	(23.40 -	1.09	19.34	85.33	0.1048
		0.69)	86.40)	37.28)				
		0.55	76.60	23.17				
MCV	91.15	(0.44 -	(62.78 -	(17.37 -	1.00	17.96	81.85	0.3374
		0.65)	86.40)	30.20)				
		0.52	53.19	50.00				
MCH	26.65	(0.40 -	(39.23 -	(42.44 -	1.06	18.93	82.95	0.7216
		0.63)	66.67)	57.56)				
		0.58	68.09	32.93				
MCHC	28.65	(0.46 -	(53.83 -	(26.20 -	1.01	18.22	82.46	0.0997
		0.70)	79.60)	40.44)				
		0.59	70.21	32.32				
RDW	13.75	(0.48 -	(56.02 -	(25.63 -	1.04	18.55	83.17	0.0632
		0.70)	81.35)	39.81)				

		0.52	71.74	31.10				
MPV	9.45	(0.42 -	(57.45 -	(24.51 -	1.041	18.60	83.37	0.6825
		0.62)	82.68)	38.55)				
		0.56	39.13	84.76				
HCT- PLT	0.21	(0.44 -	(26.39 -	(78.46 -	2.567	36.05	86.38	0.2192
		0.68)	53.54)	89.46)				
		0.63	73.91	43.90				
% PDW	15.45	(0.54 -	(59.74 -	(36.53 -	1.32	22.43	88.46	0.0062
		0.72)	84.40)	51.55)				
		0.88	86.96					
Ferritina	152.6	(0.81-	(77.03-	75.00	3.48	43.30	96.32	<0.0001
	ng/ml	0.95)	92.98)	(58.93-86.25)				
		0.97	98.55	83.78				
IL-6	2.15	(0.94-	(92.24-	(68.86-	6.08	57.15	99.62	<0.0001
	pg/ml	1.00	99.93)	92.35)				
PCR	2.55	0.85	82.61	70.06	2.76	37.72	94.83	<0.0001

	mg/L	(0.80-0.90)	(73.60-89.00)	(62.49-76.68)				
		0.83	81.82	70.89				
LDH	118.5 U/L	(0.77-0.89)	(72.49-88.49)	(63.37-77.41)	2.81	38.16	94.67	<0.0001
		0.67	56.12	93.10				
PCT	0.05 ng/mL	(0.59-0.75)	(46.25-65.53)	(85.76-96.80)	8.14	64.43	90.63	<0.0001

Observaciones: AUC= área bajo la curva, Likelihood ratio= ratio de probabilidad, PPV= valor predictivo positivo, NPV= valor predictivo negativo, WBC= recuento de glóbulos blanco, IL-6= interleucina 6, PCR= proteína C reactiva, LDH= Lactato amino deshidrogenasa, PCT= procalcitonina. Tomamos como significativo los valores < 0.05.

### 3.7. Correlación entre los biomarcadores séricos y variables socio-demográficas y clínicas

Se realizó un análisis multivariado de matriz de correlación, mediante una correlación no paramétrica de Spearman para determinar si los biomarcadores séricos son factores independientes o no para predecir la enfermedad. En la tabla 10 se resumen el coeficiente de correlación (R) e intervalo de confianza calculados para cada pareja de variables. El coeficiente de correlación cuantifica la dirección y magnitud de la correlación, su valor varía de -1 (relación inversa perfecta); a 1 (relación positiva perfecta) y un valor de cero, que significa que no hay correlación en absoluto (Figura 9).

Tabla 10 Coeficiente de correlación entre las variables de estudio en pacientes COVID-19 positivos

<b>Variables</b>	<b>Coeficiente de correlación (R)</b>	<b>Intervalo de confianza 95%</b>	<b>P</b>
Edad	0.598	0.513 a 0.671	<0.0001
Sexo	0.116	-0.006 a 0.235	0.056
Enfermedad Crónica	0.651	0.575 a 0.717	<0.0001
RBC	-0.513	-0.608 a -0.403	<0.0001
HGB	-0.447	-0.551 a -0.328	<0.0001
HCT	-0.546	-0.637 a -0.440	<0.0001
LYM	-0.187	-0.318 a -0.0498	0.006
MON	0.184	0.046 a 0.315	0.007
% LYM	-0.300	-0.422 a -0.168	<0.0001
% PDW	-0.192	-0.323 a -0.054	0.005
Ferritina	0.626	0.487 a 0.734	<0.0001
IL-6	0.772	0.679 a 0.841	<0.0001
PCR	0.593	0.503 a 0.670	<0.0001
LDH	0.554	0.458 a 0.637	<0.0001
PCT	0.299	0.158 a 0.429	0.0001

Observaciones: R= Coeficiente de correlación, IL-6= interleucina 6, PCR= proteína C reactiva, LDH= Lactato amino deshidrogenasa, PCT= procalcitonina. P= < 0.05, significativo.

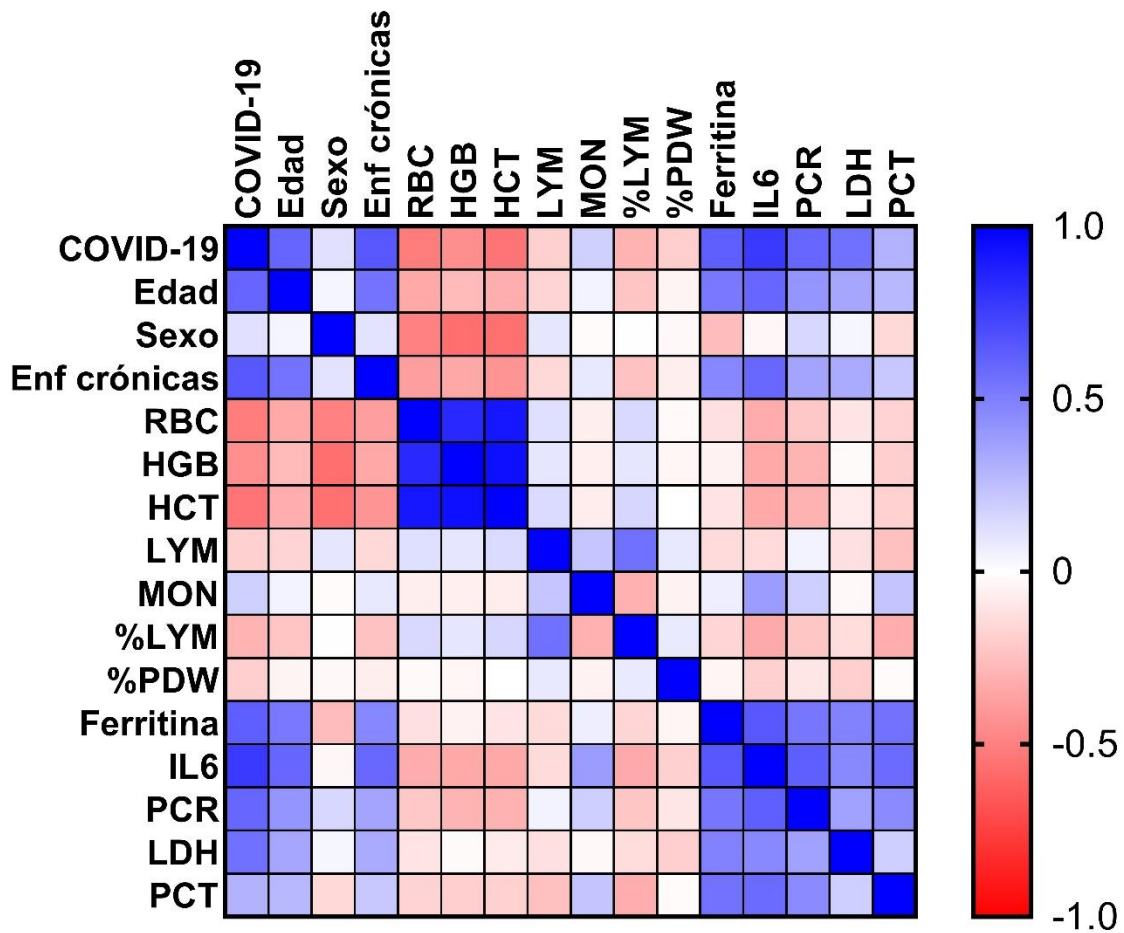


Figura 9 Mapa de calor de la correlación entre las variables de estudio.

Se representa el coeficiente de correlación, donde el valor -1 indica una relación inversa perfecta (rojo); 1 una relación positiva perfecta (azul) y 0, que significa que no hay correlación en absoluto (blanco). Los tonos intermedios representan las tendencias.

## DISCUSIÓN

Los biomarcadores pueden desempeñar un papel fundamental para la identificación oportuna de formas graves de COVID-19, la toma de decisiones sobre tratamientos y la atención adecuada de los pacientes (Bivona et al., 2021). Múltiples estudios han identificado una serie de parámetros sanguíneos que, al interpretarlos de manera conjunta, son capaces de predecir con precisión a los pacientes en riesgo de desarrollar neumonía y un COVID-19 severo (Farid et al., 2021) (Singh et al., 2021)(Tabassum et al., 2021).

En el presente estudio nos propusimos caracterizar ciertos parámetros serológicos y determinar su valor pronóstico utilizando una muestra de participantes panameños. La población de estudio incluyó a 108 pacientes con COVID-19 de sintomatología moderada recluidos en salas COVID-19 en dos hospitales estatales, además se incluyó en el análisis los resultados obtenidos de 164 participantes donadores de sangre como grupo control.

Sobre el análisis descriptivo de la población de estudio podemos resaltar los hallazgos encontrados sobre el sexo, edad, presencia de enfermedades subyacentes y sintomatología de los participantes del grupo de pacientes COVID-19. En cuanto al sexo, destacamos que 60% de los participantes de este grupo son del sexo masculino, reflejando mayor frecuencia de hombres hospitalizados con un COVID-19 moderado en comparación a las mujeres. Este y muchos otros estudios reflejan que la severidad de la enfermedad está asociada al sexo masculino (Halaji et al., 2022)(G. Chen et al., 2020)(Han et al., 2020)(Jacobsen & Klein, 2021)(Juneja et al., 2022). Por otro lado, los participantes COVID-19 positivos reportaron significativamente mayor edad y mayor frecuencia de al menos una enfermedad crónica con respecto al grupo control sano,

además, el análisis de correlación reflejó que la edad avanzada y el padecer al menos una enfermedad crónica, se relaciona con la presencia de la enfermedad COVID-19. Esto era esperado, dado que son múltiples autores que reportan que la edad avanzada y padecer enfermedades crónicas representan factores de riesgo importantes para desarrollar formas severas de COVID-19 (Halaji et al., 2022)(Blair et al., 2021)(Huang et al., 2020)(Juneja et al., 2022). Las enfermedades subyacentes que reporta con mayor frecuencia este grupo son hipertensión, diabetes e insuficiencia renal, las cuales son las enfermedades crónicas de mayor relevancia en nuestro país (MINSA, 2015). En cuanto a la sintomatología, el grupo de pacientes COVID-19 reportó en mayor frecuencia disnea (86.11%), fiebre (85.18%), tos (84.26%) y fatiga (59.26%). De manera similar Minh y colaboradores (Minh et al., 2021) reporta con mayor frecuencia sintomatologías similares en estos pacientes lo que podría deberse a su condición de pacientes clasificados como moderados, donde se desarrolla un distrés pulmonar importante causando dificultad para la respiración(Minh et al., 2021)(Blair et al., 2021)(Asare-Boateng et al., 2020).

Los resultados obtenidos en este estudio sobre los marcadores hematológicos confirman lo publicado previamente en la literatura, donde los pacientes severos y graves presentaban mayores alteraciones en comparación a los no severos y/o controles sanos (Villa Palacio & López Henao, 2020)(Jain et al., 2022)(Mao et al., 2021)(Torres Acosta & Singer, 2020). Encontramos diferencias significativas entre el grupo de pacientes COVID-19 y el grupo control en los resultados de: RBC, HGB, HCT, LYM, MON, %LYM, %MON y %GRA. Además, tomando en consideración el rango de valores normales, los participantes del grupo de pacientes COVID-19 mostraron valores significativamente alterados reflejando principalmente un recuento

bajo de hemoglobina. Resultados similares fueron reportados por otros autores (Villa Palacio & López Henao, 2020)(Jain et al., 2022)(Mao et al., 2021)(Torres Acosta & Singer, 2020).

Nuestros resultados también registraron mayor monocitosis y % MON alto en participantes COVID-19 en comparación al grupo control. Estos hallazgos son compartidos con Pujani et al 2021(Pujani et al., 2021) y Mao et al 2021(Mao et al., 2021). En contraste, otros autores como Nadoushan et al 2020 (Jalali Nadoushan et al., 2020) y Juneja et al 2022 (Juneja et al., 2022) reportan monocitopenia.

Varios estudios (Latifi-pupovci et al., 2022)(Zhu et al., 2020) han demostrado que las respuestas inflamatorias exageradas y el síndrome de liberación de citoquinas podrían ser la causa principal de la patogénesis de COVID-19. En nuestros resultados se observaron aumentados significativamente los niveles de IL-6, ferritina, PCR, PCT, LDH sérica comparación con los participantes sanos. Además, a través de análisis de curva de característica operativa del receptor (ROC), determinamos el valor pronóstico de los parámetros séricos evaluados en pacientes COVID-19, revelando que RBC, HCT, IL-6 y PCT tienen mejores resultados de certeza predictiva, por lo que podrían ser valores hematológicos a considerar para la estratificación de los casos.

IL-6 es una de las principales citoquinas proinflamatorias que se producen como mecanismo de defensa del sistema inmune en respuesta a infecciones y daño tisular. Múltiples estudios han reportado diferencias entre los niveles de IL-6 en función a la severidad de los casos de COVID-19. En este estudio encontramos que en promedio los niveles de IL-6 estaban en 144.85 pg/ml, 20 veces más alto que el valor considerado dentro del rango normal (< 7 pg/ml),

mostrándose elevado en el 82.6% de los participantes COVID-19 evaluados. Además, encontramos que niveles elevados de IL-6 aumentaba 6 veces la probabilidad de desarrollar COVID-19. Herold et al 2020 (Herold et al., 2020) reporta que los niveles de IL-6 en pacientes con COVID-19 moderado se encuentran por debajo 80 pg/ml, dos veces menos elevado que nuestros resultados en pacientes con características similares. Varios autores (T. Liu et al., 2020); (Sayah et al., 2021) reportan que IL-6 podría utilizarse como factor independiente para predecir la gravedad de la COVID-19. Asimismo, Aziz et al 2020 (Aziz et al., 2020), Grifoni et al 2020 (Grifoni et al., 2020) y Melo et al 2021 (Melo et al., 2021) en estudios de metaanálisis, han reportado que niveles elevados de IL-6 es buen predictor asociado con la severidad de los casos de COVID-19.

Ferritina es una proteína que almacena hierro, clave como indicador inflamatorio producto de una disfunción inmune. A pesar que el incremento de ferritina es encontrada en diferentes enfermedades pulmonares, varias publicaciones han reportado su asociación a pronóstico reservado por COVID-19 ((Farid et al., 2021)(Melo et al., 2021)). Nuestros resultados reflejan una hiperferritemia en 66.7% de los casos, con una concentración en promedio de 720.80 ng/ml. Algunos estudios reportan niveles de ferritina sérica en pacientes con COVID-19 moderado de 291.13 ng/ml, 2.5 veces menos elevado que nuestros resultados (Vargas-vargas & Cortés-rojo, 2020).

La proteína C reactiva es una proteína inflamatoria de fase aguda que juega un papel crucial en la respuesta inmune innata. Múltiples autores lo han reportado como indicador de la severidad de COVID-19 (F. Liu et al., 2020);(Wang et al., 2020)(Farid et al., 2021). En condiciones normales la PCR debe encontrarse por debajo de 5 mg/L, en nuestro estudio hemos

reportado un nivel promedio de 45.56 mg/L en pacientes con COVID-19 moderado. Resultados similares son reportados por Kermali et al 2020 (Kermali et al., 2020).

La procalcitonina está relacionada con la regulación de los niveles de calcio y fosfato en sangre y su determinación es ampliamente utilizado en el diagnóstico de infecciones bacterianas severas. Varios estudios han reportado niveles de PCT elevados en pacientes COVID-19 severos, atribuible a una infección bacteriana secundaria a la infección por SARS-CoV-2. Algunos estudios han revelado que los niveles de PCT no se ven alterados en pacientes con COVID-19 moderado (Hu et al., 2020), nuestros resultados muestran niveles elevados en 17.35% de los casos y un nivel promedio de 2.08 ng/ml en el grupo COVID-19. Además, en análisis ROC refleja que pacientes con niveles elevados de PCT tienen 8 veces mayor probabilidad de desarrollar COVID-19 moderado.

La enzima Lactato deshidrogenasa está implicada en la conversión de lactato a piruvato y es considerado un marcador de inflamación y eventos cardiovasculares. Niveles elevados de LDH se han asociado al resultado de muerte intrahospitalaria por COVID-19. Nuestros resultados reflejan un promedio de los niveles de LDH de 188.35 U/L, mostrándose elevado en 35% de los casos. Martha y colaboradores (Martha et al., 2021) reporta que LDH se asoció con un mal pronóstico en pacientes con COVID-19 y que el incremento de LDH está correlacionado con presentar diabetes como enfermedad crónica. Otros autores han reportado seis veces y hasta dieciséis veces por encima del rango de referencia de LDH y se ha asociado al desarrollo de COVID-19 severo y aumento de riesgo de mortalidad(Han et al., 2020)(Henry et al., 2020)(Dong et al., 2020).

Por último, el análisis de correlación sugiere que el aumento de los niveles séricos de parámetros como Ferritina, IL-6, PCR y LDH correlacionan positivamente con el desarrollo de COVID-19, mientras que la disminución de los valores de RBC, HGB y HCT presentan una relación inversa con la presencia de COVID-19. En un estudio llevado a cabo en un país latinoamericano como el nuestro (Ramos Rojas et al., 2022), encontraron una correlación positiva con ferritina y proteína C reactiva con la severidad de COVID-19. Komurcuoglu y colaboradores (Komurcuoglu et al., 2022) mediante un análisis de correlación no paramétricos, detectó correlaciones positivas entre PCR, LDH y Ferritina y resultados alterados en tomografías computarizada (CT) de tórax en pacientes afectados por COVID-19. Asimismo, Azab y colaboradores (Azab et al., 2021) encontró una correlación negativa significativa entre CT de tórax y los parámetros RBC, HGB y HCT.

## CONCLUSIONES

1. Describimos las principales sintomatologías más comunes reportadas por pacientes COVID-19 con presentación moderada.
2. Los resultados obtenidos confirman que pertenecer al sexo masculino, tener una edad avanzada y padecer de al menos una enfermedad crónica son factores de riesgo para el desarrollo de formas graves de COVID-19.
3. Determinamos que en pacientes COVID-19 en una presentación moderada de la enfermedad, casi todos los analitos hematológicos evaluados resultaron alterados, destacándose entre ellos, los valores de eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, plaquetas, monocitos, linfocitos, leucocitos y granulocitos.
4. Los pacientes COVID-19 evidenciaron alteraciones significativas para ferritina, proteína C reactiva (PCR), lactato amino deshidrogenasa (LDH), interleucina 6 (IL-6) y procalcitonina (PCT).
5. Mediante un análisis de correlación no paramétrico se determinó una correlación positiva entre la presentación de la enfermedad con los valores de Ferritina, IL-6, PCR y LDH. Además, una correlación negativa con los parámetros de RBC, HGB, HCT y % LYM.
6. Mediante análisis de curva ROC se determinó el valor óptimo y el valor predictivo de los biomarcadores, resultando que personas con valores elevados de ferritina, IL-6, PCR, LDH y PCT tienen mayor probabilidad de desarrollar casos moderados-severos por COVID-19.

## **RECOMENDACIONES**

Son necesarios más estudios que demuestren el impacto significativo de los biomarcadores evaluados para que se puedan traducir a la práctica clínica y la orientación del tratamiento.

Ampliar el estudio incluyendo otros biomarcadores

Evaluar qué impacto tuvo las condiciones preexistentes de los individuos participantes del estudio al momento de arrojar los resultados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amador, E., Dorfman, L. E., & Wacker, W. E. (1963). SERUM LACTIC DEHYDROGENASE ACTIVITY: AN ANALYTICAL ASSESSMENT OF CURRENT ASSAYS. *Clinical Chemistry*, 12, 391–399.
- Asare-Boateng, K., Mensah, Y. B., Mensah, N. A., Oliver-Commey, J., & Oduro-Mensah, E. (2020). A review of chest radiographic patterns in mild to moderate novel corona virus disease 2019 at an urban hospital in Ghana. *Ghana Medical Journal*, 54(4), 46–51. <https://doi.org/10.4314/GMJ.V54I4S.8>
- Azab, A. E., Jbireal, J. M., Alzahani, S., & A. M. Yahya, R. (2021). Variation of COVID-19 Specific Immunoglobulin's and Some Inflammatory Factors in COVID-19 Patients in the Sabratha Isolation Center, Western Libya. *Biotechnology and Bioprocessing*, 2(7), 01–09. <https://doi.org/10.31579/2766-2314/053>
- Aziz, M., Fatima, R., & Assaly, R. (2020). Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: A meta-analysis. *Journal of Medical Virology*, 92(11), 2283–2285. <https://doi.org/10.1002/jmv.25948>
- Beckman Coulter, I. (2020). *SYNCHRON System ( s ) C-Reactive Protein INTENDED USE. February*, 1–12.
- Bivona, G., Agnello, L., & Ciaccio, M. (2021). Biomarkers for prognosis and treatment response in covid-19 patients. *Annals of Laboratory Medicine*, 41(6), 540–548. <https://doi.org/10.3343/ALM.2021.41.6.540>
- Blair, J. E., Gotimukul, A., Wang, F., Mina, S. A., Bartels, H. C., Burns, M. W., Kole, A. E., Vikram, H. R., Gea-Banacloche, J. C., Seville, M. T., Petty, S. A. B., Vikram, A., & Orenstein, R. (2021). Mild to moderate COVID-19 illness in adult outpatients. *Medicine*, 100(24), e26371. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000026371>
- Celik, I., Yadav, R., Duzgun, Z., Albogami, S., El-Shehawi, A. M., Fatimawali, Idroes, R., Tallei, T. E., & Emran, T. Bin. (2021). Interactions of the receptor binding domain of sars-cov-2 variants with hACE2: Insights from molecular docking analysis and molecular dynamic simulation. *Biology*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/biology10090880>
- Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., Wang, T., Zhang, X., Chen, H., Yu, H., Zhang, X., Zhang, M., Wu, S., Song, J., Chen, T., Han, M., Li, S., Luo, X., Zhao, J., & Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2620–2629. <https://doi.org/10.1172/JCI137244>
- Chen, X., Zhao, B., Qu, Y., Chen, Y., Xiong, J., Feng, Y., Men, D., Huang, Q., Liu, Y., Yang, B., Ding, J., & Li, F. (2020). Detectable Serum Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Load (RNAemia) Is Closely Correlated with Drastically Elevated

- Interleukin 6 Level in Critically Ill Patients with Coronavirus Disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 71(8), 1937–1942. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa449>
- Clinical Chemistry - Abbott Laboratories. (2017). *Architect B·R·a·H·M·S Pct. June*, 12.
- Coulter, B. (n.d.). *Analizador de Química AU5800 Beckman Coulter*. <https://www.beckmancoulter.com/es/products/chemistry/au5800>
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17(3), 181–192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Dong, X., Sun, L., & Li, Y. (2020). Prognostic value of lactate dehydrogenase for in-hospital mortality in severe and critically ill patients with covid-19. *International Journal of Medical Sciences*, 17(14), 2225–2231. <https://doi.org/10.7150/ijms.47604>
- Farid, E., Sridharan, K., Alsegai, O. A. M., Khawaja, S. Al, Mansoor, E. J., Teraifi, N. A., Qahtani, M. Al, & Salman, J. Al. (2021). Utility of inflammatory biomarkers in patients with COVID-19 infections: Bahrain experience. *Biomarkers in Medicine*, 15(8). <https://doi.org/10.2217/bmm-2020-0422>
- Flores-Vega, V. R., Monroy-Molina, J. V., Jiménez-Hernández, L. E., Torres, A. G., Santos-Preciado, J. I., & Rosales-Reyes, R. (2022). SARS-CoV-2: Evolution and Emergence of New Viral Variants. *Viruses*, 14(4), 653. <https://doi.org/10.3390/v14040653>
- Francisco, L. (2020). *El MINSA y la CSS coordinan esfuerzos para mejorar capacidad instalada del Sistema Público de hospitales*.
- Franco, D., Gonzalez, C., Abrego, L. E., Carrera, J. P., Diaz, Y., Caicedo, Y., Moreno, A., Chavarria, O., Gondola, J., Castillo, M., Valdespino, E., Gaitán, M., Martínez-Mandiche, J., Hayer, L., Gonzalez, P., Lange, C., Molto, Y., Mojica, D., Ramos, R., ... Martinez, A. A. (2021). Early transmission dynamics, spread, and genomic characterization of SARS-CoV-2 in Panama. *Emerging Infectious Diseases*, 27(2), 612–615. <https://doi.org/10.3201/eid2702.203767>
- Gandhi, R. T., Lynch, J. B., & del Rio, C. (2020). Mild or Moderate Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 383(18), 1757–1766. <https://doi.org/10.1056/nejmcp2009249>
- García-Campana, A. M. (2001). Quimioluminiscencia: Una interesante alternativa para la detección analítica en sistemas de flujo. *Ars Pharmaceutica*, 42(1–2), 81–107.
- Gómez, N. F. P., Lobo, I. M., Cremades, I. G., Tejerina, A. F., Rueda, F. R., Teleki, A. von W., Campos, F. M. A., & Ángeles Sanz de Benito, M. (2020). Potential biomarkers predictors of mortality in COVID-19 patients in the emergency department. *Revista Espanola de Quimioterapia*, 33(4), 267–273. <https://doi.org/10.37201/req/060.2020>
- Grifoni, E., Valoriani, A., Francesco, C., Landini, G., Vanni, S., & Massotti, L. (2020). Interleukin-6 as prognosticator in patients with COVID-19. *Journal of Infection*, 81(3), 452–482. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.06.035>
- Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D. S. C., Du, B., Li, L., Zeng, G., Yuen, K.-Y., Chen, R., Tang, C., Wang, T., Chen, P., Xiang, J., ...

- Zhong, N. (2020). Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*, 382(18), 1708–1720. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2002032>
- Guarner, J. (2020). Three Emerging Coronaviruses in Two Decades: The Story of SARS, MERS, and Now COVID-19. *American Journal of Clinical Pathology*, 153(4), 420–421. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa029>
- Hageman, J. R., & Alkureishi, L. A. (2022). Omicron: A Variant of Concern? *Pediatric Annals*, 51(1), e1. <https://doi.org/10.3928/19382359-20211207-03>
- Halaji, M., Pournajaf, A., Sadeghi, F., Hasanzadeh, A., Chehrazi, M., Gholinia, H., Amiri, F. H., Amoli, S. S., Javanian, M., Bayani, M., Zavareh, M. S. H., Shokri, M., Babazadeh, A., Broun, M. B., Mohammadi, M., Mehdinezhad, H., Monadi, M., Maleh, P. A., Nouri, H. R., ... Yahyapour, Y. (2022). One-year prevalence and the association between SARS-CoV-2 cycle threshold, comorbidity and outcomes in population of Babol, North of Iran (2020-2021). *Caspian Journal of Internal Medicine*, 13(March), 244–253. <https://doi.org/10.22088/cjim.13.0.244>
- Han, Y., Zhang, H., Mu, S., Wei, W., Jin, C., Tong, C., Song, Z., Zha, Y., Xue, Y., & Gu, G. (2020). Lactate dehydrogenase, an independent risk factor of severe COVID-19 patients: A retrospective and observational study. *Aging*, 12(12), 11245–11258. <https://doi.org/10.18632/aging.103372>
- Henry, B. M., Aggarwal, G., Wong, J., Benoit, S., Vikse, J., Plebani, M., & Lippi, G. (2020). *Lactate dehydrogenase levels predict coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity and mortality: A pooled analysis. January.*
- Herold, T., Jurinovic, V., Arnreich, C., & Lipworth, B. J. (2020). *Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. January.*
- Hokello, J., Sharma, A. L., Shukla, G. C., & Tyagi, M. (2020). A narrative review on the basic and clinical aspects of the novel SARS-CoV-2, the etiologic agent of COVID-19. *Annals of Translational Medicine*, 8(24), 1686–1686. <https://doi.org/10.21037/atm-20-5272>
- Hsu, P. P., & Sabatini, D. M. (2008). Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. *Cell*, 134(5), 703–707. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.08.021>
- Hu, R., Han, C., Pei, S., Yin, M., & Chen, X. (2020). Procalcitonin levels in COVID-19 patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(2), 8–10. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106051>
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Islam, K. U., & Iqbal, J. (2020). An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(November), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.560616>

- Jacobsen, H., & Klein, S. L. (2021). Sex Differences in Immunity to Viral Infections. *Frontiers in Immunology*, 12(August), 26–29. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.720952>
- Jahrami, H., BaHammam, A. S., Bragazzi, N. L., Saif, Z., Faris, M., & Vitiello, M. V. (2021). Sleep problems during the COVID-19 pandemic by population: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 17(2), 299–313. <https://doi.org/10.5664/JCSM.8930>
- Jaime, A. G., & Gabriela, A. L. (2020). SARS-CoV-2: structure, replication and physiopathological mechanisms related to COVID -19. *Gaceta Medica Boliviana*, 43(2), 170–178. <https://doi.org/10.47993/gmb.v43i2.85>
- Jain, S., Meena, R., Kumar, V., Kaur, R., & Tiwari, U. (2022). Comparison of hematologic abnormalities between hospitalized coronavirus disease 2019 positive and negative patients with correlation to disease severity and outcome. *Journal of Medical Virology*, January, 3757–3767. <https://doi.org/10.1002/jmv.27793>
- Jalali Nadoushan, M., Ahmadi, S., Jalali Nadoushan, P., Azzi, L., Carcano, G., Gianfagna, F., Grossi, P., Gasperina, D. D., Genoni, A., Fasano, M., Sessa, F., Tettamanti, L., Carinci, F., Maurino, V., Rossi, A., Tagliabue, A., Baj, A., Chang, L., Yan, Y., ... Fain, M. J. (2020). Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทยในพระอุปถัมภ์ฯ*, 10(4), 0–4. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25727> <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001> <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005> <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022> <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433> <https://doi.org/10.1016/j.tmr.v.2020.0>
- Juneja, R., Gadkari, R., Meshram, N., & Selvaraj, K. (2022). Haematology audit of 801 COVID-19 patients' basics and beyond- Prospective observational study. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 6(2), 169–170. <https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe>
- Kazancioglu, S., Bastug, A., Ozbay, B. O., Kemirtlek, N., & Bodur, H. (2020). The Role of Hematological Parameters in Patients with Coronavirus Disease 2019 and Influenza Virus Infection. *Epidemiology and Infection*. <https://doi.org/10.1017/S095026882000271X>
- Kermali, M., Khalsa, R. K., Pillai, K., Ismail, Z., & Harky, A. (2020). *The role of biomarkers in diagnosis of COVID-19 – A systematic review*. January.
- Kin, N., Mischczak, F., Lin, W., Ar Gouilh, M., Vabret, A., & Consortium, E. (2015). Genomic analysis of 15 human coronaviruses OC43 (HCoV-OC43s) circulating in France from 2001 to 2013 reveals a high intra-specific diversity with new recombinant genotypes. *Viruses*, 7(5), 2358–2377. <https://doi.org/10.3390/v7052358>
- Komurcuoglu, B., Susam, S., Batum, Ö., Turk, M. A., Salik, B., Karadeniz, G., & Senol, G. (2022). Correlation between chest CT severity scores and clinical and biochemical parameters of COVID-19 pneumonia. *Clinical Respiratory Journal*, 16(7), 497–503. <https://doi.org/10.1111/crj.13515>
- Laiton-Donato, K., Franco-Muñoz, C., Álvarez-Díaz, D. A., Ruiz-Moreno, H. A., Usme-Ciro, J.

- A., Prada, D. A., Reales-González, J., Corchuelo, S., Herrera-Sepúlveda, M. T., Naizaque, J., Santamaría, G., Rivera, J., Rojas, P., Ortiz, J. H., Cardona, A., Malo, D., Prieto-Alvarado, F., Gómez, F. R., Wiesner, M., ... Mercado-Reyes, M. (2021). Characterization of the emerging B.1.621 variant of interest of SARS-CoV-2. *Infection, Genetics and Evolution*, 95(May). <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105038>
- Latifi-pupovci, H., Namani, S., Ahmetaj-shala, B., Pajaziti, A., Bunjaku, G., Berisha, L. A., Gegaj, V., & Kotori, A. (2022). *Biomarkers of Inflammation among Patients with COVID-19 : A Single-Centre Prospective Study from Prishtina , Kosovo. 2022.*
- Lednicky, J. A., Tagliamonte, M. S., White, S. K., Elbadry, M. A., Alam, M. M., Stephenson, C. J., Bonny, T. S., Loeb, J. C., Telisma, T., Chavannes, S., Ostrov, D. A., Mavian, C., De Rochars, V. M. B., Salemi, M., & Morris, J. G. (2021). Emergence of porcine delta-coronavirus pathogenic infections among children in Haiti through independent zoonoses and convergent evolution. *MedRxiv: The Preprint Server for Health Sciences*. <https://doi.org/10.1101/2021.03.19.21253391>
- Li, C., Noreen, S., Zhang, L., Saeed, M., & Wu, P. (2020). *A critical analysis of SARS-CoV-2 (COVID-19) complexities, emerging variants, and therapeutic interventions and vaccination strategies. January.*
- Lin, L., Liu, Y., Tang, X., & He, D. (2021). The Disease Severity and Clinical Outcomes of the SARS-CoV-2 Variants of Concern. *Frontiers in Public Health*, 9(January), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.775224>
- Liu, F., Li, L., Xu, M. Da, Wu, J., Luo, D., Zhu, Y. S., Li, B. X., Song, X. Y., & Zhou, X. (2020). Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *Journal of Clinical Virology*, 127(April), 104370. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104370>
- Liu, T., Zhang, J., Yang, Y., Ma, H., Li, Z., Zhang, J., Cheng, J., Zhang, X., Zhao, Y., Xia, Z., Zhang, L., Wu, G., & Yi, J. (2020). The role of interleukin-6 in monitoring severe case of coronavirus disease 2019. *EMBO Molecular Medicine*, 1–12. <https://doi.org/10.15252/emmm.202012421>
- Liu, Y., Sun, W., Guo, Y., Chen, L., Zhang, L., Zhao, S., Long, D., & Yu, L. (2020). Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. *Platelets*, 31(4), 490–496. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1754383>
- Luo, M., Guo, L., Yu, M., & Wang, H. (2020). The psychological and mental impact of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on medical staff and general public – A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Research*, 291(April), 113190. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2020.113190>
- Mao, J., Dai, R., Du, R. C., Zhu, Y., Shui, L. P., & Luo, X. H. (2021). Hematologic changes predict clinical outcome in recovered patients with COVID-19. *Annals of Hematology*, 100(3), 675–689. <https://doi.org/10.1007/s00277-021-04426-x>
- Martha, J. W., Wibowo, A., & Pranata, R. (2021). Prognostic value of elevated lactate

- dehydrogenase in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Postgraduate Medical Journal*, 1–6. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-139542>
- Melo, A. K. G., Milby, K. M., Caparroz, A. L. M. A., Pinto, A. C. P. N., Santos, R. R. P., Rocha, A. P., Ferreira, G. A., Souza, V. A., Valadares, L. D. A., Vieira, R. M. R. A., Pileggi, G. S., & Trevisani, V. F. M. (2021). Biomarkers of cytokine storm as red flags for severe and fatal COVID-19 cases: A living systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 16(6 June), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253894>
- Miguel-Bayarri, V., Casanoves-Laparra, E. B., Pallás-Beneyto, L., Sancho-Chinesta, S., Martín-Osorio, L. F., Tormo-Calandín, C., & Bautista-Rentero, D. (2012). Valor pronóstico de los biomarcadores procalcitonina, interleukina 6 y proteína C reactiva en la sepsis grave. *Medicina Intensiva*, 36(8), 556–562. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2012.01.014>
- Minh, L. H. N., Abozaid, A. A. F., Ha, N. X., Le Quang, L., Gad, A. G., Tiwari, R., Nhat-Le, T., Quyen, D. K., AL-Manaseer, B., Kien, N. D., Vuong, N. L., Zayan, A. H., Nhi, L. H. H., Surya Dila, K. A., Varney, J., & Tien Huy, N. (2021). Clinical and laboratory factors associated with coronavirus disease 2019 (Covid-19): A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology*, 31(6), 1–15. <https://doi.org/10.1002/rmv.2288>
- MINSA, P. (2015). *INDICADORES GENERALES Y DE SALUD EN LA REPÚBLICA DE PANAMÁ. AÑOS 2000 - 2015*. MINSA. [file:///C:/Users/DELL/Downloads/indicadores\\_generales\\_2000\\_-2015.pdf](file:///C:/Users/DELL/Downloads/indicadores_generales_2000_-2015.pdf)
- Mishra, N. P., Das, S. S., Yadav, S., Khan, W., Afzal, M., Alarifi, A., kenawy, E.-R., Ansari, M. T., Hasnain, M. S., & Nayak, A. K. (2020). Global impacts of pre- and post-COVID-19 pandemic: Focus on socio-economic consequences. *Sensors International*, 1(September), 100042. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100042>
- National Institutes of Health. (2021). Treatment Guidelines Panel. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Nih*, 2019, 1–243. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/%0Ahttps://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
- Necho, M., Tsehay, M., Birkie, M., Biset, G., & Tadesse, E. (2021). Prevalence of anxiety, depression, and psychological distress among the general population during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Social Psychiatry*, 67(7), 892–906. <https://doi.org/10.1177/00207640211003121>
- Neuman, B. W., & Buchmeier, M. J. (2020). free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- Supramolecular Architecture of the Coronavirus Particle. *Resuscitation Plus*, January.
- Oliva Marin, J. E. (2020). Replicación y Patogénesis. *Alerta*, 3(2), 23–30. [https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/05/1095895/publicacion\\_anticipada\\_volumen3\\_numero2\\_23\\_30\\_sars-cov-2\\_orige\\_pPpMiR7.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/05/1095895/publicacion_anticipada_volumen3_numero2_23_30_sars-cov-2_orige_pPpMiR7.pdf)
- OMS. (n.d.). *La OMS caracteriza a COVID-19 como una pandemia*. <https://www.paho.org/es/noticias/11-3-2020-oms-caracteriza-covid-19-como-pandemia>

- OMS. (2022). *Seguimiento de las variantes del SARS-CoV-2*. Seguimiento de Las Variantes Del SARS-CoV-2. <https://www.who.int/es/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
- Paho.org. (2023). *Se acaba la emergencia por la pandemia, pero la COVID-19 continúa*. 06 de Mayo. <https://www.paho.org/es/noticias/6-5-2023-se-acaba-emergencia-por-pandemia-pero-covid-19-continua>
- Poggiali, E., Zaino, D., Immovilli, P., Rovero, L., Losi, G., Dacrema, A., Nuccetelli, M., Vadacca, G. B., Guidetti, D., Vercelli, A., Magnacavallo, A., Bernardini, S., & Terracciano, C. (2020). Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in CoVID-19 patients. *Clinica Chimica Acta*, 509(January), 135–138. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.06.012>
- Pujani, M., Raychaudhuri, S., Verma, N., Kaur, H., Agarwal, S., Singh, M., Jain, M., Chandoke, R. K., Singh, K., Sidam, D., Chauhan, V., Singh, A., & Katarya, K. (2021). Association of Hematologic biomarkers and their combinations with disease severity and mortality in COVID-19- an Indian perspective. *American Journal of Blood Research*, 11(2), 180–190. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34079633> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC8165721>
- Ramos Rojas, M. C., Cuaresma Cuadros, E. A., Cayo Castillo, J. J., & Monasterio Benique, D. A. (2022). Asociación de biomarcadores y severidad de COVID-19: estudio transversal. *Medwave*, 22(6). <https://doi.org/10.5867/medwave.2022.06.002548>
- Renu, K., Prasanna, P. L., & Valsala Gopalakrishnan, A. (2020). Coronaviruses pathogenesis, comorbidities and multi-organ damage – A review. *Life Sciences*, 255(April), 117839. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117839>
- Reserved, A. R. (n.d.). *Mythic™ 18 Vet Operator's Manual* (Vol. 41, Issue 0).
- Sayah, W., Berkane, I., Guermache, I., Sabri, M., Lakhali, F. Z., Yasmine Rahali, S., Djidjeli, A., Lamara mahammed, L., Merah, F., Belaid, B., Berkani, L., Lazli, N. Z., Kheddouci, L., Kadi, A., Ouali, M., Khellafi, R., Mekideche, D., Kheliouen, A., Hamidi, R. M., ... Djidjik, R. (2021). Interleukin-6, procalcitonin and neutrophil-to-lymphocyte ratio: Potential immune-inflammatory parameters to identify severe and fatal forms of COVID-19. *Cytokine*, 141(September 2020). <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155428>
- Sharma, P., Behl, T., Sharma, N., Singh, S., Singh, A., Albarrati, A., Albratty, M., Meraya, A. M., & Bungau, S. (2022). Biomedicine & Pharmacotherapy COVID-19 and diabetes: Association intensify risk factors for morbidity and mortality. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151(May), 113089. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113089>
- Singh, K., Mittal, S., Gollapudi, S., Butzmann, A., Kumar, J., & Ohgami, R. S. (2021). A meta-analysis of SARS-CoV-2 patients identifies the combinatorial significance of D-dimer, C-reactive protein, lymphocyte, and neutrophil values as a predictor of disease severity. *International Journal of Laboratory Hematology*, 43(2), 324–328. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13354>
- Systems, I. (2020). *Immunoassay Systems Instrucciones de uso*. 1–11.

- Tabassum, T., Rahman, A., Araf, Y., Ullah, M. A., & Hosen, M. J. (2021). Prospective selected biomarkers in COVID-19 diagnosis and treatment. *Biomarkers in Medicine*, 15(15), 1435–1449. <https://doi.org/10.2217/bmm-2021-0038>
- Tanaka, T., & Kishimoto, T. (2012). Targeting interleukin-6: All the way to treat autoimmune and inflammatory diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 8(9), 1227–1236. <https://doi.org/10.7150/ijbs.4666>
- Tao, K., Tzou, P. L., Nouhin, J., Gupta, R. K., de Oliveira, T., Kosakovsky Pond, S. L., Fera, D., & Shafer, R. W. (2021). The biological and clinical significance of emerging SARS-CoV-2 variants. *Nature Reviews Genetics*, 22(12), 757–773. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00408-x>
- Tegally, H., Wilkinson, E., Giovanetti, M., Iranzadeh, A., Fonseca, V., Giandhari, J., Doolabh, D., Pillay, S., San, E. J., Msomi, N., Mlisana, K., von Gottberg, A., Walaza, S., Allam, M., Ismail, A., Mohale, T., Glass, A. J., Engelbrecht, S., Van Zyl, G., ... de Oliveira, T. (2021). Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature*, 592(7854), 438–443. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03402-9>
- Thompson, D., Pepys, M. B., & Wood, S. P. (1999). The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*, 7(2), 169–177. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(99\)80023-9](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(99)80023-9)
- Torres Acosta, M. A., & Singer, B. D. (2020). Pathogenesis of COVID-19-induced ARDS: Implications for an ageing population. *European Respiratory Journal*, 56(3). <https://doi.org/10.1183/13993003.02049-2020>
- Udayar, S., Marella, K., & Naidu, S. (2022). Clinicoepidemiological profile of COVID-19 patients admitted at a teaching institute in a hilly area of India during the second wave—A retrospective observational study. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 6(2), 169–170. <https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc>
- Vaidyanathan, G. (2021). Coronavirus variants are spreading in India - what scientists know so far. *Nature*, 593(7859), 321–322. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01274-7>
- Vargas-vargas, M., & Cortés-rojo, C. (2020). Letter to the editor Ferritin levels and COVID-19. *Therapeutic Advances in Vaccines*, 9(5), 2019–2020.
- Villa Palacio, M. I., & López Henao, E. (2020). Alteraciones hematológicas en COVID-19. *Nova*, 18(35), 75–79. <https://doi.org/10.22490/24629448.4189>
- Villarreal, A., Rangel, G., Zhang, X., Wong, D., Britton, G., Fernandez, P. L., Pérez, A., Oviedo, D., Restrepo, C., Carreira, M. B., Sambrano, D., Eskildsen, G. A., De La Guardia, C., Flores-Cuadra, J., Carrera, J. P., Zaldivar, Y., Franco, D., López-Vergès, S., Zhang, D., ... Goodridge, A. (2021). Performance of a Point of Care Test for Detecting IgM and IgG Antibodies Against SARS-CoV-2 and Seroprevalence in Blood Donors and Health Care Workers in Panama. *Frontiers in Medicine*, 8(March), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.616106>
- Wacker, W. E., Ulmer, D. D., & Vallee, B. L. (1956). Metalloenzymes and myocardial

- infarction. II. Malic and lactic dehydrogenase activities and zinc concentrations in serum. *The New England Journal of Medicine*, 255(10), 450–456.
- Wang, G., Wu, C., Zhang, Q., Wu, F., Yu, B., Lv, J., Li, Y., Li, T., Zhang, S., Wu, C., Wu, G., & Zhong, Y. (2020). C-reactive protein level may predict the risk of COVID-19 aggravation. *Open Forum Infectious Diseases*, 7(5), 1–5. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa153>
- WHO, & Aylward, Bruce (WHO); Liang, W. (PRC). (2020). Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *The WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019, 2019*(February), 16–24. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Lam, C. S. F., Lau, C. C. Y., Tsang, A. K. L., Lau, J. H. N., Bai, R., Teng, J. L. L., Tsang, C. C. C., Wang, M., Zheng, B.-J., Chan, K.-H., & Yuen, K.-Y. (2012). Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavi. *Journal of Virology*, 86(7), 3995–4008. <https://doi.org/10.1128/jvi.06540-11>
- Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(13), 1239–1242. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>
- Yang, S., Hemarajata, P., Hilt, E. E., Price, T. K., Garner, O. B., & Green, N. M. (2021). Investigation of SARS-CoV-2 Epsilon Variant and Hospitalization Status by Genomic Surveillance in a Single Large Health System During the 2020-2021 Winter Surge in Southern California. *American Journal of Clinical Pathology*, June 2021, 649–652. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqab203>
- Ye, Q., Wang, B., & Mao, J. (2020). The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19. *Journal of Infection*, January.
- Yu, J., Nie, L., Wu, D., Chen, J., Yang, Z., Zhang, L., Li, D., & Zhou, X. (2021). Prognostic Value of a Clinical Biochemistry-Based Nomogram for Coronavirus Disease 2019. *Frontiers in Medicine*, 7(January), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.597791>
- Zawilska, J. B., Lagodzinski, A., & Berezinska, M. (2021). COVID-19: from the structure and replication cycle of SARS-CoV-2 to its disease symptoms and treatment. *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 72(4), 479–501. <https://doi.org/10.26402/jpp.2021.4.01>
- Zhang, L., & Guo, H. (2020). Biomarkers of COVID-19 and technologies to combat SARS-CoV-2. *Advances in Biomarker Sciences and Technology*, 2, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.abst.2020.08.001>
- Zhang, W., Zhao, Y., Zhang, F., Wang, Q., Li, T., Liu, Z., Wang, J., Qin, Y., Zhang, X., Yan, X., Zeng, X., & Zhang, S. (2020). The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of

people with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): The experience of clinical immunologists from China. *Clinical Immunology*, 214(March), 108393. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108393>

Zhou, B., She, J., Wang, Y., & Ma, X. (2020). *Utility of Ferritin, Procalcitonin, and C-reactive Protein in Severe Patients with 2019 Novel Coronavirus Disease*. 1–12. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-18079/v1>

Zhu, Z., Cai, T., Fan, L., Lou, K., Hua, X., & Huang, Z. (2020). *Clinical value of immune-inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019*. January.

## ANEXOS

Modelo de formularios para la recolección de datos de los participantes del estudio

<b>Identificación única</b>	
<b>1. Información del recolector de datos</b>	
<b>Nombre del recolector de datos</b>	
<b>Institución al que pertenece el recolector de datos</b>	
<b>Número de teléfono del recolector de datos</b>	
<b>Número de teléfono móvil</b>	
<b>Email</b>	
<b>Fecha de cumplimentación del formulario (DD / MM / AAAA)</b>	___/___/___
<b>Fecha de entrevista con el informante (DD / MM / AAAA)</b>	___/___/___
<b>2. Información del informante</b>	
<b>CÓDIGO DE PARTICIPANTE</b>	
<b>Sexo</b>	<input type="checkbox"/> Hombre <input type="checkbox"/> Mujer <input type="checkbox"/> No conocida
<b>Fecha de nacimiento</b>	___/___/___
<b>Número de teléfono (móvil)</b>	
<b>Edad (años, meses)</b>	
<b>Email</b>	
<b>País de residencia</b>	
<b>Nacionalidad</b>	
<b>Origen étnico (opcional)</b>	
<b>Ocupación</b>	
<b>¿Ha tenido contacto con alguien con sospecha o confirmación de enfermedad por COVID-19?</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe  <b>En caso afirmativo, fechas del último contacto (DD / MM / AAAA):</b> ___/___/___
<b>¿Padece de alguna enfermedad crónica?</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe  <b>En caso afirmativo, especifique:</b> <input type="checkbox"/> Hipertensión arterial <input type="checkbox"/> Insuficiencia renal

	<input type="checkbox"/> Insuficiencia cardíaca <input type="checkbox"/> Insuficiencia respiratoria <input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Cáncer <input type="checkbox"/> Otros: _____
<b>3. Historial de síntomas</b>	
<b>En los últimos (X) meses, ¿ha tenido alguno de los siguientes síntomas?: COMENTARIO: (X) período para cubrir el tiempo transcurrido desde la aparición de la enfermedad de COVID-19 hasta la fecha de recopilación de datos</b>	
<b>Fiebre <math>\geq 38^{\circ}</math> C</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Escalofríos</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Fatiga</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Dolor muscular (mialgia)</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Dolor de garganta</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Tos</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Secreción nasal (rinorrea)</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Dificultad respiratoria (disnea)</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Respiración sibilante</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Dolor de pecho</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Otros síntomas respiratorios</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <b>Especifique:</b> _____
<b>Dolor de cabeza</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Náuseas/ vómitos</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Dolor abdominal</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>Diarrea</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
<b>¿Alguno de estos síntomas requirió que buscara atención médica?</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe
<b>¿Alguno de estos síntomas requiere que falte al trabajo o la escuela?</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe
<b>¿Alguno de estos síntomas requirió que fuera hospitalizado?</b>	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No sabe

## Formulario 2: Formulario de resultados de laboratorio

<b>Métodos y resultados de pruebas serológicas (complete una nueva tabla para cada muestra recolectada), realizado por _____:</b>	
<b>Número de identificación del laboratorio</b>	
<b>Fecha de recolección de la muestra (DD / MM / AAAA)</b>	(DD / MM / AAAA) ___ / ___ / ___
<b>Fecha de recepción de la muestra (DD / MM / AAAA)</b>	(DD / MM / AAAA) ___ / ___ / ___
<b>Tipo de muestra</b>	<input type="checkbox"/> Suero

	<input type="checkbox"/> <b>Otro, especifique:</b>
<b>Tipo de ensayo serológico</b>	
<b>Resultado de serología</b>	<input type="checkbox"/> <b>Positivo</b> <input type="checkbox"/> <b>Negativo</b> <input type="checkbox"/> <b>No determinado</b>
<b>Otra metodología para medir SARS-CoV-2</b>	
<b>Fecha de resultado (DD / MM / AAAA)</b>	___ / ___ / ___
<b>Muestra enviada para confirmación (rRT-PCR)</b> <b>- Fecha (DD / MM / AAAA)</b>	<input type="checkbox"/> <b>Sí</b> <input type="checkbox"/> <b>No</b> <b>Fecha (DD / MM / AAAA) ___ / ___ / ___</b>
<b>Resultado de la confirmación</b>	<input type="checkbox"/> <b>Positivo</b> <input type="checkbox"/> <b>Negativo</b> <input type="checkbox"/> <b>No determinado</b>