

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD
DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**“INDICE NEUTROFILO / LINFOCITOS, LACTATO
DESHIDROGENASA, PROTEINA C REACTIVA Y TASA DE
MORTALIDAD DE PACIENTES ANTIGENO REACTIVO COVID-19
HOSPITALIZADOS EN LA U.E. 410 HOSPITAL DE QUILLABAMBA”**

**Tesis para optar al Título Profesional de
Biólogo, presentada por:**

Bach. José Luis Ramírez Aparco

Asesora:

Mgt. Blga. Elsa Gladys Aguilar Ancori

Cusco – Perú

2022

Dedicatoria

A mi padre, Alipio Ramírez Bayona, quien, con su altísimo respeto por el valor de la educación, supo inspirarme desde muy niño mi pasión por el saber y el conocimiento. Por su amor y entrega por educarme y enviarme a la universidad sin importar aquellos momentos difíciles.

A mi madre, que en paz descansa, Rita Aparco Pariona, por su amor maternal, protección y cuidado en mi infancia. Por ser la figura materna que necesite en mis peores momentos.

A mis hermanos Lucio, Beto, Jhonathan y Candy, por su confianza en mí como ser humano, en mi dedicación y compromiso. Por su apoyo emocional y económico en tiempos difíciles.

A las oportunidades y desavenencias de la vida, cuyas lecciones me ayudan a ser mejor que ayer, me mostraron caminos que elegí y aprendí de ellas en momentos de mucha penumbra, pero también de mucha luz.

A ti que nunca dejaste de animarme e insistir con la importancia de graduarme, y estar listo para las oportunidades. Al final, siempre tuviste razón.

Agradecimientos

A todos los que contribuimos con el Estado peruano para que la educación superior pública sea posible, gracias al cual pude educarme como profesional Biólogo en mi alma mater de formación académica: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

A la prestigiosa Escuela Profesional de Biología, que gracias a su malla curricular diversa, científica y humanista, crearon en mí una vocación y curiosidad innata por el saber y el conocimiento de las ciencias.

A mi asesora Mgt. Elsa Gladys Aguilar Ancori, a quien siempre respeté y admiré su entrega y dedicación por la investigación y la enseñanza. Por su especial atención a mi tesis y pronta respuesta a todas mis inquietudes. Muchas gracias estimada docente.

A todos los académicos de primer nivel que crean y comparten conocimientos para el bien de la sociedad, y que además forman futuros profesionales en el campo de la biología. A los docentes que ya no están con nosotros, pero me dejaron grandes lecciones y me inculcaron el amor por las ciencias.

Finalmente quiero agradecer al Director del Hospital de Quillabamba, M.C. Jorge Canales Santander por autorizarme la ejecución de mi tesis de investigación en pacientes hospitalizados por COVID-19.

INDICE

Introducción.....	I
Problema de investigación.....	II
Justificación.....	III
Objetivos.....	IV
Hipótesis.....	V

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO.....	1
1.1.1. Estudios a nivel internacional.....	1
1.1.2. Antecedentes a nivel nacional.....	4
1.2. ASPECTOS GENERALES.....	6
1.2.1. Virus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2).....	6
1.2.1.1. Estructura viral del SARS-CoV-2.....	7
1.2.1.2. Organización genómica del SARS-CoV-2.....	9
1.2.2. Enfermedad por COVID-19.....	11
1.2.2.1. Clasificación clínica de la enfermedad.....	12
1.2.3. Pruebas de diagnóstico.....	13
1.2.3.1. Pruebas de anticuerpos en sangre.....	13
1.2.3.2. RT-PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa con transcriptasa inversa).....	15
1.2.3.3. Pruebas antigénicas para SARS-CoV-2.....	16
1.2.4. Marcadores de inflamación para COVID-19.....	17
1.2.4.1. Lactato deshidrogenasa (LDH).....	17

1.2.4.2. Proteína C reactiva (PCR).....	18
1.2.4.3. Índice de neutrófilos-linfocitos (INL).....	19

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de estudio.....	21
2.2. Materiales.....	21
2.2.1. Material biológico.....	21
2.2.2. Equipos.....	21
2.2.3. Material de vidrio	22
2.2.4. Reactivos.....	22
2.2.5. Equipos de protección personal.....	23
2.2.6. Materiales de escritorio.....	23
2.3. Métodos.....	23
2.3.1. Coordinación individual.....	23
2.3.2. Población de estudio.....	23
2.3.3. Prueba rápida antigénica para la detección de antígenos de SARS-CoV-2.....	24
2.3.4. Determinación del número de neutrófilos y linfocitos para el cálculo del índice neutrófilos-linfocitos (INL).....	27
2.3.4.1. Toma de muestra de sangre en tubo con y sin anticoagulante....	27
2.3.4.2. Conteo de leucocitos.....	27
2.3.4.3. Fórmula leucocitaria o conteo diferencial de leucocitos.....	30
2.3.4.4. Cálculo del índice neutrófilos / linfocitos.....	33
2.3.5. Determinación de la concentración de lactato deshidrogenasa (LDH)...	33

2.3.6. Determinación del valor cualitativo de proteína C reactiva en suero...	35
---	----

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características de los pacientes hospitalizados por COVID-19.....	37
3.2. Edades de pacientes con COVID-19 en relación al alta médica y fallecimiento.....	38
3.2.1. La edad en relación al fallecimiento y alta médica de pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba...	41
3.2.2. Capacidad pronóstica de la edad en la mortalidad de pacientes por COVID19.....	43
3.3. Índice neutrófilos-linfocitos (INL) y su relación con el alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.....	45
3.3.1. Índice de neutrófilos-linfocitos (INL) en relación al alta médica y a la mortalidad por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	47
3.3.2. Capacidad pronóstica del índice neutrófilos/linfocitos (INL) en la mortalidad de pacientes por COVID-19.....	49
3.4. Concentración de lactato deshidrogenasa (LDH) y su relación con el alta médica y mortalidad en pacientes hospitalizados por COVID-19.....	51
3.4.1. Concentración de LDH en relación al alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.....	54
3.4.2. Capacidad pronostica de la concentración de LDH en relación a la mortalidad por COVID-19.....	55
3.5. Valor cualitativo de Proteína C Reactiva (PCR) y su relación con el alta médica o mortalidad en pacientes hospitalizados por COVID-19.....	56

3.6. Análisis multivariado.....	60
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES.....	65
BIBLIOGRAFÍA.....	66
ANEXOS.....	78

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características de los pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba.....	37
Tabla 2: Pacientes con COVID-19 de acuerdo al grupo etario en relación al alta médica y fallecimiento en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	39
Tabla 3: Pacientes en alta médica y fallecidos de acuerdo al género.....	40
Tabla 4: Prueba t-student de la edad en relación al alta médica y al fallecimiento de pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	42
Tabla 5: Índices de neutrófilos-linfocitos en relación al alta médica y fallecimiento de pacientes con COVID-19 de la U.E. 410 Hospital Quillabamba...	45
Tabla 6: Prueba t-student del índice neutrófilos-linfocitos (INL) en relación al alta médica y fallecimiento de pacientes con COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	47
Tabla 7: Concentraciones de lactato deshidrogenasa y su relación con el alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.....	51
Tabla 8: Prueba t-student de las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH) en relación al alta médica y fallecimiento de pacientes con COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	54
Tabla 9: Proteína C reactiva en relación al alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados con COVID-19.....	57
Tabla 10: Análisis multivariado de variables independientes en relación a la mortalidad de pacientes por COVID-19.....	61

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Similitudes y diferencias entre los genomas de los coronavirus humanos.....	10
Figura 2: Estimación de detección de SARS-CoV-2 en test de anticuerpos y Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) en relación al tiempo de inicio de síntomas.....	14
Figura 3: Pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 de acuerdo al género en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	40
Figura 4: Distribución de las edades de los pacientes en el grupo de alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital Quillabamba.....	42
Figura 5: Sensibilidad y especificidad de la edad en la mortalidad por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital Quillabamba.....	44
Figura 6: Pacientes en alta médica y fallecidos por intervalo de índice de neutrófilo-linfocitos (INL) de la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	46
Figura 7: Distribución de los valores de INL en pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.....	48
Figura 8: Sensibilidad y especificidad del índice neutrófilos-linfocitos en la mortalidad por COVID-19.....	50
Figura 9: Pacientes en altas médicas y fallecidos de acuerdo a las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH) en pacientes con COVID-19 de la U.E. Hospital Quillabamba.....	52
Figura 10: Pacientes en altas médicas y fallecidos por cada intervalo de lactato deshidrogenasa (LDH) en pacientes con COVID-19 de la U.E. Hospital Quillabamba.....	53

Figura 11: Distribución de las concentraciones de LDH en pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. Hospital Quillabamba.....	55
Figura 12: Capacidad pronostica de LDH en relación a la mortalidad por COVID-19.....	56
Figura 13: Pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba	57
Figura 14: Pacientes con alta médica y fallecidos por categorías de PCR de la U.E. 410 Hospital de Quillabamba	58

Resumen

La enfermedad por COVID-19 está causada por el virus SARS-CoV-2. La OMS declaró pandemia el 11 de marzo de 2020. El Perú registra más de 2.1 millones de casos con más de 200mil fallecidos. La provincia de La Convención reporta más 20mil casos y más de 400 fallecidos. La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la relación entre el índice neutrófilos-linfocitos (INL), concentración de lactato deshidrogenasa (LDH), valor cualitativo de proteína C reactiva (PCR), y la mortalidad causada por el COVID-19 de 118 pacientes hospitalizados en U.E. 410 del Hospital de Quillabamba entre abril y mayo del 2021. Todos los pacientes seleccionados fueron reactivos a la prueba antigénica para SARS-CoV-2, a quienes se les realizaron exámenes de sangre para la determinación del INL, LDH y PCR. El 58.5% de todos los pacientes eran de sexo masculino. Fallecieron el 47.5%, de ellos, el 60.7% fueron de sexo masculino. El 82.1% de los fallecidos pertenecieron al grupo etario mayores de 60 años. El 94.6% de los pacientes fallecidos tenían valores de INL > 3.1 . En las curvas ROC se obtuvo un punto de corte de 6.5 para lograr una sensibilidad del 77.4% y especificidad 76.8% como capacidad pronóstica de mortalidad. El 94.6% de los pacientes fallecidos presentaron valores de LDH > 351 U/L. En las curvas ROC se obtuvo un punto de corte de 500.5 U/L para lograr una sensibilidad de 74.2%, y una especificidad de 87.5% como capacidad pronóstica de mortalidad. El 98.2% de los pacientes reportaron resultados de PCR entre (++) y (+++). Los factores más importantes para la mortalidad por COVID-19 fueron edad mayor a 60 años, altos niveles de INL, concentraciones elevadas de LDH y valores cualitativos de (++) o (+++) para PCR. En el análisis multivariado con las variables edad, sexo, INL, LDH y PCR, se observó que la edad, y LDH tienen impacto en la mortalidad y son estadísticamente significativos. La variable sexo ($OR=1.91$) y PCR (PCR++, $OR=18.69$; PCR+++, $OR=13.76$) constituyen factores de riesgo para la mortalidad por COVID-19.

Introducción

El SARS-CoV-2 es un tipo de coronavirus causante de la enfermedad COVID-19 caracterizado por neumonía atípica y distrés respiratorio. El primer paciente fue detectado por primera vez en Wuhan, China el 17 de noviembre del 2019 (Ma, 2020). Los contagios fueron en ascenso hasta que el 11 de marzo del 2020, la Organización Mundial de la Salud (2020) caracterizó a COVID-19 como una pandemia.

Los marcadores de inflamación habitualmente son utilizados como factores pronósticos en enfermedades infecciosas, cardiovasculares y oncológicas. En el caso de COVID-19 la gravedad de la enfermedad, está asociada al desequilibrio bioquímico de la respuesta del sistema inmunitario, el que conduce a un estado de hiperinflamación de los tejidos (Qin et al., 2020). Para evaluar el desarrollo de la enfermedad por COVID-19, es necesario el análisis de proteína C reactiva, lactato deshidrogenasa, y la relación de neutrófilos-linfocitos, etc. (Brookes, 2020). De esta manera, se valoran sus capacidades pronosticas con respecto a la mortalidad por COVID-19, logrando así una mayor eficacia en las estrategias de intervención clínica.

Nuestro estudio considera a las variables: índice neutrófilos-linfocitos (INL), lactato deshidrogenasa (LDH), y valor cualitativo de proteína C reactiva (PCR), los cuales se correlacionaron con la mortalidad por COVID-19. El estudio inició con la determinación de resultados *reactivos* a las pruebas rápidas antigénicas y toma de muestras sanguíneas a 118 pacientes hospitalizados previo consentimiento informado.

Problema de investigación

Desde el inicio de la pandemia a diciembre del 2021, la Organización Mundial de la Salud (OMS) registró más de 286.96 millones de contagios, y más de 5.44 millones de fallecidos a nivel mundial, mientras que en el continente americano se reportaron más de 98.2 millones de casos y 2.4 millones de fallecidos (Organización Mundial de la Salud, 2021). Asimismo, el Perú registró 2.21 millones de casos con 201,379 fallecidos (Ministerio de Salud, Perú., 2021), y la Provincia de La Convención reportó 19,494 casos y 400 fallecidos (Gerencia de Salud Cusco, 2021).

El SARS-CoV-2 desencadena una desregulación del sistema inmunitario, que se refleja en la alteración del número de leucocitos, los cuales están asociados a la hiperinflamación de los tejidos pulmonares, debido a las altas concentraciones de citoquinas y quimiocinas, y al aumento de lactato deshidrogenasa y la proteína C reactiva, que son liberadas al torrente sanguíneo luego de la infección vírica. Al respecto, el LDH, el INL y PCR son algunos marcadores de inflamación útiles para identificar el avance de la enfermedad en pacientes con COVID-19 (Rubio, 2020).

La evidencia estadística de que las variables estudiadas están correlacionadas con la mortalidad por COVID-19, necesita ser consolidada con más información, pero la reproducibilidad de otros estudios en las instituciones de Salud Públicas presenta algunos obstáculos, debido a una falta de un marco de responsabilidades académicas, y políticas de incentivos, que animen a los profesionales de la salud, a realizar estudios de investigación clínica. A pesar de lo mencionado, nuestra investigación pretende mejorar la utilidad de los marcadores de inflamación: INL, PCR y LDH respecto a su correlación con la mortalidad por COVID-19. Busca también aportar resultados estadísticos que contribuyan a mejorar las estrategias de intervención clínica.

Justificación

La determinación de la correlación existente entre el índice de neutrófilos-linfocitos (INL), concentración de lactato deshidrogenasa (LDH), valor cualitativo de la proteína C reactiva (PCR), y la mortalidad de pacientes por COVID-19, permitirá conocer si efectivamente las variables son estadísticamente significativas, y tienen potencial uso como herramientas de pronóstico de la enfermedad.

El entendimiento de la capacidad pronostica de estos valores ayuda a mejorar los criterios de atención en los pacientes. Se podría conocer con precisión que pacientes deberían ser referidos a otros hospitales de mayor complejidad, sin aumentar las probabilidades de muerte de los pacientes.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la relación entre el índice neutrófilos-linfocitos (INL), lactato deshidrogenasa (LDH), y proteína C reactiva cualitativa (PCR), y la mortalidad de pacientes reactivos a la prueba rápida antigénica para SARS-CoV-2, hospitalizados en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.

Objetivos específicos

1. Determinar la relación entre el índice de neutrófilos-linfocitos (INL) y la mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.
2. Determinar la relación entre la concentración de lactato deshidrogenasa (LDH) y la mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.
3. Determinar la relación entre el valor cualitativo de la proteína C reactiva (PCR) y la mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.
4. Determinar la relación multivariable entre la edad, índice neutrófilos-linfocitos, lactato deshidrogenasa, proteína C reactiva, con la mortalidad de pacientes por COVID-19.

Hipótesis

Existe una relación significativa entre el índice neutrófilos-linfocitos, lactato deshidrogenasa, y proteína C reactiva, y la mortalidad de pacientes antígeno reactivos COVID-19 hospitalizados en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes del estudio

1.1.1. Estudios a nivel internacional

Ayanian et al. (2020). Realizaron estudio retrospectivo con 299 pacientes, de los cuales fallecieron 71 (23.7%) en unidad de cuidados intensivos en un Hospital de Washington D.C. Describieron la asociación entre los biomarcadores: Dímero-D, proteína C reactiva, interleucina-6, ferritina, lactato deshidrogenasa; y el ingreso a UCI, intubación y mortalidad. Se observó que 254 pacientes tenían una concentración de LDH promedio 974 U/L, y 241 pacientes tenían un promedio de proteína C reactiva de 90 mg/l. Sus resultados indican que valores superiores a 1200 U/L para LDH, con OR de 8.0 (4.1 - 15.3) p-valor de 0.05; y valores superiores a 100mg/l de PCR con un OR de 6.0 (3.0; 12.0) p-valor de 0.05, están asociados a mortalidad. Se concluye que estos biomarcadores ayudan a identificar el deterioro de la salud en pacientes con COVID-19.

Basbus et al. (2020). En un estudio en el Hospital Universitario Privado de Buenos Aires, se consideraron 131 pacientes con COVID-19 en una cohorte retrospectiva entre los meses de marzo y mayo de 2020. Se considera al índice neutrófilos/linfocitos (INL) como un nuevo parámetro de medición en enfermedades oncológicas, infecciosas y cardiovasculares, por lo que en el estudio se evalúa su capacidad predictiva en la evolución de la enfermedad por COVID-19. Se estudiaron primero las características de la población, luego se evaluó la relación INL que sea mayor a 3 unidades en pacientes con COVID-19 grave, y también se determinó la tasa de mortalidad de esta enfermedad. La mediana de la edad fue de 52 años, el 54% fueron varones y 46% mujeres. Se observaron criterios de gravedad en 21 pacientes, en 9 de ellos fue necesario el uso de

respiradores mecánicos. El 81% de la población grave tuvo un INL ≥ 3 (18/21) mientras que solo el 33% (36/110) de la población leve presentó el INL ≥ 3 (OR = 8.74. IC del 95%: 2.74-27.86; $p < 0.001$). La gravedad de la enfermedad está relacionada con la edad principalmente y la hipertensión. La tasa de mortalidad en la cohorte asciende al 7%. En 7 de los 9 fallecidos se observó un INL ≥ 3 ($p = 0.03$). Se presume que el INL, en asociación con otros factores podría constituir una buena herramienta de predicción clínica.

Motta et al. (2020). Evaluaron los factores relacionados, y factores predictores de mortalidad de la enfermedad severa por COVID-19 en pacientes hospitalizados en la Fundación Cardioinfantil de Bogotá, entre marzo y junio de 2020. Se trata de un estudio de cohorte ambispectivo, donde se analizaron a 104 pacientes. El 31.7 % (n=33) mostró una infección grave, y el 9.6 % (n=10) falleció. El predictor de muerte más importante fue la clasificación de la enfermedad como grave, continuando con una edad mayor a 60 años, seguido de desnutrición. Se clasificó la enfermedad como grave cuando se observaron antecedentes de hemodiálisis (hazard ratio, HR=135), incremento en los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) (HR=1.004), y diabetes (HR=4.4). En conclusión, los predictores de mortalidad más importantes fueron la edad mayor a 60 años, diabetes, cirrosis e hipertensión arterial. Mientras que la enfermedad se consideró grave cuando se observó enfermedad renal crónica con hemodiálisis, aumento de las concentraciones de LDH y proteína C reactiva y leucocitosis.

Gutiérrez et al. (2020). Valor pronóstico de los marcadores bioquímicos en pacientes con COVID-19. En una investigación bibliográfica, se evaluó las capacidades pronosticas de algunos marcadores bioquímicos de inflamación relacionadas a la enfermedad COVID-19. Respecto a la proteína C reactiva, se ha observado que concentraciones mayores a 10mg/l están relacionadas a una mayor gravedad de la

enfermedad. Por otro lado, se ha observado alteraciones en las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH), proteínas totales y procalcitonina (PCT). Los incrementos de LDH por encima de 600 U/L, se relacionan con una mayor severidad de la enfermedad sugiriendo una mayor probabilidad de ingresar a UCI aumentando las posibilidades de deceso.

Ramos-Peñafiel et al. (2020). Se describe la utilidad de los índices neutrófilos/linfocitos (INL), monocitos/linfocitos (IML) y linfocitos/plaquetas (ILP) para el pronóstico de la mortalidad y soporte ventilatorio por COVID-19 en un estudio de cohorte retrospectiva de registros clínicos de pacientes con COVID-19 en el Hospital General de Cuautitlán, México. Se analizaron 125 casos, la edad media fue de 51 años, 60% varones, 21.6% padecía diabetes mellitus tipo 2 y 18.4% hipertensión. La media de leucocitos fue de $9.5 \times 10^3/uL$, y la de neutrófilos de $8.0 \times 10^3/uL$. La media de INL 12.1; del IML 0.442; del IPL 0.505. En el análisis univariado, encontraron que el $INL > 13$ (RM=2.750, $p=0.001$) e $IML > 0.5$ (RM=2.069, $p=0.047$) se asoció a mortalidad; ILP no mostró impacto en la mortalidad ni en el soporte respiratorio. Se concluye que el INL e IML son de utilidad para predecir la mortalidad en pacientes con COVID-19.

Rubio et al. (2020). Se describieron las características clínicas y parámetros de laboratorio en pacientes infectados con SARS-CoV-2, y se determinan algunos factores predictores de la progresión de la enfermedad. Estudio descriptivo, retrospectivo y de corte transversal realizado en el Hospital Universitario Virgen de Valme, Sevilla, España. Las variables fueron: datos demográficos, antecedentes personales, días hospitalización, progresión de neumonía, tratamiento clínico e indicadores analíticos. El estudio incluyó a 197 pacientes, 64.5% de ellos en condición leve y 35.5% en condición grave, de estos el 30% ingresaron a UCI, de los cuales fallecieron el 42.9% (9/21). Al ingreso hospitalario, los elementos predictores de la enfermedad se incluyeron en el análisis

multivariante, estos fueron gravedad de la enfermedad, edad avanzada, leucocitosis, altos niveles de proteína C reactiva (más de 90mg/l), gamma-glutamyltransferasa (GGT) y procalcitonina (PCT). Los elementos predictores de la gravedad de esta enfermedad fueron: edad, leucocitos, PCR, GGT y PCT los cuales permiten pronosticar la evolución de la enfermedad en los inicios de los síntomas.

Sirvent et al. (2020). En el Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Universitario de Girona Doctor Josep Trueta se analizaron factores de riesgo, datos demográficos, biomarcadores inflamatorios y factores predictivos de mortalidad en 168 pacientes intubados y con ventilación mecánica invasiva. Se utilizaron datos clínicos y analíticos en un estudio retrospectivo. Se elaboró curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para factores significativos y se construyó un modelo de regresión logística múltiple para estimar marcadores inflamatorios y datos demográficos como factores predictivos de mortalidad. En el análisis bivariado se observó que LDH y edad son factores predictivos independientes de mortalidad. En las curvas de supervivencia se observó que troponina T cardíaca se asoció a una menor supervivencia al ingreso a las UCI. En conclusión, la PCR, la LDH y la troponina-Ts fueron significativamente más altas en pacientes fallecidos. Se reportó una mortalidad del 28% de todos los pacientes de estudio.

1.1.2. Antecedentes a nivel nacional

Hueda-Zavaleta (2021). En una tesis de investigación realizada con 351 pacientes con diagnóstico de COVID-19 confirmado en el Hospital III Alcides Carrión en Tacna, se estudia las características demográficas, clínicas, de laboratorio y factores de riesgo de mortalidad en pacientes hospitalizados por COVID-19. Se trata de un estudio de cohorte retrospectivo en el que se utilizó el modelo de supervivencia Kaplan-Meier

para las variables independientes. Se empleó el modelo de riesgos proporcionales de Cox en el análisis de regresión que evalúa la asociación de características basales y la mortalidad hospitalaria. Fallecieron el 32,9% en quienes se observó linfocitosis, leucopenia, y un incremento de proteína C reactiva, dímero D, y lactato deshidrogenasa. En el análisis multivariado se observó que los factores asociados a mortalidad, fueron edad mayor a 65, lactato deshidrogenasa (LDH) superior a 720 U/L y saturación de oxígeno menor a 90%.

Luna (2021). En una tesis de grado en la Universidad Privada Antonio Orrego, UPAO, el autor realizó una investigación bibliográfica para determinar los factores clínicos, bioquímicos, y factores predictores de mortalidad en pacientes con COVID-19. La revisión incluyó plataformas como PubMed, LILACS, Hinari, Ebsco. El autor señala que la edad entre 40 y 60 años, un índice de neutrófilos-linfocitos superior a 3.13, una concentración de proteína C reactiva ($> 150\text{mg/L}$), y una concentración de troponina cardiaca I ($> 0.05\text{ng/ml}$) están relacionados a mal pronóstico de la enfermedad. Otros factores importantes son el incremento de enzimas cardiacas, plaquetopenia, aumento en el tiempo de protrombina, incremento del dímero-D, citoquinas como TNF-a, e IL-6.

Escobar et al. (2020). En un estudio con 14 pacientes fallecidos por COVID-19 en el área de emergencias del Hospital Rebagliati se investigó las características clínico-epidemiológicas. Se revisaron las historias clínicas para encontrar antecedentes, variables sociodemográficas, manifestaciones clínicas, etc. Los hallazgos de laboratorio más importantes fueron proteína C reactiva elevada (promedio 22mg/l) e hipoxemia. Se observó que el 78,6% fallecieron. Los factores de riesgo para la enfermedad fueron una edad mayor a 60 años, incremento de proteína C reactiva y linfocitopenia, entre.

Soca (2020). En el servicio de Medicina Interna del Hospital San José del Callao, se evalúa la capacidad predictiva de la relación neutrófilo-linfocito (INL) para diferenciar pacientes con neumonía de alto y bajo riesgo de complicaciones, basado en el índice de severidad de neumonía (PSI). Se trata de un estudio retrospectivo y transversal en el que se realizaron 84 pruebas diagnósticas entre los meses de enero y diciembre del 2019. Para el establecimiento de punto de corte, se utilizó la herramienta estadística “Receiver Operating Characteristics” (ROC), en el que se determinó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo. Y para determinar el rendimiento se estableció el área bajo la curva AUC (0.62, I.C. 95%: 0.53-0.70). El mejor punto de corte que mejor discrimina pacientes de alto y bajo riesgo es 17.4 con una sensibilidad de 35.30%, especificidad de 87.90%, valor predictivo positivo en 81.8%, y negativo de 46.80%.

1.2. Aspectos generales del SARS-CoV-2

1.2.1 Virus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo de tipo 2 (SARS-CoV-2)

Según el (International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), (2020) el SARS-CoV-2 se ubica en la siguiente categoría:

Dominio: *Riboviria*

Orden: *Nidovirales*

Suborden: *Cornidovirineae*

Familia: *Coronaviridae*

Subfamilia: *Orthocoronavirinae*

Género: *Betacoronavirus*

Sub género: *Sarbecovirus*

Especie: SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1

Los coronavirus humanos circulan libremente en la población y suelen causar enfermedades respiratorias leves, producen alrededor del 10% al 30% del resfriado común. Sin embargo, los coronavirus zoonóticos, circulan transitoriamente y pueden originar epidemias.

En cuanto al origen de este virus Andersen (2020) sostiene que, según estudios estructurales y bioquímicos, el SARS-CoV-2 se ha adaptado óptimamente para reconocer la proteína ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) el que funciona como receptor del virus en la membrana celular humana. Se ha observado también que la proteína del virus responsable de esta unión tiene un dominio de 6 aminoácidos, y tiene una alta afinidad por la unión a ACE2. Sin embargo, también este dominio tiene alta afinidad por la unión a ACE2 en hurones, gatos y otras especies. Por estas razones, se sostiene que el SARS-CoV-2 no tiene un origen artificial, sino que proviene de la selección natural.

1.2.1.1. Estructura viral del SARS-CoV-2

Respecto a la estructura viral, los coronavirus tienen forma esférica o irregular, envueltos, pleomórficos, con un diámetro aproximado de 125nm. El genoma está constituido por ARN simple, no segmentado, de polaridad positiva, con 30mil pares de bases de longitud. Existen 5 proteínas de relevancia biológica: S, M, N, E, y HE (Li et al., 2020).

La proteína S es una glicoproteína en forma de espícula, que le da forma de corona al virus, es también la responsable de mediar la unión al receptor ACE2 y facilita su unión con la membrana celular. Tiene un tamaño aproximado de 150 kDa, utiliza una secuencia de señal N-terminal para obtener acceso al retículo endoplasmático y está fuertemente glicosilada por enlaces N glucosídico. Los homotrómeros de la proteína S codificada por el virus, forman la estructura de espiga distintiva en la superficie del virus. En la mayoría

de los coronavirus, S se escinde por una proteasa similar a la furina de la célula huésped en dos polipéptidos separados denominados S1 y S2. S1 constituye el gran dominio de unión al receptor de la proteína S, mientras que S2 forma el tallo de la molécula espiga (Antezana & Arandia-Guzmán, 2020).

La proteína M es la más abundante y es una proteína estructural, pequeña (aproximadamente 30kDa) con 3 dominios transmembrana. Se cree que le da forma al virión. El dominio externo tiene un pequeño extremo N-terminal, mientras que el dominio interno tiene un extremo grande C-terminal. Estudios recientes sugieren que la proteína M existe como un dímero en el virión y puede adoptar dos conformaciones diferentes, lo que le permite promover la curvatura de la membrana y unirse a la nucleocápside (Neuman et al., 2011).

En cuanto a la proteína E, tiene un peso de 8 a 12kDa, se encuentra en pequeñas cantidades en el virión. Se cree que es una proteína transmembrana con un dominio externo N-terminal y un dominio interno C-terminal. La proteína E, permite el ensamblaje y liberación de los virus. La actividad de su canal iónico es necesaria para la patogénesis, pero no para la replicación (Fehr & Perlman, 2015).

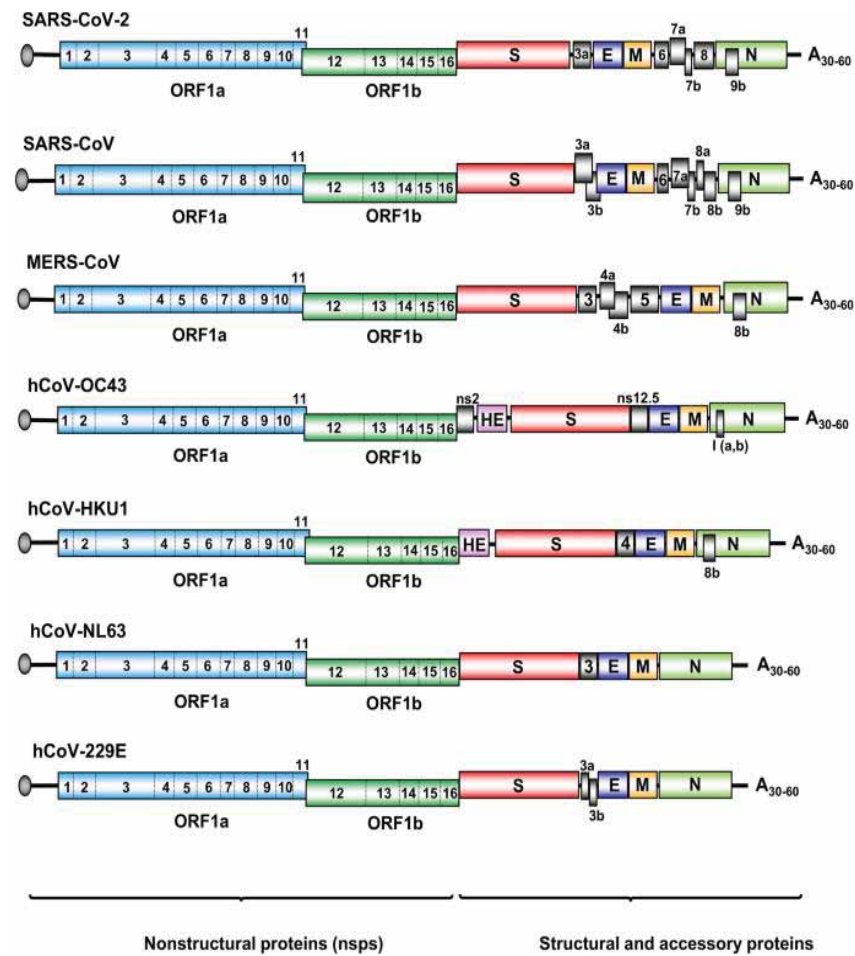
La proteína N, tiene un peso de 43 a 50kDa y es la única presente en la nucleocápside. La proteína N está fuertemente fosforilada en algunas serinas y treoninas, y se ha sugerido que la fosforilación tiene un rol regulatorio, facilitando un cambio estructural que mejora la afinidad de la proteína N por el ARN viral frente al no viral. La proteína N está unida al genoma viral en una conformación de tipo cuentas en una cuerda. Se ha reportado además que la proteína N se une al nsp3 para llevar el genoma al complejo replicasa-transcriptasa, y también participa en el empaquetado de la nucleocápside (Chang et al., 2005).

La hemaglutinina-esterasa (HE), está presente en un subconjunto de β -coronavirus. La proteína actúa como hemaglutinina, se une a los ácidos siálicos en las glicoproteínas de superficie y contiene actividad acetil-esterasa. Se cree que estas actividades mejoran la entrada de células mediada por la proteína S y la propagación del virus a través de la mucosa (Ravi et al., 2020).

1.2.1.2. Organización genómica del SARS-CoV-2

Como puede observarse en la Fig. 1, el SARS-CoV-2 tiene un genoma de ARN de sentido positivo no segmentado de aproximadamente 26 a 32 kb y contiene de 11 a 16 marcos abiertos de lectura (ORFs) que expresan las poliproteínas PP1a, y PP1ab, los cuales se clivan para generar proteínas no estructurales (Guo et al., 2020). El primer ORF (**ORF1a** \rightarrow ORF1 al ORF11; y, **ORF1b** \rightarrow ORF11 al ORF16) contiene aproximadamente el 67% del genoma y codifica 16 proteínas no estructurales (nsps1 al nsps16), mientras que los ORF restantes codifican proteínas accesorias y estructurales (S, N, M, E) (Kumar et al., 2020).

Figura 1: Similitudes y diferencias entre los genomas de los coronavirus humanos



Nota: Adaptado de *SARS-CoV-2: Desde su descubrimiento hasta la estructura del genoma, la transcripción y la replicación* por Ayslan et al. (2021), *Cell & Bioscience*, 11(1).

En la figura se observan las similitudes y diferencias entre los genomas de los coronavirus humanos. En el caso del SARS-CoV-2, el ARN tiene un extremo 5' y una cola poli-A (A30-60) en el extremo 3'. (Ayslan et al, 2021).

Las proteínas no estructurales están involucradas en la transcripción y replicación del RNA viral. La proteína nsps3 es responsable de la escisión y posterior liberación de nsp1, nsp2 y nsp3 de la región N-terminal de las poliproteínas 1a y 1ab. y además tiene la capacidad de unirse a las proteínas RIG-I, NEMO, TRAF6 de las células humanas para evitar la activación de sus factores de transcripción IRF3 y NF-kB que desencadenan una

respuesta inmunitaria. La proteína nsps5 tiene la capacidad de escindir más proteínas no estructurales desde nsps4 al nsps16 (Lam et al., 2021).

Entre las proteínas virales estructurales y accesorias, que se expresan a partir de sgRNA tenemos las proteínas S, M y E que se incorporan a la envoltura viral para la formación del virión. La proteína S trimérica en la envoltura viral se une específicamente a un receptor celular, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), para la entrada viral en las células susceptibles, y así inicia el primer paso de la infección viral. La serina proteasa 2 transmembrana de la célula huésped (TMPRSS2) sirve como una proteasa activadora de la proteína S (Walls et al., 2020). La proteína E crea un canal iónico en la membrana viral y probablemente desempeña un papel en la patogenicidad (Singh Tomar & Arkin, 2020). La proteína N se une al ARN genómico viral (ARNg) y empaqueta el ARNg como un complejo de ribonucleoproteína en los viriones, mientras que la proteína M es una glicoproteína transmembrana importante para la morfogénesis viral y la gemación al interactuar con las proteínas S, E y N (Arya et al., 2021). El número de proteínas accesorias codificadas por diferentes coronavirus sigue siendo objeto de debate, ya que sus potenciales de codificación se basan principalmente en la predicción bioinformática (Shang et al., 2020). Las proteínas accesorias son casi exclusivamente no esenciales para la replicación en cultivo de tejidos; sin embargo, se ha demostrado que algunos tienen un papel importante en la patogénesis viral (Acter et al., 2020).

1.2.2 Enfermedad por COVID-19

Enfermedad infecto contagiosa causada por el virus SARS-CoV-2, perteneciente a la familia de coronavirus. El virus apareció en noviembre del 2019, en la provincia de Hubei, ciudad de Wuhan, China. Desde entonces hasta diciembre del 2021 se ha cobrado la vida de 5.4 millones de personas en el mundo (Organización Mundial de la Salud, 2021), y 201 379 en el Perú (Ministerio de Salud, 2021).

1.2.2.1. Clasificación clínica de la enfermedad.

El Ministerio de Salud, Perú (2020) clasifica a los pacientes con COVID-19 en leves, moderados, graves y severos. Además, hace una descripción formal de cada caso.

Casos leves: Los pacientes leves, presentan al menos 2 de los siguientes síntomas:

- ✓ Tos
- ✓ Malestar general
- ✓ Dolor de garganta
- ✓ Fiebre
- ✓ Congestión nasal

También se pueden observar otros síntomas como pérdida del olfato y exantema.

Un caso leve, no requiere hospitalización, solo aislamiento domiciliario y seguimiento.

Los casos leves sin factores de riesgo no requieren seguimiento presencial, solo a distancia, mientras que los casos leves con factores de riesgo requieren seguimiento presencial además de distancia.

Casos moderados. Pacientes que cumplan alguno de los siguientes criterios:

- ✓ Disnea o dificultad respiratoria.
- ✓ Frecuencia respiratoria mayor a 22 por minuto.
- ✓ Saturación de oxígeno menor a 95%
- ✓ Alteración del nivel de conciencia (desorientación, confusión)
- ✓ Hipotensión arterial o shock.
- ✓ Signos clínicos y/o radiológicos de neumonía.
- ✓ Recuento de linfocitos menor a 1000 células /ul

Los casos moderados requieren hospitalización.

Casos severos: Pacientes que cumplen 2 o más de los siguientes criterios:

- ✓ Frecuencia respiratoria mayor a 22 respiraciones por minuto o PaCO₂ menor 32mmHg.
- ✓ Alteración del nivel de conciencia.
- ✓ Presión arterial sistólica menor a 100 mmHg o Presión Arterial Media (PAM) menor a 65 mmHg
- ✓ PaO₂ < 60 mmHg o PaFi < 300
- ✓ Signos clínicos de fatiga muscular: aleteo nasal, uso de músculos accesorios, desbalance tóraco-abdominal.
- ✓ Lactato sérico > 2 mosm/L

Los casos severos requieren hospitalización y manejo en área de cuidados intensivos.

1.2.3 Pruebas de diagnóstico de COVID-19

1.2.3.1. Pruebas de anticuerpos en sangre.

El Instituto Nacional de Salud, Perú (2021) establece algunas pautas para las pruebas de anticuerpos en sangre y describe sus principios. Las pruebas detectan la presencia de anticuerpos IgM/IgG contra el SARS-CoV-2 en una muestra de sangre. En la mayoría de los pacientes infectados se detectan anticuerpos específicos de uno o varios isotipos, neutralizantes o no, en los primeros 15 días después del inicio de la clínica. Respecto a la evidencia parece razonable asumir que los anticuerpos protegen frente a reinfecciones durante un tiempo no definido, no obstante, se desconoce los niveles de anticuerpos protectores.

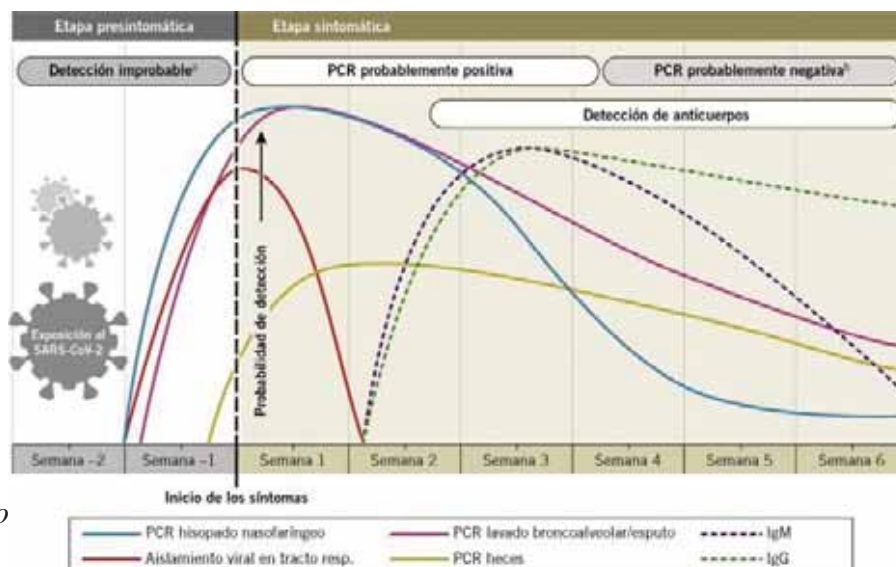
La detección de anticuerpos puede ayudar a identificar pacientes que han sido infectados previamente, así como a diagnosticar infección reciente sintomática a partir de 3 - 4 semanas. El punto óptimo para determinar anticuerpos IgM sería a los 8 - 14 días

de iniciado los síntomas, mientras que tras 15 - 21 días se realizaría la seroconversión a IgG (Zhao et al., 2020).

Comparado con la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR), la prueba de detección de anticuerpos combinados IgG e IgM mostró una sensibilidad de 77.1% y especificidad de 98.0% para el diagnóstico para SARS-CoV-2 (Pellanda et al., 2020).

En la figura 2, puede observarse las probabilidades de detección del SARS-CoV-2 utilizando diferentes pruebas de diagnóstico: PCR y test de anticuerpos. Asimismo, se aprecia la probabilidad de detección dependiendo de la muestra analizada, por ejemplo: hisopado nasofaríngeo, aislamiento viral en tracto respiratorio, PCR en lavado alveolar, PCR en heces, y detección de anticuerpos IgM/IgG.

Figura 2: Estimación de detección de SARS-CoV-2 en test de anticuerpos y Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) en relación al tiempo de inicio de síntomas.



Adaptado

V-2 por

Sethuraman et al., (2020). Estimación variable de la detección en test del SARS-CoV-2 en relación con el tiempo de inicio de los síntomas. Los intervalos de tiempo y las tasas de detección viral están basados en ensayos de varios artículos publicados. Debido a la

variabilidad entre los estudios, los intervalos de tiempo deben considerarse aproximaciones, siendo la probabilidad de detección del SARS-CoV-2 una medida cualitativa.

1.2.3.2. Pruebas antigénicas para SARS-CoV-2.

Las pruebas antigénicas determinan la presencia de los dominios S1 y S2 de la proteína S del virus SARS-CoV-2. La sensibilidad es menor que las pruebas que detectan el genoma viral. La ventaja de estas pruebas es que en general requieren de menos de 30 minutos para dar un resultado, pueden ser utilizadas directamente en puntos de atención (primer nivel de atención), con poco o sin ningún equipamiento adicional. Poseen una adecuada especificidad y ayudan en el diagnóstico para la atención de poblaciones que viven en lugares con barreras para uso de técnicas moleculares, contribuyendo a la atención comunitaria mediante el aislamiento de casos diagnosticados. Dentro de las desventajas, un resultado no reactivo no permite descartar la infección por virus SARS-CoV-2 y requiere del uso de técnicas moleculares para su reconfirmación. Algunas pruebas antigénicas requieren la incorporación de tecnología, por ejemplo, un lector de prueba rápida por inmunofluorescencia.

En cuanto a la sensibilidad y especificidad de las pruebas antigénicas, diferentes estudios muestran cierta variabilidad en los resultados. En el estudio de Jegerlehner (2021) mostraron que la sensibilidad y especificidad de esta prueba en comparación a la prueba de PCR, fueron de 65.3% (95% I.C. 56.8–73.1), y 99.9% (95% I.C. 99.5–100.0) respectivamente. En pacientes asintomáticos, demostraron una sensibilidad de 44% (95% I.C. 24.4–65.1). Mientras que en un estudio de Mercado & Zabaleta (2020) indican que la sensibilidad promedio fue de 83.3% (95% I.C. 66.4 - 92.6) cuando fueron utilizadas dentro de los 11 días del inicio de los síntomas y que otros estudios de validación han reportado resultados de sensibilidad en orden del 84% al 97%, que dependen

fundamentalmente de la presencia de síntomas y del momento de la toma de muestra a partir del inicio de los mismos.

1.2.3.3. RT-PCR (Reacción en cadena de polimerasa con transcriptasa inversa)

Las pruebas moleculares buscan identificar secuencias específicas del agente patógeno, antes del desarrollo de la enfermedad, durante e incluso después de la recuperación. Permite la identificación, detección y cuantificación de ARN, utilizando este como molde para sintetizar ADN complementario (ADNc), el cual a su vez constituye la plantilla para una reacción de PCR en tiempo real. El aumento exponencial en las copias de ADN se ve reflejado en la aparición de fluorescencia cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de ADN en la muestra, haciendo que esta reacción sea altamente sensible a unas bajas concentraciones de ácidos nucleicos virales (Mullis K.B., 1990).

Las dianas que se emplean para la detección específica del genoma del SARS-CoV-2 por RT-PCR en tiempo real se encuentran en las regiones ORF1a, RdRp, N, S y E del ARN viral. Los científicos enfatizan que la selección de estos blancos genómicos se debe a que son regiones persistentes en los coronavirus, pero con ciertas porciones específicas para SARS-CoV-2. Las muestras recomendadas para el diagnóstico del SARS-CoV-2 por RT-PCR son las del tracto respiratorio superior como el exudado nasofaríngeo (Sakr et al., 2021).

En cuanto a la sensibilidad y especificidad de las pruebas, por el momento se dice que la sensibilidad es del 49.0% - 99.2% y una especificidad de 94.2% - 100%, por lo que ha sido considerada la técnica de elección y referencia para el diagnóstico de COVID-19. No se ha evidenciado reacción cruzada (Mistry et al., 2021).

1.2.4 Marcadores de inflamación para COVID-19

Un meta-análisis de 19 estudios observacionales que involucran a casi 3000 pacientes con COVID-19 confirmados, encontró que las características de laboratorio más comunes reportadas fueron la disminución de la albúmina sérica (76%), proteína C reactiva elevada (58%), LDH elevado (57%), linfopenia (43%) y ESR elevado (42%). Otra revisión de ocho estudios más pequeños informó de anomalías similares en los pacientes con COVID-19, es decir, linfopenia (35% -75%), PCR elevada (75-93%), LDH elevada (27%-92%) y tasa de sedimentación eritrocitaria (ESR) (hasta el 85% de los casos) y bajas concentraciones de albúmina sérica (50%-98%), así como un aumento del dímero D (36%-43%) y baja hemoglobina (41-50%). Otras anormalidades reportadas fueron aumentos en la neutropenia, bilirrubina total, creatinina, troponina cardíaca, TP y PCT (Brookes, 2020).

1.2.4.1. Lactato deshidrogenasa (LDH).

La LDH es una enzima intracelular, que se encuentra en el citoplasma de la mayoría de células del cuerpo humano, especialmente en el corazón, hígado, riñones, músculos, glóbulos rojos, cerebro y pulmones, con una actividad 500 veces superior a la del plasma, entonces una pequeña lesión incrementa su concentración sérica. La elevación de los niveles de LDH en el plasma sanguíneo evidencia la salida de esta enzima al espacio extracelular, lo que se produce cuando hay muerte celular. Por lo tanto, los niveles elevados de LDH, indican daño tisular o necrosis celular (Gonzalez, 2019).

La concentración de lactato deshidrogenasa en plasma se eleva en muchos procesos: anemia megaloblástica, leucemia aguda, traumatismo, intervenciones quirúrgicas, procesos cancerosos, alteraciones hepáticas y renales. Incluso en la malnutrición, la deshidratación, intoxicación bacteriana, etc. Esta enzima corresponde a la categoría de las oxidorreductasas, dado que cataliza una reacción redox, en la que el

piruvato es reducido a lactato gracias a la oxidación de NADH a NAD⁺. Dado que la enzima también puede catalizar la oxidación del hidroxibutirato, ocasionalmente es conocida como hidroxibutirato deshidrogenasa (HBD) (Fuentes et al., 1998).

Lactato deshidrogenasa presenta 2 subunidades (M y H) que pueden asociarse en tetrámeros al azar, en el cuerpo existen en total 5 isoenzimas diferentes de la LDH (LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4, LDH-5). Bioquímicamente la subunidad H presenta más residuos ácidos que residuos básicos que la subunidad M por eso presenta una fuerte carga negativa. Esta propiedad es aprovechada para la separación de las isoenzimas por electroforesis. La mayor velocidad de corrida corresponde a la isoenzima LDH-1, compuesta por cuatro subunidades H (H₄) y la menor velocidad a la isoenzima LDH-5, compuesto por cuatro subunidades M (M₄). El tipo de isoenzima encontrada aporta indicios acerca del lugar de la lesión celular porque los respectivos genes tienen una expresión muy diferente en los distintos órganos. Así el hígado y los músculos esqueléticos presentan predominantemente subunidades M (M de músculo) de la LDH, mientras que el cerebro y el músculo cardíaco expresan predominantemente subunidades H (H de heart). (Koolman & Rohm, 2004). En el estudio, únicamente se midió la concentración de lactato deshidrogenasa sin considerar los tipos de isoenzimas.

1.2.4.2. Proteína C Reactiva (PCR)

Fue descubierto inicialmente por Tillet y Francis durante su investigación con suero de pacientes que tenían una infección aguda por *Neumococo*. Fue conocida por su capacidad de reacción con la pared celular, específicamente con el polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae*. Se trata de una proteína pentamérica, de la fase aguda de inflamación, altamente conservada, conocida por su gran habilidad para unir y precipitar la pared celular del neumococo (Tillet & Francis, 1930).

Fue la primera proteína inflamatoria de fase aguda conocida. Es un buen biomarcador de daño tisular e inflamación sistémica. Desde su descubrimiento es bastante utilizado en la ámbito clínico para estados de trauma, infecciones, inflamaciones, pre y post-operatorios, enfermedades cardiacas, y otras condiciones patológicas (Waliza & Shyamasree, 2020).

En pruebas clínicas, se ha observado que las concentraciones de proteína C reactiva cambian significativamente en pacientes severos con COVID-19. La proteína C reactiva se produce en el hígado. En la sangre la concentración normal es menos de 10mg/L. Sin embargo, aumenta rápidamente dentro de las 6 a 8 horas y alcanza su pico máximo a las 48 horas desde la enfermedad en adelante. Su vida media es de 19 horas y su concentración va disminuyendo cuando la inflamación termina y el paciente va mejorando. La proteína C reactiva se une a las fosfolinas que se expresan en células dañadas. Esta unión desencadena la ruta de complemento del sistema inmune y regula la actividad fagocítica, eliminando la infección y el daño celular (Ali, 2020).

1.2.4.3. Índice Neutrófilos - Linfocitos (INL)

Se trata de un parámetro leucocitario que se obtiene al dividir el número absoluto de neutrófilos y linfocitos. Se ha estudiado en el cáncer como predictores de inflamación, disfunción endotelial, riesgo cardiovascular, mortalidad, supervivencia y recurrencia. Asimismo, en otras enfermedades como, diabetes mellitus, hipertensión arterial, síndromes coronarios, enfermedad cerebrovascular, tromboembolia pulmonar, entre otros. Estos índices utilizan elementos sencillos como el recuento de las diversas líneas celulares. La principal desventaja se observa en la necesidad de obtener puntos de corte, ya que suelen variar de una población a otra. Se han reportado valores del INL mayores a 10 en casos de sepsis, mayores a 5 en patologías oncológicas y mayores a 3 en enfermedades cardiovasculares severas (Carpio-Orantes et al., 2020).

Inicialmente, se confirmó que la relación basal de neutrófilos-linfocitos es un potencial indicador de pronóstico a corto plazo en pacientes con insuficiencia hepática aguda por hepatitis B crónica (Liu et al., 2013). Y basándose en este estudio es que (J. Liu et al., 2020) estudiaron la capacidad pronóstica del índice neutrófilos-linfocitos (INL) en pacientes con COVID-19, donde reportaron linfopenia y neutrofilia. El índice neutrófilo-linfocito es considerado un factor predictor en el desarrollo de la enfermedad por COVID-19.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de estudio

El estudio se realizó en el Centro de Atención Temporal COVID-19 (CAAT-COVID) de la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba, ubicado en el distrito de Santa Ana, provincia de La Convención y departamento del Cusco. Las pruebas antigénicas para SARS-CoV-2 se ejecutaron antes del ingreso a hospitalización, y las muestras de sangre se obtuvieron durante la hospitalización, a los cuales se realizaron análisis hematológicos, bioquímicos e inmunológicos en el laboratorio central del hospital.

Para la investigación se consideraron las siguientes variables:

- Resultado de pruebas antigénicas para SARS-CoV-2.
- Índice neutrófilos-linfocitos (INL).
- Concentración de lactato deshidrogenasa (LDH).
- Valor cualitativo de proteína C reactiva (PCR).
- Mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19

2.2. Materiales

2.2.1. Material biológico

- Muestras de hisopado nasofaríngeo de pacientes hospitalizados.
- Muestras de sangre de pacientes hospitalizados.

2.2.2. Equipos

- Espectrofotómetro Shimatzu modelo UV-160.
- Baño maría, modelo IDL-ACD12.
- Microscopio binocular LED, marca Carl Zeiss primo Star HAL.
- Contador digital de células sanguíneas (HemaCount).

- Cronómetro
- Micropipetas
- Agitador magnético, marca IKA, RCT 5 digital, 800W.

2.2.3. Material de laboratorio

- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Cámara de Neubauer.
- Portaobjetos, cubreobjetos.
- Pipetas y micropipetas de 20uL, 50uL, 100uL, 500uL y 1000uL.
- Tubos BD vacutainer tapa roja sin activadores de coagulación.
- Tubos BD vacutainer tapa violeta con anticoagulante EDTA.
- Aguja vacutainer BD

2.2.4. Reactivos

- Pruebas rápidas antigénicas para SARS-CoV-2, marca Panbio.
- Reactivos enzimáticos para la determinación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero marca Wiener.
- Reactivos enzimáticos para la prueba de aglutinación en placa de la Proteína C Reactiva cualitativa (PCR), marca Wiener.
- Colorante Eosina – Azul de metileno según Wright, marca Merck más solución tampón.
- Alcohol de 70° marca Portugal.
- Aceite de inmersión marca Merck.
- Reactivo de Turk marca Merck.

2.2.5. Equipos de protección personal (EPPs)

- Mandilones descartables.
- Guantes de látex.
- Lentes de protección.
- Mascarillas 3M, N95.
- Gorros quirúrgicos.
- Botas descartables
- Protector facial.

2.2.6. Materiales de escritorio

- Computador portátil.
- Software libre R 4.1.0
- Software SPSS versión 26.0

2.3. Métodos

La presente investigación fue una cohorte transversal.

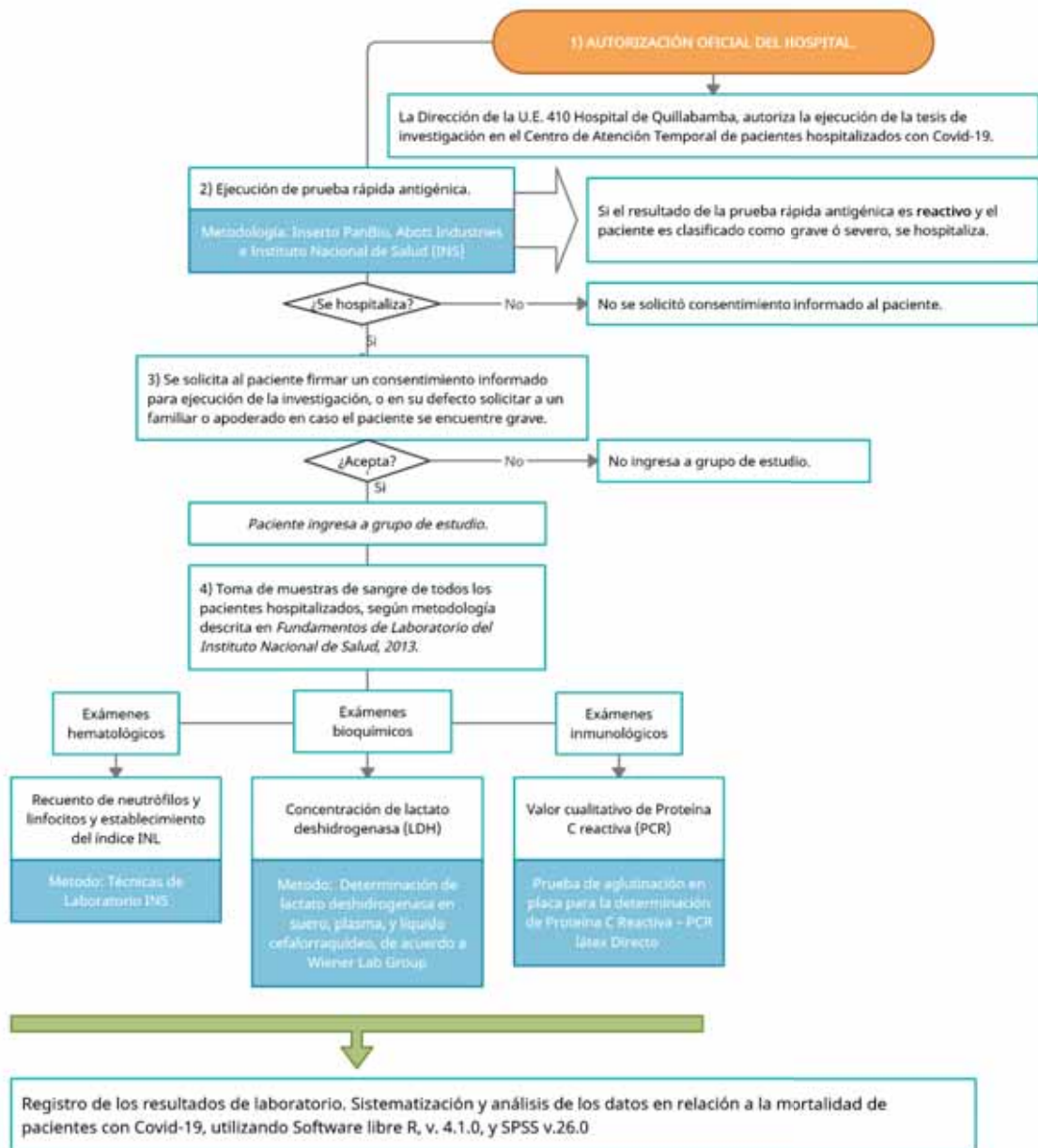
2.3.1. Coordinación institucional

Se solicitó a la Dirección de la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba una autorización oficial para desarrollar la investigación en el Centro de Atención Temporal (CAAT-COVID), el cual fue aprobado (Ver anexo 2).

2.3.2. Población de estudio

Participaron en el estudio 118 pacientes entre abril y mayo del 2021, en condición de grave o severo, que fueron reactivos a la Prueba Rápida Antigénica para SARS-CoV-2 (Panbio), previo consentimiento firmado por el mismo paciente o familiar (Ver anexo 1).

Flujograma 1: Determinación del índice neutrófilos-linfocitos, concentración de lactato de deshidrogenasa, y proteína C reactiva; y la mortalidad por COVID-19 en pacientes hospitalizados en la U.E. Hospital de Quillabamba



2.3.3. Prueba rápida antigénica para la detección de antígenos de SARS-CoV-2.

De acuerdo al protocolo de atención, todos los pacientes que llegan al CAAT-COVID de la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba, pasan consulta médica y en seguida se realiza al paciente una prueba rápida antigénica para confirmar o descartar enfermedad

por COVID-19. El procedimiento para la ejecución de la prueba sigue las instrucciones del fabricante de la marca *PanBio* (Ver anexo 6) y también las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud (2021).

Fundamento de la prueba

Las pruebas antigénicas utilizan un caset que contiene una almohadilla de nitrocelulosa que facilita la recepción de la muestra, la reacción antígeno-anticuerpo, y el recorrido de los inmunocomplejos. La almohadilla contiene anticuerpos específicos IgG humanas para SARS-CoV-2, y anticuerpos monoclonales IgY de pollo, ambas adheridas a oro coloidal. Si en la muestra existen antígenos del virus se formarán conjugados antígeno-anticuerpo IgG humana, que serán capturados en la banda cromatográfica T por el complejo anti-antígeno-anticuerpo IgG humana de ratón. La muestra también se une a los anticuerpos monoclonales IgY de pollo formando conjugados antígeno-anticuerpo IgY de pollo, los cuales recorrerán la lámina hasta unirse a la banda cromatográfica C control con el complejo cromatográfico anti-antígeno-anticuerpo IgY pollo monoclonal de ratón (Laboratorios Abbott, 2020). Si la prueba es válida y el resultado *reactivo* ambas bandas mostrarán una coloración púrpura, mientras que, si la prueba es válida, pero de resultado *no reactivo* solo la banda control mostrará una coloración púrpura.

Procedimiento de toma de muestra

- Verificar que los equipos de protección de personal (EPP) estén adecuadamente desinfectados para evitar contagiar a los pacientes y a nosotros mismos.
- Verificar que los reactivos de pruebas antigénicas hayan sido refrigerados a 8°C antes de ser utilizados. En seguida solicitar al paciente que limpie toda secreción nasal para asegurar el recojo adecuado de muestras.

- Abrir la tapa del tubo de muestreo y verter 10 gotas del buffer en el tubo de muestreo, tapar levemente y dejar en la gradilla.
- Explicar al paciente brevemente el procedimiento solicitándole su máxima colaboración para asegurar una buena toma de muestra.
- Tomar el hisopo e introducirlo por el orificio nasal hasta la nasofaringe. Hacer girar en sentido horario y antihorario durante al menos 5 segundos y retirar suavemente.
- Abrir la tapa del contenedor del tubo contenedor de buffer e introducir el hisopo con la muestra.
- Romper la parte superior del hisopo por la marca establecida para taparla nuevamente y evitar el derrame de muestra.

Procedimiento de análisis

- Una vez obtenida la muestra en el tubo de muestreo, presionar los bordes y ejercer fricción durante al menos 5 segundos para favorecer la liberación de todas las proteínas antigénicas en el medio buffer.
- Abrir la tapa inferior del tubo de muestra y verter 5 gotas de la solución en el caset de reacción antígeno-anticuerpo.
- Hacer la lectura a los 20min como máximo.
- Si existe presencia de antígenos del virus, la banda T se teñirá de color púrpura, y también la banda C del control. Registrar y reportar como prueba válida *reactivo* para SARS-CoV-2.
- Si no existe presencia de antígenos del virus, solo se teñirá la banda C de control. Registrar y reportar como prueba válida *no reactivo* para SARS-CoV-2 (Ver anexo 5).

2.3.4. Determinación del número de neutrófilos y linfocitos para el cálculo del índice Neutrófilos-Linfocitos (INL).

2.3.4.1. Toma de muestra de sangre en tubo con y sin anticoagulante.

Para la toma de muestras sanguíneas se siguió el protocolo establecido descrito en el *Manual de Procedimientos de Laboratorio I y II* del Instituto Nacional de Salud, Perú (2013).

- Colocar el antebrazo del paciente en posición adecuada, encima de un cojín e identificar el punto de punción en la vena del antebrazo.
- Palpar con el dedo la zona de punción y aplicar la ligadura por encima del punto identificado. Luego desinfectar la piel con alcohol de 70°C.
- Colocar en la vena la aguja con el capuchón, asegurando que el bisel esté hacia arriba. Luego introducir suavemente 1cm o 1.5cm.
- Colocar en el capuchón el tubo al vacío con el anticoagulante EDTA y extraer 6ml de sangre venosa hasta la línea de marca.
- Una vez obtenida la sangre desechar la aguja en un depósito como material punzocortante.
- Colocar algodón encima de la punción e indicar al paciente que lo mantenga presionado por 3min sin doblar el antebrazo para evitar formación de hematomas.
- Codificar el tubo con el nombre del paciente, cama y área de hospitalización.

2.3.4.2. Conteo de leucocitos.

El número de leucocitos se expresa en mm^3 de sangre, el cual debe mezclarse con solución de Turk. El reactivo contiene ácido acético que hemoliza los eritrocitos, y violeta de genciana que tiñe los núcleos de los leucocitos de color azul violeta, los cuales pueden observarse mejor al microscopio (Ver Anexo 7).

Procedimiento

El procedimiento es de acuerdo al *Manual de Procedimientos de Laboratorio I y II* del Instituto Nacional de Salud, Perú (2013).

- Trasladar en un frasco pequeño 950uL de solución Turk para dilución de leucocitos.
- Aspirar 50uL de sangre venosa contenida en el tubo con EDTA previa homogenización de la muestra.
- Limpiar el extremo de la pipeta asegurando que el volumen inicial no se altere, luego, depositar la sangre extraída en el frasco que contiene la solución de Turk. La dilución de esta sangre será de 1:20.
- Enjuagar la pipeta, aspirando y expulsando 3 veces en el mismo frasco contenedor de la nueva solución.
- En una cámara de recuento, colocar en el área cuadrículada utilizando una pipeta la nueva solución. Luego dejar reposar la mezcla por 3min para que las células se asienten.
- Colocar la cámara en la platina del microscopio y observar primero todos en un solo campo con un objetivo de 4X, y luego seleccionar los 4 cuadrantes laterales para el conteo de leucocitos con un objetivo de 10X.

Método de recuento en cámara de Neubauer

La cámara de Neubauer es un grueso portaobjetos de cristal que sirve para contar eritrocitos, leucocitos, plaquetas, y otras células. Está dividida en 4 zonas, 2 zonas laterales donde se apoya el cubreobjetos y 2 zonas centrales donde se deposita la muestra de sangre y se realiza el recuento celular gracias a una cuadrícula que es visible al microscopio. La altura de la zona lateral respecto a la zona central es de 0.1mm, este valor es importante porque nos permite conocer el volumen. Vista al microscopio, cada

zona central de 3 mm x 3 mm está dividido a su vez en 9 secciones de 1 mm x 1 mm, de los cuales las más importantes son las 4 secciones extremas, y la sección central. Cada una de las 4 secciones extremas está dividida en 16 cuadrados pequeños de 0.25mm x 0.25mm

Procedimiento de recuento

- Colocar cuidadosamente con una micropipeta 10ul de mezcla diluida. En seguida ubicar los cuadrantes de conteo en un solo campo con un objetivo de 4X.
- Contar los leucocitos en 4 campos laterales (cuadrantes de 1mm²) utilizando un objetivo de 10X, considerando las células presentes dentro de cada cuadrado y los ubicados en líneas inferiores y laterales.

Cálculo del número de leucocitos en un mm³ de sangre

El conteo de células sigue el siguiente análisis dimensional:

$$\frac{N \text{ células}}{N \text{ cuadrados}} \times \frac{1 \text{ cuadro}}{\text{volumen (mm}^3\text{)}} \times \text{factor dilución} = N \text{ células/mm}^3$$

Donde:

Factor de dilución: 20

Volumen del cuadrado=área del cuadrado x altura

Volumen del cuadrado=1mm² x 0.1mm

Volumen= 0.1mm³

Valores normales para el conteo de leucocitos

Los valores de referencia, según el Consejo Médico de Canadá (2020) para leucocitos esta entre: 3500 – 10 500 células / mm³.

2.3.4.3. Formula leucocitaria o conteo diferencial de leucocitos.

A) Extensión de sangre en lámina portaobjetos

El procedimiento sigue lo indicado en el *Manual de Procedimientos de Laboratorio I y II* del Instituto Nacional de Salud (2013).

Procedimiento

- Elegir una lámina extensora con bordes lisos y simétricos al contacto con otro portaobjetos.
- Colocar en un portaobjetos una gota de sangre del tubo con EDTA previa homogenización que asegura buena dispersión de las células de la sangre.
- Sostener el portaobjetos con una mano, y con la otra colocar la lámina extensora delante de la gota de sangre.
- Desplazar la lámina hacia atrás hasta lograr que la gota de sangre se extienda por el borde liso de la lámina extensora.
- Deslizar suavemente la lámina extensora hacia el extremo opuesto del portaobjetos que contiene la gota de sangre. El movimiento debe extender toda la sangre antes de llegar al extremo. La extensión deberá terminar suave y gradualmente sin interrupciones.
- Dejar secar la extensión al ambiente o con movimientos en vaivén. Es importante el secado adecuado para asegurar la calidad del extendido.
- Codificar la parte de la extensión seca con el nombre del paciente. Escribirlo con lápiz de grafito en la porción gruesa del extendido.

B) Tinción de los extendidos de sangre

En el presente estudio las extensiones de sangre se han coloreado con colorante Eosina - Azul de metileno en solución según Wright que contiene azul de metileno y eosina. Los

ácidos nucleicos contienen grupos fosfatos con carga negativa los cuales facilitan la combinación con el azul de metileno de tipo básico. De otra parte, la eosina es un colorante ácido, que colorea las partes básicas de la célula, por lo que se emplea como colorante de contraste (Corrales & Caycedo, 2020).

Procedimiento

- Cubrir la extensión de sangre con unas gotas de colorante Wright, evitando la formación de depósitos de colorante que forman manchas negras. Luego, dejar actuar en reposo durante 1 - 2 minutos.
- Agregar sobre el colorante el mismo número de gotas de solución amortiguada tamponada y mezclar rápidamente (debe formarse una capa plateada)
- Lavar con agua corriente dejando caer el chorro de agua en forma suave empezando por el borde de la lámina e inclinándola ligeramente.
- Dejar secar a temperatura ambiente.
- Observar al microscopio con un objetivo de 40X, buscando zonas de distribución uniforme. En seguida observar con un aumento de 100X utilizando aceite de inmersión.
- Una adecuada tinción permite observar los eritrocitos de color naranja, los núcleos de color púrpura, los gránulos basófilos de púrpura azulado, los neutrófilos de rojo lila, y los gránulos eosinófilos de rojo naranja.

C) Identificación y recuento de leucocitos

Existen cinco tipos de leucocitos en sangre: neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, basófilos y monocitos, que se diferencian por el tamaño, forma del núcleo y color de los gránulos del citoplasma. La proporción o porcentaje de cada leucocito es importante para el diagnóstico, y se obtiene contando 100 leucocitos y se registra el número que se ha

encontrado de cada tipo (*Manual de Técnicas de Laboratorio I y II*, Instituto Nacional de Saludo, 2013).

Procedimiento

- Observar la extensión de sangre en un microscopio óptico con un aumento de objetivo de 40X para asegurar que los elementos de la sangre estén distribuidos uniformemente.
- Colocar una gota de aceite de inmersión en la lámina y observar en el microscopio óptico con un aumento de 100X.
- Iniciar el recuento en la porción de la extensión donde se observe que los eritrocitos se encuentran agrupados.
- Examinar una porción rectangular de la extensión mediante un movimiento ordenado de un campo hacia otro.
- Contar y anotar el tipo de leucocito que se observa en cada campo, utilizando el contador digital HemaCount.

Valores normales absolutos del conteo diferencial de leucocitos

Según el Consejo Médico de Canadá (2020) los valores normales son:

- ✓ Neutrófilos: 2000 – 7500 células / mm³
- ✓ Linfocitos: 800 – 3500 células / mm³
- ✓ Basófilos: 0 – 100 células / mm³
- ✓ Eosinófilos: 0 – 500 células / mm³

2.3.4.4. Cálculo del índice neutrófilos / linfocitos

Para el cálculo del índice neutrófilos / linfocitos, se utilizaron valores absolutos, por lo que los valores porcentuales de neutrófilos y linfocitos obtenidos de las lecturas en lámina deben asociarse con el número total de leucocitos reportados:

$$\% \text{ neutrófilos } \text{ ó } \% \text{ linfocitos } \times N^{\circ} \text{ leucocitos } = N^{\circ} \text{ absoluto Neutrófilos } \text{ ó } \text{ Linfocitos}$$

El INL se obtuvo de la siguiente fracción:

$$\text{Índice neutrófilos/ linfocitos (INL)} = \frac{\text{Neutrófilos/mm}^3}{\text{Linfocitos/mm}^3}$$

2.3.5. Determinación de la concentración de lactato deshidrogenasa (LDH)

Se utilizó la metodología de Wiener Lab Group: *Determinación de lactato deshidrogenasa en suero, plasma, y líquido cefalorraquídeo, Unitest* (Wiener Laboratorios S.A.I.C, 2000).

Fundamento de la prueba

La determinación de la concentración de LDH sigue un método cinético en el que la forma reducida del NADH que se forma en la reacción absorbe luz ultravioleta a 340nm. De modo que el aumento o disminución que se produce en la absorbancia es directamente proporcional a la actividad enzimática de LDH (Ver Anexo 4).



En esta reacción la LDH actúa sobre el sustrato la L-lactato en presencia de la coenzima NAD⁺ cuya capacidad oxidante extrae un H⁺. En el proceso se forma piruvato, NADH reducido más un átomo de H⁺. El espectrofotómetro hace lecturas a intervalos de tiempo distintos, registrando el aumento constante de la absorbancia de NADH a 340nm. Al final

se realiza una media aritmética de las diferencias constatadas y se multiplica por un factor de corrección obteniéndose así la concentración de la LDH.

Según la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) y la Unión Internacional de Bioquímica (IBU) la actividad enzimática se mide en katal/litro. Sin embargo, debido a que esta unidad es demasiado grande se define que una Unidad Internacional (UI) a aquella cantidad de enzima que se necesita para transformar un micromol de sustrato por minuto. Por lo que, 1U equivale a 17,7 nano katal (nk) (Cabello Montoro, 2004).

Procedimiento de toma de muestra

Se siguió el mismo procedimiento descrito en el apartado 2.3.4.1., utilizando para este análisis muestra de sangre en tubo sin anticoagulante.

Análisis de sangre

Los reactivos provistos para el análisis son los siguientes:

Reactivo A: Solución de metilglucamina (MEG) 400mM y lactato 61mM; pH 9.4 a 37°C

Reactivo B: Solución NAD 61mM.

- Dejar reposar el tubo con la sangre en posición vertical, en una gradilla, por un lapso de 10min minutos; centrifugar la sangre de 1500 r.p.m. durante 5 minutos para obtener el suero.
- Asegurar que la linealidad en el espectrofotómetro se mantenga en 1000U/L y el límite de cuantificación en 20U/L.
- Mezclar 20ul del suero, 500ul del reactivo A. La mezcla se pre-incuba durante 5 min a 37°C en baño maría.
- Agrega 100uL del reactivo B e incubar durante 2 minutos a 37°C en baño maría.

- Introducir al espectrofotómetro la muestra con una absorbancia de 340nm.
- Si los resultados se encuentran por encima de la linealidad, se debe hacer diluciones y repetir el procedimiento. Obtenido el resultado multiplicar el resultado por el factor de dilución final.
- Informar del resultado en U/L.

Los valores normales para lactato deshidrogenasa, según recomendaciones del fabricante Wiener a 37°C, oscilan entre 180 U/L y 450 U/L. De acuerdo a Pardo et al (2020) los valores inferiores a 350U/L se consideran normales. En el presente estudio se consideró la propuesta de Pardo et al (2020).

2.3.6. Determinación del valor cualitativo de proteína C reactiva en suero.

La metodología utilizada es conocida como *Prueba de aglutinación en placa para la determinación de Proteína C Reactiva – PCR látex Directo* (Wiener Laboratorios S.A.I.C., 2005).

Fundamento de la prueba

La prueba se basa en una reacción entre el analito soluble (moléculas de proteína C reactiva) y una suspensión de partículas de látex-poliestireno sensibilizados con anticuerpos específicos monoclonales de ratón. El inmunocomplejo insoluble formado reacciona en una lámina adsorbente de fondo negro. Se considera una reacción positiva siempre que se observe aglutinación macroscópica (Ver anexo 3).

Toma de muestra de sangre en tubo sin anticoagulante

Se siguió el mismo procedimiento descrito en el apartado 2.2.4.1., utilizando para este análisis muestra de sangre en tubo sin anticoagulante.

Procedimiento de análisis

- Dejar reposar el tubo con la sangre en posición vertical, en una gradilla, por un lapso de 10min minutos; centrifugar la sangre de 1500 r.p.m. durante 5 minutos para obtener el suero.
- En una lámina de látex colocar 50ul de suero de la muestra y mezclar con 50ul de los anticuerpos específicos para proteína C reactiva.
- Utilizando un palillo se mezclan ambos componentes.
- Contar 2min en el cronómetro como máximo para observar aglutinación.
- El número de cruces expresa la intensidad de reacción antígeno-anticuerpo.
- Los resultados se reportan como sigue:
 - ✓ PCR negativa : no se observa aglutinación.
 - ✓ PCR + : levemente aglutinado.
 - ✓ PCR ++ : moderada aglutinación.
 - ✓ PCR +++ : completa aglutinación.

El número de cruces indica la intensidad de la reacción antígeno-anticuerpo.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características de los pacientes hospitalizados por COVID-19.

En el presente estudio participaron 118 pacientes, cuyos familiares o los pacientes firmaron un consentimiento informado, quienes tuvieron resultados reactivos a las pruebas rápidas antigénicas para SARS-CoV-2, y que estuvieron hospitalizados por la gravedad de la enfermedad. En la tabla 1, pueden observarse las características de los pacientes.

Tabla 1: Características de los pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba

Características	Número	Porcentaje (%)
Sexo:		
Masculino	69	58.5%
Femenino	49	41.5%
Edad Promedio: 59.6 *D.E. 18.6		
*Grupos etarios		
Niños (0 - 11)	0	0.0%
Adolescente (12-17)	1	0.8%
Joven (18 - 29)	8	6.8%
Adulto (30 - 59)	42	35.6%
Adulto Mayor (> 60)	67	56.8%
Días de hospitalización Promedio: 6.5 *D.E: 5.2		
Desenlace final:		
Alta médica	62	52.5%
Fallecidos	56	47.5%

* Resolución Ministerial 538-2009/MINSA. (Ministerio de Salud, Perú, 2009).

* Desviación estándar

La tabla 1 muestra que, de los 118 pacientes hospitalizados en la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba entre abril y mayo del 2021, el 58.5% (69/118) fueron varones, y el 41.5% (49/118) mujeres. Del total, fallecieron el 47.5% (56/118), y el 52.5% (62/118) fueron dados de alta médica o alta voluntaria. El 35.6% (42/118) de los pacientes pertenecen al grupo etario de 30 a 59 años, y el 56.8% (67/118) al grupo adulto mayor (> 60 años) como se observa en la tabla 2. En la tabla 3, se observa que, de los fallecidos, el 60.7% (34/56) fueron varones, y el 39.3% (22/56) mujeres.

En un estudio de Motta et al., (2020) con 104 pacientes, 33 se encontraban en condición de graves, de los cuales 30.3% fallecieron. Las diferencias de sus resultados con los nuestros se deberían a los tipos de población en estudio, el tamaño muestral, a las distintas condiciones de comorbilidad de los pacientes, y a la falta de unidades de cuidados intensivos en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.

3.2 Edades de pacientes con COVID-19 en relación al alta médica y fallecimiento.

Respecto a la clasificación de pacientes por grupos etarios y su relación con el alta médica y fallecimiento, se elaboró la tabla 2, donde pueden apreciarse mejor las características de cada grupo.

Tabla 2: Pacientes con COVID-19 de acuerdo al grupo etario en relación al alta médica y fallecimiento en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba

Grupos etarios * (Años)	Alta médica		Fallecidos	
	Nº	%	Nº	%
0 a 11	0	0	0	0
12 a 17	1	1.6	0	0
18 a 29	7	11.3	0	0
30 a 59	36	58.1	10	17.9
> 60	18	29.0	46	82.1
Total	62	100%	56	100%

* Clasificación de grupo etario de acuerdo a Resolución Ministerial 538-2009

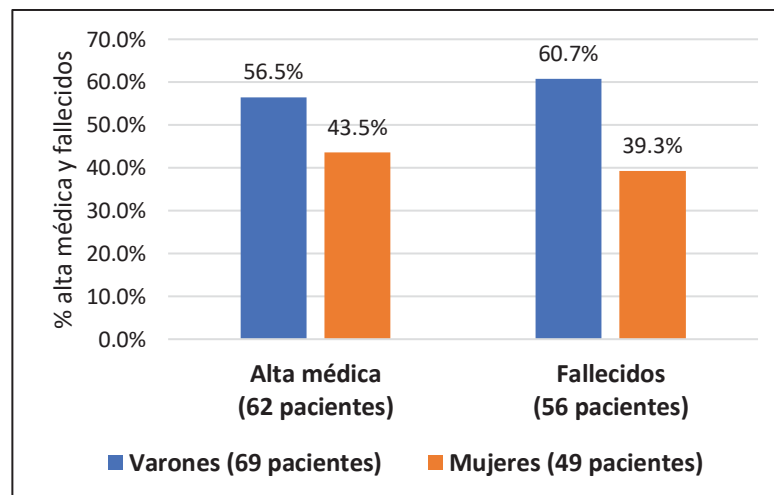
En la tabla 2 se observa que el 82.1% (46/56) de los pacientes fallecidos tenían más de 60 años, y el 17.9% (10/56) tenían edades entre 30 y 59 años. Respecto a los pacientes que fueron dados de alta médica, se observa que el 71% (44/62) tenían edades entre 12 y 59 años de edad. El grupo etario mayores de 60 años fueron los más vulnerables, probablemente por las comorbilidades y la falta de atención especializada como UCI en el hospital.

En la tabla 3, puede observarse la distribución de pacientes en alta médica y fallecidos de acuerdo al género. Se ve claramente una alta mortalidad de pacientes masculinos, comparable a la tasa de mortalidad registrada en la Sala Situacional Covid-19 MINSA, donde el 63.46% de fallecidos corresponde al sexo masculino, y el 36.54% corresponde al sexo femenino. Se resalta también que el 63.65% de los fallecidos son pacientes de sexo masculino entre 60 y 69 años de edad (Sala Situacional Covid-19, 2022).

Tabla 3: Pacientes en alta médica y fallecidos de acuerdo al genero

Sexo	Alta médica		Fallecidos		Total
	N°	%	N°	%	
Masculino	35	56.5	34	60.7	69
Femenino	27	43.5	22	39.3	49
Total	62	100.0	56	100.0	118

Figura 3: Pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 de acuerdo al género en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba



Se observa en la tabla 3 y en la figura 3, que el 60.7% (34/56) de los pacientes fallecidos eran varones, mientras que solo el 39.3% (22/56) fueron mujeres. Sin embargo, también se observa que, de todos los pacientes dados de alta, el 56.5% (35/62) fueron varones, y solo el 43.5% (27/62) fueron mujeres.

Esta alta mortalidad en pacientes masculinos se debería a que el SARS-CoV-2 tiene facilidad para pasar desapercibido por el sistema inmunológico innato, por lo que el sistema adaptativo registraría la infección tardíamente. Por otro lado, se sostiene que el sistema inmunológico adaptativo envejece mucho más rápido en hombres que en

mujeres, y en ellas se ha observado un sistema inmunológico adaptativo más robusto (Takahashi et al., 2020).

Otra probable explicación son las comorbilidades más frecuentes que acompañan a la enfermedad, como hipertensión, obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares, los cuales están mayoritariamente presente en los hombres adultos y de tercera edad.

Una explicación adicional tiene que ver con los estudios de Sama et al. (2020) donde encontraron que las concentraciones de la enzima convertidora de angiotensina II (ACE II), es mayor en varones que en mujeres. Esta proteína presente en la superficie celular constituye un receptor de la proteína S del SARS-CoV-2. En el estudio se señala también que aquellos pacientes que consumen medicamentos dirigidos RAAS (inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona), reducen las concentraciones de ACE II por lo que, no se ven severamente afectados por el SARS-CoV-2, aunque esto último no ha sido respaldado por ahora.

3.2.1 La edad en relación al fallecimiento y alta médica de pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 del Hospital de Quillabamba.

En la tabla 4, se observa un análisis de la prueba t-student para la edad en relación al alta médica y el fallecimiento de pacientes con COVID-19.

Tabla 4: Prueba t-student de la edad en relación al alta médica y al fallecimiento de pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba

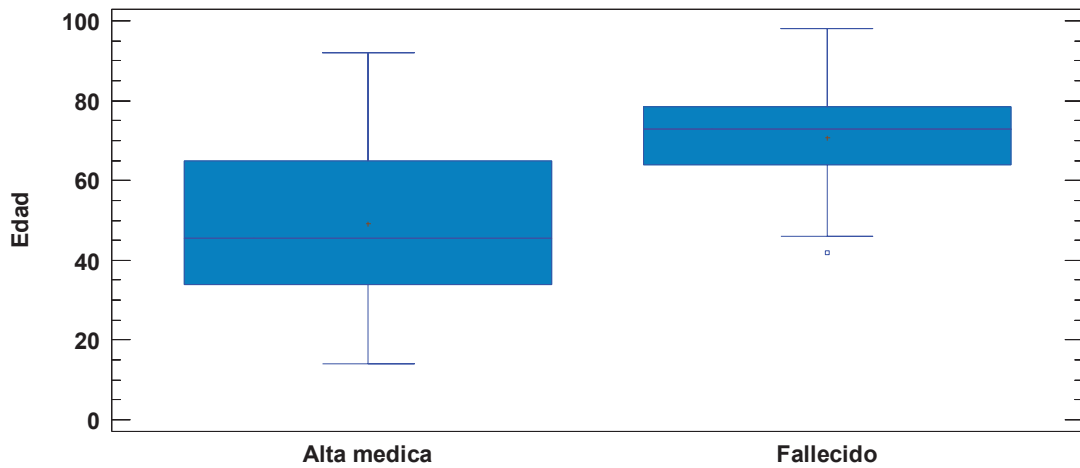
	Alta Médica	Fallecido	p-valor de la prueba t-student
Edad media	49.42 +/- 4.52	70.87 +/- 3.28	t = -7.70021 p= 0.000030
Desviación estándar	17.61	12.06	
Intervalo de confianza 95%	[44.91; 53.94]	[67.59; 74.16]	

De acuerdo a la tabla 4, los pacientes con COVID-19 que fueron dados de alta médica presentan una edad promedio de 49.42 años con una desviación de 17.61 y fluctúa en el 95% de los casos entre [44.91 - 53.94] años. Por el contrario, los pacientes que fallecieron presentan una edad promedio de 70.87 años con una desviación de 12.06 y fluctúan en el 95% de ellos en promedio entre [67.59 - 74.16] años.

El valor de $p = 0.000030$ al 95% de confianza en la prueba t-student señala que, respecto a la edad, existe diferencia significativa entre el alta médica y el fallecimiento por COVID-19. Asimismo, se observa que una edad mayor a 67.59 años, se asocia a la mortalidad de los pacientes hospitalizados por COVID-19. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Rubio (2020) donde en un estudio con 190 pacientes, se observó que tuvieron enfermedad grave y murieron pacientes mayores a 70 años. Sin embargo, según los resultados de Motta (2020) una edad mayor a 60 años está asociado a mortalidad, esto debido a la presencia de comorbilidades como hipertensión, diabetes, cirrosis y enfermedad renal crónica.

La figura 4, ilustra la información descrita en la tabla 4. Puede observarse la dispersión de los datos regulares y atípicos para cada una de las variables.

Figura 4: Distribución de las edades de los pacientes en el grupo de alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital Quillabamba

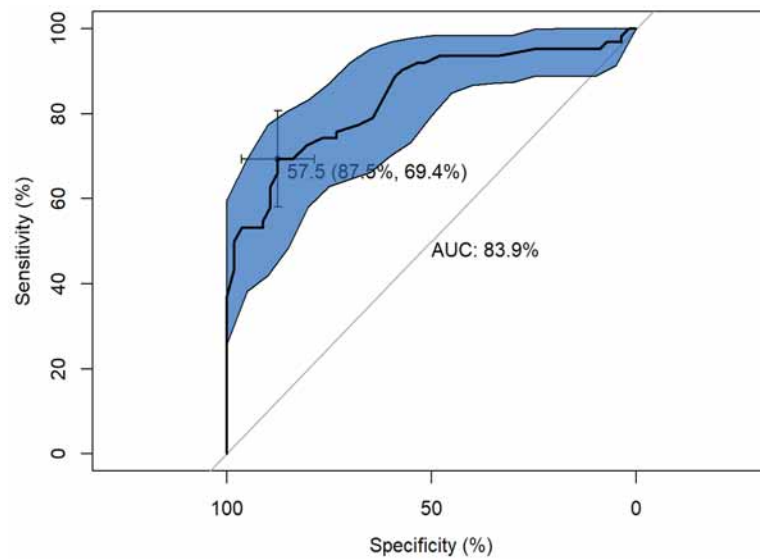


La variable edad presenta un comportamiento más homogéneo en pacientes fallecidos en comparación con los datos de alta médica, quienes presentan valores más dispersos. Por otra parte, en la figura 4 se observan pacientes fallecidos con valores atípicos.

3.2.2 Capacidad pronóstica de la edad en la mortalidad de pacientes por COVID-19

La capacidad pronóstica se mide a través de la sensibilidad y especificidad de la variable edad en relación a la mortalidad de los pacientes. Para este propósito se calcularon estos 2 parámetros utilizando una Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*).

Figura 5: Sensibilidad y especificidad de la edad en la mortalidad por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital Quillabamba



En la figura 5, se observa un área bajo la curva (AUC) de 83.90%, lo cual señala la buena exactitud diagnóstica de la edad para predecir la mortalidad de pacientes con COVID-19. El punto de corte óptimo obtenido fue de 57.5 años. Es decir, pacientes con edades inferiores a 57.5 años están asociados a un desenlace de alta médica, mientras que pacientes con edades superiores a 57.5 años están asociados al desenlace de fallecimiento. Dicho punto de corte presenta una especificidad de 87.5% y una sensibilidad de 69.4%. Es decir, cualquier valor por encima de este punto tiene una posibilidad de fallecer del 69.4%, y por debajo de este valor tiene una posibilidad del 87.5% de ser dado de alta médica.

Nuestros resultados difieren ligeramente con los reportados por Rubio (2020) donde encontraron un punto de corte de 67 años con una sensibilidad de 67.1% y una especificidad de 70.1% en una muestra de 197 pacientes. Es probable que esta diferencia en los puntos de corte, se deba a la población de estudio, tamaño muestral, factores de comorbilidad, y características generales de los servicios médicos ofertados en ambas instituciones de salud.

3.3 Índice neutrófilos / linfocitos (INL) y su relación con el alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19.

Con el propósito de apreciar mejor la relación de la variable INL con el fallecimiento o alta médica de los pacientes con COVID-19 se elaboró la tabla 5.

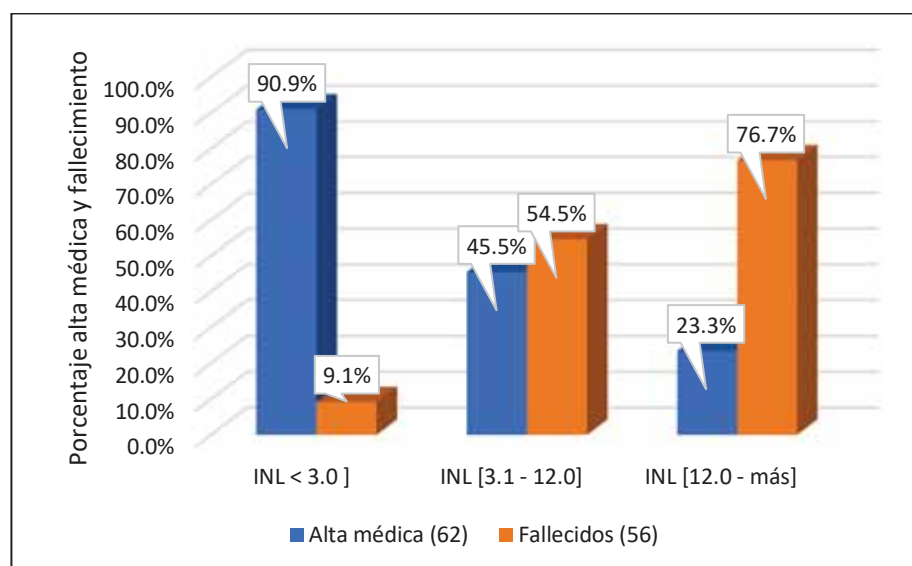
Tabla 5: Índices de neutrófilos / linfocitos en relación al alta médica y fallecimiento de pacientes con COVID-19 de la U.E. 410 Hospital Quillabamba

N° Intervalos	INL (Índice neutrófilos / linfocitos)	Alta médica		Fallecidos		Total
		N°	%	N°	%	
1	< 3.0] *	30	48.4	3	5.4	33
2	[3.1 - 12.0]	25	40.3	30	53.6	55
3	[12.1 - más]	7	11.3	23	41.0	30
Total		62	100.0	56	100.0	118

* Valores normales de INL según Ciccullo (2020).

En este sentido, en la tabla 5 se observa que el 5.4% (3/56) pacientes con valores normales de INL fallecieron por COVID-19. La mayoría de los fallecidos 94.6% (53/56) tenían valores por encima de un INL 3.1. En cuanto al grupo de pacientes dados de alta médica, el 48.4% (30/62) tenían índices dentro de valores normales (< 3.0). El 51.6% de los dados de alta médica (32/62) tenían índices superiores a 3.1. Cabe señalar que, en un estudio retrospectivo con 74 pacientes, Ciccullo (2020) estableció que un INL menor a 3 se asociaba a valores normales que no representan riesgo significativo para la salud.

Figura 6: Pacientes en alta médica y fallecidos por intervalo de índice de neutrófilo-linfocitos (INL) de la U.E. 410 Hospital de Quillabamba



En la figura 6 también se observa que a medida que los valores del INL aumentan el porcentaje de fallecidos se incrementa, y el número total de pacientes en cada grupo disminuye.

En la tabla 5 también se puede observar las diferencias en el número de pacientes fallecidos y de alta médica en cada grupo de INL. En el grupo de pacientes con INL > 12.1 se observa que fallecieron 76.7% (23/30), es decir cuanto más elevado sea el INL la mortalidad se incrementa sustancialmente. En el grupo de pacientes con INL < 3, considerados como valores normales, se observa que 90.9% (30/33) fueron dados de alta médica, y finalmente en el grupo donde se observa mayor número de pacientes con INL [3.1 – 12.00], el 54.5% (30/55) fallecieron, y el resto fueron dados de alta médica.

3.3.1 Índice de neutrófilos / linfocitos (INL) en relación al alta médica y a la mortalidad por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.

En la tabla 6, se observa un análisis de la relación entre el alta médica y el fallecimiento considerando como base los valores del índice neutrófilos / linfocitos (INL) utilizando la prueba t-student.

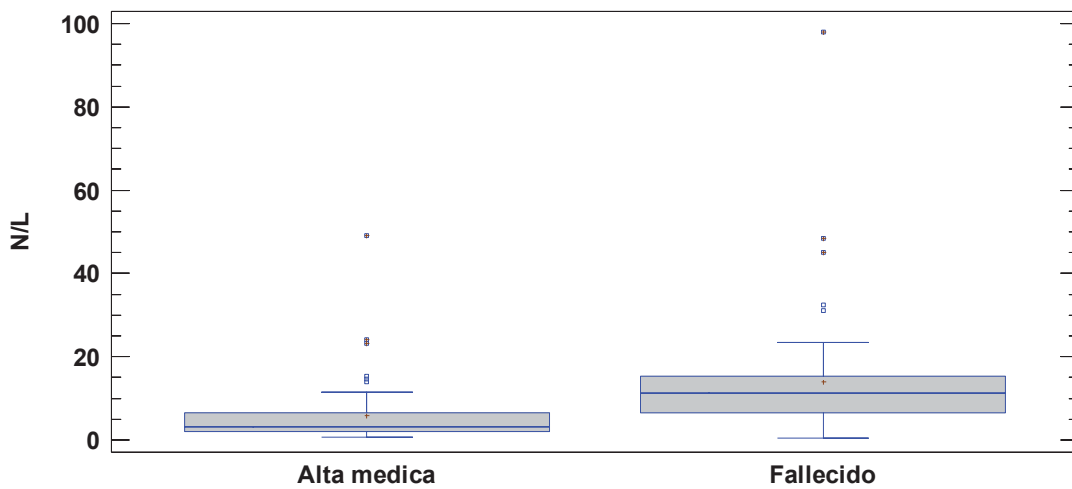
Tabla 6: Prueba t-student del índice neutrófilos / linfocitos (INL) en relación al alta médica y fallecimiento de pacientes con COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba

INL	Alta Medica	Fallecidos	p-valor de la prueba t-student
Media	5.76 +/- 1.89	13.98 +/- 3.96	p=0.00018
Desviación	7.46	14.78	
I.C. 95%	[3.87 - 7.66]	[10.02 - 17.94]	

De acuerdo a la tabla 6, los pacientes con COVID-19 que fueron dados de alta médica presentaban un INL promedio de 5.76 con una desviación estándar de 7.46 y fluctúa en el 95% de los casos entre [3.87 - 7.66]; en tanto que, los pacientes que fallecieron presentan un INL promedio de 13.98 con una desviación de 14.78 y fluctúan en el 95% de los casos en promedio entre [10.02 - 17.94]. Se evidencia que pacientes con mayor INL presentan mayor posibilidad de fallecimiento. De acuerdo al valor $p=0.00018$ se evidencia que existe diferencias significativas entre el alta médica y los fallecimientos respecto a los valores del índice neutrófilos / linfocitos.

La figura 8, ilustra la información descrita en la tabla 6. Puede observarse la dispersión de los valores de INL dentro de cada grupo de pacientes en alta médica y fallecidos por COVID-19.

Figura 7: Distribución de los valores de INL en pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba



En la figura 7, se aprecia que los valores del índice neutrófilos / linfocitos presentan un comportamiento más homogéneo en pacientes con alta médica en comparación con los fallecidos, que presentan valores más dispersos. Por otra parte, se observan pacientes fallecidos con valores atípicos, y similar situación se evidencia en pacientes con alta médica. Se observa también que pacientes fallecidos presentan mayores valores de INL en comparación con los datos de alta médica. Según los resultados de laboratorio observados, en general la neutrofilia y linfopenia son característicos de pacientes hospitalizados con COVID-19, y cuanto mayor sea la diferencia entre ambos valores, mayor estará asociada a un desarrollo desfavorable de la enfermedad.

En otras investigaciones sobre la capacidad pronóstica de este índice, Basbus (2020) en un estudio con 131 pacientes, observó que la variable índice neutrófilo-linfocito en asociación con otros factores podría constituir una buena herramienta de pronóstico. Los pacientes fallecidos 7% (9) presentaban un índice neutrófilos / linfocitos (INL) mayor a 3. Aunque nuestros hallazgos indican que un índice en promedio de 10.02

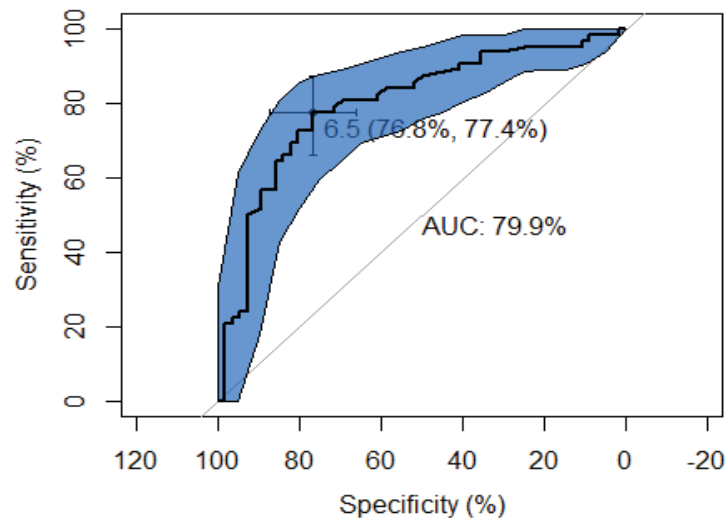
está asociado a mortalidad, ambos resultados indican que un aumento de este valor está efectivamente correlacionado con la mortalidad por COVID-19 de los pacientes.

En otro estudio de Ramos-Peñañiel (2020) en una cohorte de 125 casos, estudiaron la utilidad del índice neutrófilos / linfocitos para el pronóstico de complicaciones asociadas a COVID-19. En su análisis bivariado el INL fue mayor a 13, lo cual se asoció a mortalidad. Estos resultados también se correlacionan con los nuestros, donde asociamos a mortalidad un INL mayor a 10. Este índice efectivamente juega un papel importante como predictor de la complicación de la enfermedad por COVID-19.

3.3.2 Capacidad pronostica del índice neutrófilos / linfocitos (INL) en la mortalidad de pacientes por COVID-19

La capacidad pronostica se mide a través de la sensibilidad y especificidad de la variable índice neutrófilos / linfocitos (INL) en relación con la mortalidad de los pacientes. Para este propósito se calcularon estos 2 parámetros utilizando una Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*).

Figura 8: Sensibilidad y especificidad del índice neutrófilos / linfocitos en la mortalidad por COVID-19



De acuerdo a la figura 8, el área bajo la curva (AUC) de 79.9%, la variable INL tiene una buena exactitud diagnóstica para predecir la mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19. El punto de corte óptimo fue de 6.5. Es decir, pacientes con índices inferiores a 6.5 están asociados a un desenlace de alta médica, mientras que pacientes con índices superiores a 6.5 están asociados a fallecimiento. Dicho punto de corte en 6.5 presenta una especificidad máxima de 76.8% y sensibilidad máxima de 77.4%. Es decir, cualquier valor por encima de este punto indica una posibilidad de fallecimiento de 77.4%, y por debajo de este valor tiene una posibilidad del 76.8% de ser dado de alta médica.

Nuestro punto de corte difiere con lo reportado por Soca (2020) en el que utiliza el INL para medir su correlación en 84 pacientes con neumonía adquirida, el cual es consecuencia de la enfermedad por COVID-19, y se observó que su punto de corte de 17.4, generaba una sensibilidad de 35.30%, especificidad en 87.90%. Este valor fue utilizado para diferenciar grupos de alto y bajo riesgo diagnosticados con neumonía adquirida.

Siguiendo este modelo de discriminación de resultados se calculó un punto de corte de 6.5, el cual está asociado a una sensibilidad y especificidad de 77.4% y 76.8% respectivamente para diferenciar gravedad de la enfermedad y decesos en enfermedad por COVID-19.

3.4 Concentración de lactato deshidrogenasa (LDH) y su relación con el alta médica y mortalidad en pacientes hospitalizados por COVID-19.

Con el propósito de describir mejor la relación de la LDH con el alta médica o fallecimiento, se agruparon los valores por intervalos en la tabla 7.

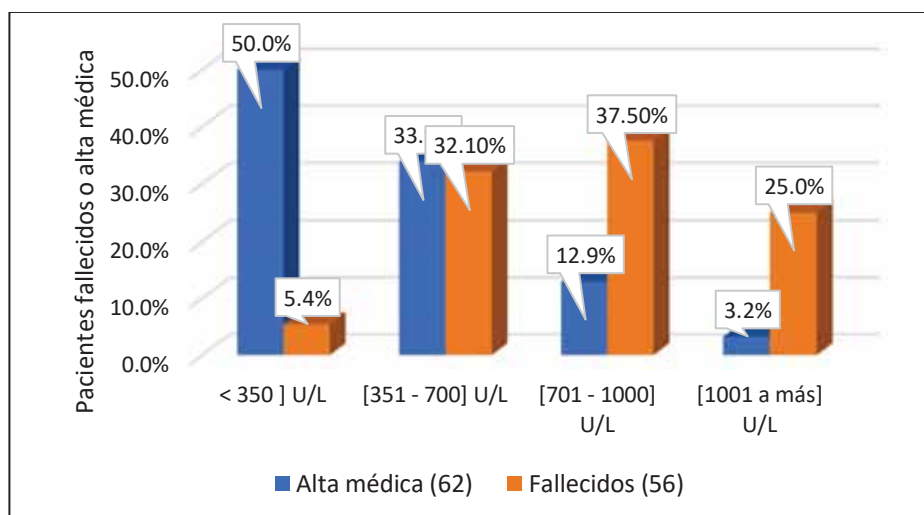
Tabla 7: Concentraciones de LDH y su relación con el alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19

N° Intervalos	Lactato deshidrogenasa (LDH) U/L	Alta médica		Fallecidos		Total
		N°	%	N°	%	
1	< 350] *	31	50.0	3	5.4	34
2	[351 - 700]	21	33.9	18	32.1	39
3	[701 - 1000]	8	12.9	21	37.5	29
4	[1001 a más]	2	3.2	14	25.0	16
Total		62	100	56	100	118

* Valores séricos normales de LDH según Pardo et al., (2020).

Figura 9: Pacientes en alta médica y fallecidos de acuerdo a las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH) en pacientes con COVID-19 de la U.E. Hospital

Quillabamba



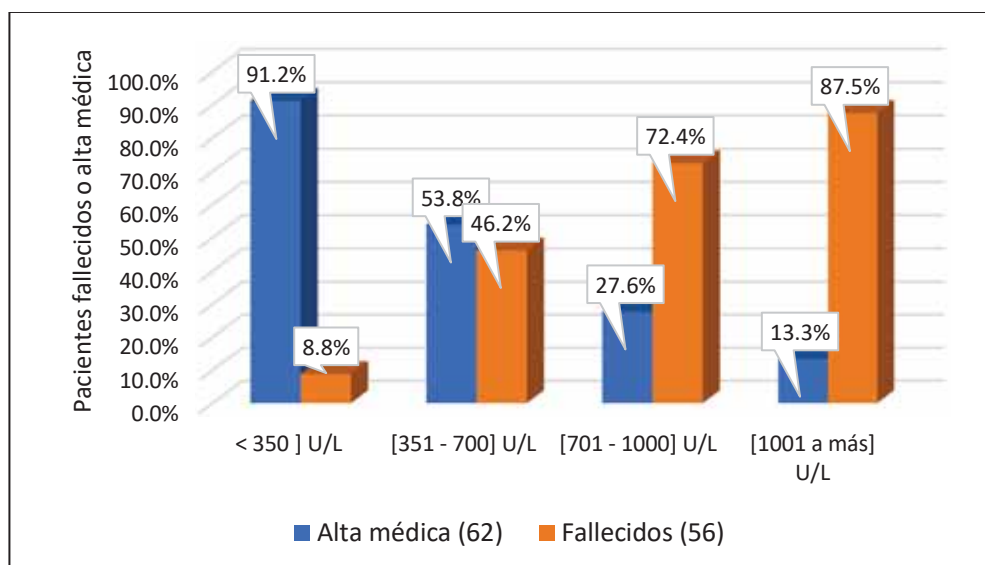
En la tabla 7 y figura 9, se observa que el 94.6% (53/56) de pacientes que fallecieron reportaron valores por encima de los normales (>350 U/L). En relación a las altas médicas se observa que el 50.0% (31/62) de los pacientes reportaron valores normales para LDH. En el grupo de pacientes con valores mayores a 1001 U/L, solo el 3.2% (2/62) fueron dados de alta.

En nuestra investigación, la mayoría de fallecidos se registran entre 351 U/L y 1000 U/L, estos hallazgos guardan relación con un estudio realizado por Gutiérrez (2020) donde sus niveles séricos de LDH de 600 U/L se relacionaban con una mayor severidad de la enfermedad por COVID-19 aumentando las probabilidades de deceso.

En un estudio transversal con 145 pacientes, Pardo (2020) identificó que los valores de LDH >350 U/L tenían significancia clínica en pacientes con COVID-19 confirmados. Por esta razón se consideró que niveles séricos de LDH <350 U/L están asociadas a valores normales.

Figura 10: Pacientes en altas médicas y fallecidos por cada intervalo de lactato deshidrogenasa (LDH) en pacientes con COVID-19 de la U.E. Hospital

Quillabamba



En la figura 10 se observa que, en el grupo de pacientes con valores normales de LDH (< 350 U/L) el 8.8% (3/34) fallecieron. Se observa que, el número de pacientes fallecidos se incrementa junto con las concentraciones de LDH. En el intervalo [351 - 700] U/L el 46.2% (18/39) fallecieron. En el intervalo [1001 a más] U/L el 87.5% (14/16) fallecieron y solo 2 de ellos fueron dados de alta médica.

En un estudio de Ayanian (2020) con 299 pacientes, reportaron que valores de LDH superiores a 1200 U/L estaban asociados a mayor mortalidad. Mientras que, nuestros resultados indican que valores superiores a 700 U/L están relacionados al fallecimiento. Estas diferencias podrían deberse al número de pacientes en estudio, a las características de los servicios médicos ofertados, al número de comorbilidades de los pacientes, etc.

3.4.1 Concentración de LDH en relación al alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19

En la tabla 8, se observa un análisis de la relación entre el alta médica y el fallecimiento considerando como base las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH) utilizando la prueba t-student.

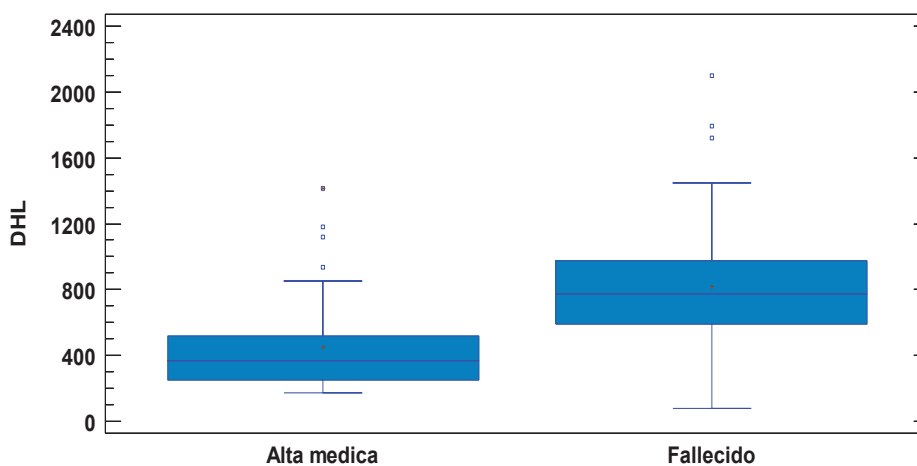
Tabla 8: Prueba t-student de las concentraciones de LDH en relación al alta médica y fallecimiento de pacientes con COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba

LDH (U/L)	Alta Medica	Fallecido	<i>p-valor de la prueba t-student</i>
Media	449.93 +/- 66.74	819.84 +/- 98.83	p=0.00063
Desviación estándar	262.82	369.05	
I.C.	[383.19 - 516.68]	[721.01 - 918.67]	

De acuerdo a la tabla 8, los pacientes con COVID-19 que fueron dados de alta médica tenían una concentración media de LDH de 449.93 U/L con una desviación de 262.82 y fluctúa en el 95% de los casos entre [383.19 - 516.68] U/L. Por el contrario, los pacientes que fallecieron presentaban una concentración de LDH promedio de 819.84 U/L con una desviación de 369.05 y fluctúan en el 95% de los casos en promedio entre [721.01 - 918.67] U/L.

Se evidencia que, de acuerdo al *p* valor obtenido en la prueba $p=0.000629$ existe diferencia significativa entre el alta médica y el fallecimiento de los pacientes con COVID-19 en cuanto a las concentraciones de LDH. Nuestros resultados se correlacionan con lo obtenido por Hueda-Zavaleta (2021) en un estudio con 351 pacientes, donde concentraciones mayores a 720 U/L con un *p*-valor de 0,001 indicaría una relación significativa con la mortalidad por COVID19.

Figura 11: Distribución de las concentraciones de LDH en pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. Hospital Quillabamba.

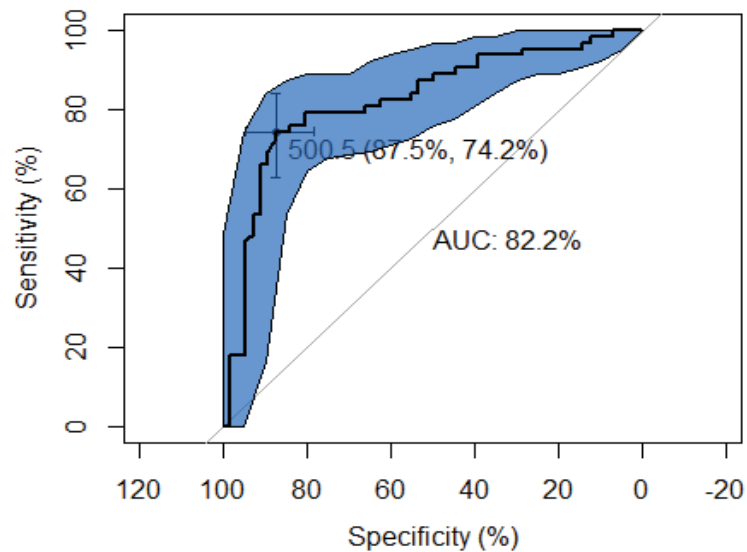


En la figura 11 se observa que la variable LDH presenta valores que demuestran un comportamiento más homogéneo en pacientes con alta médica en comparación con los fallecidos, que presentan valores más dispersos. Por otra parte, se observan pacientes fallecidos con valores atípicos de LDH, y similar situación se evidencia en pacientes con alta médica. Se observa también que pacientes fallecidos presentan mayores concentraciones de LDH en comparación con los datos de alta médica.

3.4.2 Capacidad pronostica de la concentración de LDH en relación a la mortalidad por COVID-19.

La capacidad pronostica se mide a través de la sensibilidad y especificidad de la variable concentración de LDH en relación a la mortalidad de los pacientes. Para este propósito se calcularon estos 2 parámetros utilizando una Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*).

Figura 12: Capacidad pronóstica de LDH en relación a la mortalidad por COVID-19



En la figura 12, se aprecia que el área bajo la curva (AUC) es de 82.20% por lo que, la LDH tiene una buena exactitud diagnóstica para predecir la mortalidad de pacientes hospitalizados por COVID-19. El punto de corte óptimo fue de 500.5 U/L. Es decir, pacientes con concentraciones inferiores a 500.5 U/L están asociados a un desenlace de alta médica, mientras que pacientes con índices superiores a 500.5 U/L están asociados al fallecimiento. Dicho punto de corte presenta una sensibilidad máxima de 74.20% y especificidad máxima de 87.5%. Es decir, cualquier valor por encima del punto de corte indica una posibilidad de fallecimiento de 74.20%, y por debajo de este valor tiene una posibilidad del 87.5% de ser dado de alta médica.

3.5 Valor cualitativo de Proteína C Reactiva (PCR) y su relación con el alta médica o mortalidad en pacientes hospitalizados por COVID-19

Los valores cualitativos de PCR están descritos de acuerdo a la simbología: *negativo*, +, ++, +++ los criterios de asignación a los resultados de PCR están definidos en la metodología del capítulo II. Con el propósito de mostrar el comportamiento general de estos valores en relación al alta o médica y mortalidad se elaboró la tabla 9.

Tabla 9: Proteína C reactiva en relación al alta médica y mortalidad de pacientes hospitalizados con COVID-19

Valor cualitativo de PCR	Alta médica		Fallecidos		Total	OR 95% de I.C.	p-valor
	Nº	%	Nº	%			
Negativo	9	14.5	0	0	9	0.118 [0.014 - 0.978]	0.02
+	21	33.9	1	1.8	22	0.035 [0.005 - 0.275]	0.00
++	15	24.2	26	46.4	41	2.716 [1.241 – 5.944]	0.011
+++	17	27.4	29	51.8	46	2.843 [1.322 – 6.113]	0.007
Total	62		56		118		

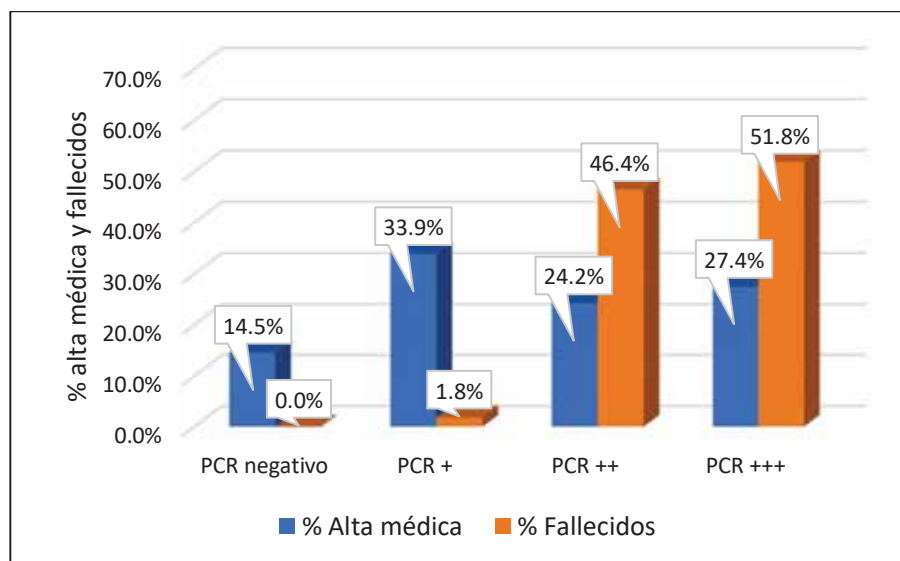
* Valores normales de PCR: < 10mg/l (Consejo Médico de Canadá, 2017) equivalente a 1+ (levemente aglutinado)

Leyenda:

- + : *Levemente aglutinado*
- ++ : *Moderadamente aglutinado*
- +++ : *Completamente aglutinado*

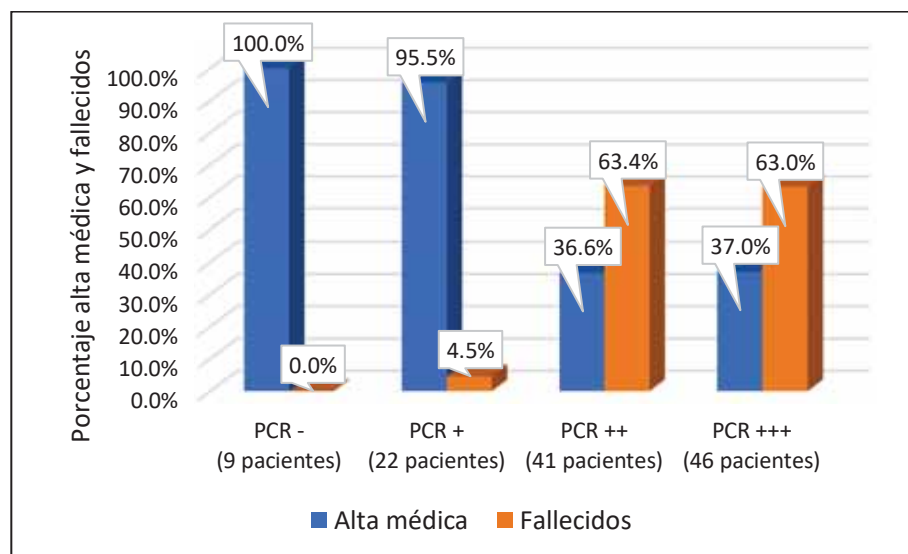
Figura 13: Pacientes con alta médica y fallecidos por COVID-19 en la U.E. 410

Hospital de Quillabamba



En tabla 9 y figura 13 se muestran los porcentajes de alta médica y mortalidad distribuidas en todas las categorías de PCR. Por ejemplo, del total de pacientes fallecidos el 98.2% (55/56) presentaron por lo menos ++. Por el contrario, del total de pacientes que fueron dados de alta médica, el 48.4% (30/62) tenían resultados cualitativos de + o menos.

Figura 14: Pacientes con alta médica y fallecidos por categorías de PCR de la U.E. 410 Hospital de Quillabamba



En la figura 14 se observan las diferencias en el número de pacientes con alta médica y fallecidos por cada categoría de PCR. Se evidencia que, aquellos pacientes con PCR negativa, el 100% (9/9) fueron dados de alta médica. De los pacientes con 1+ el 95.5% (21/22) fueron dados de alta médica. En el grupo de PCR ++ el 63.4% (26/41) fallecieron y el resto obtuvieron alta médica. En el grupo PCR +++ que alberga el mayor número de pacientes, el 63.0% (29/46) fallecieron, y el 37.0% (17/46) tuvieron alta médica.

En la tabla 9, también se observa que el grupo de pacientes con valor cualitativo de PCR negativo tiene un p-valor de 0.020, el cual nos dice que existe diferencia

significativa entre los pacientes con alta médica y los fallecidos. El OR de 0.118 [0.014 – 0.978] señala que PCR negativa no constituye un riesgo de mortalidad y los valores del intervalo nos dicen que OR es estadísticamente significativo.

En la categoría de PCR con 1+ el p-valor calculado fue de 0.000, el cual nos dice que existe diferencia significativa entre los pacientes con alta médica y los fallecidos. El OR de 0.035 [0.005 - 0.275] señala que el PCR + no constituye un riesgo de mortalidad, y los valores del intervalo inferiores a 1, señalan que es estadísticamente significativo.

Aunque en nuestros hallazgos no se observe alta mortalidad de pacientes con resultados PCR+, en un estudio de Gutiérrez (2020) se encontró que las concentraciones de proteína C reactiva por encima de 10mg/l equivalente aproximadamente a más de 1+ estaban relacionadas a complicaciones de la enfermedad por COVID-19.

En el grupo de PCR con ++ el valor $p = 0.011$, el cual nos dice que existe diferencia significativa entre los pacientes con alta médica y los fallecidos. El OR de 2,716 [1,241 - 5,944] señala que el PCR ++ constituye un factor de riesgo de mortalidad, y los valores del intervalo, señalan que es estadísticamente significativo. En resumen, pacientes con PCR ++ tienen 2.7 veces más posibilidades de muerte en comparación a aquellos que presentan otros resultados.

Nuestros resultados se parecen a los obtenidos por Escobar (2020) quienes utilizaron 14 casos de pacientes fallecidos por COVID-19 y observaron que hubo una elevada concentración de proteína C reactiva en promedio 22 mg/dL, equivalente aproximadamente a 2+. Como se observó en nuestros resultados anteriores, estos hallazgos tuvieron relación con la mortalidad de los pacientes por COVID-19.

Respecto al grupo de pacientes con PCR +++ el valor $p = 0.007$, el cual nos dice que existe diferencia significativa entre los pacientes con alta médica y los fallecidos. El

OR de 2.843 [1.322 – 6.113] señala que PCR +++ constituye un factor de riesgo de mortalidad, y los valores del intervalo señalan que es estadísticamente significativo. Los pacientes con PCR +++ tienen 2.8 veces más posibilidad de muerte en comparación a aquellos que presentan otros valores. En esta categoría se registra el mayor número de pacientes fallecidos por COVID-19.

Nuestros resultados se correlacionan con los estudios de Luna Campos (2021) quien, basado en investigaciones bibliográficas, encontró que en promedio el 63% de los pacientes fallecidos por COVID-19 tenían concentraciones de proteína C reactiva superiores a 150mg/L equivalente aproximadamente a más de 3+. Asimismo, Ayanian (2020) en un estudio con 299 pacientes, encontraron que valores superiores a 100mg/l (aprox. 3+) estaban asociados a muerte y valores inferiores estaban relacionados a pacientes atendidos en cuidados intensivos. Adicionalmente, nuestros resultados de alta mortalidad de pacientes con PCR +++ se relacionan con los estudios de Rubio Sánchez (2020), quienes, en una muestra de 197 pacientes, identificaron a la variable proteína C reactiva como predictor de gravedad de la enfermedad por COVID-19 cuando los valores se encontraban por encima de 90mg/l (aprox. 3+).

Estos resultados se correlacionan con los nuestros, donde altos valores de PCR (+++) se correlacionan con alta mortalidad de pacientes por esta enfermedad. Se podría afirmar así, que este parámetro podría constituir un elemento predictor del desarrollo de la enfermedad por COVID19.

3.6 Análisis multivariado

Se realizó un análisis de la interacción de las variables independientes en relación a la mortalidad por COVID-19 para determinar su capacidad pronostica del desarrollo de la enfermedad y para evaluar su relevancia clínica en un contexto hospitalario donde

existen muchas variables interactuando constantemente. Por todo ello, el análisis debe realizarse desde un punto de vista dinámico e interactivo.

Tabla 10: Análisis multivariado de variables independientes en relación a la mortalidad de pacientes por COVID-19

	Coefficiente	Error estándar	Valor Z	Valor p	OR
Edad	0.1054	0.02363	4.461	<i>8.15 *10⁻⁶</i>	
Sexo	0.6467	0.6523	0.991	<i>0.3215</i>	1.9091
NyL	0.0004516	0.0003860	1.170	<i>0.2421</i>	
DHL	0.003648	0.001161	3.143	<i>0.0016</i>	
PCR +	0.1259	17.66	-0.071	<i>0.9431</i>	0.8816
PCR ++	29.28	16.00	1.600	<i>0.0671</i>	18.69
PCR +++	26.22	15.25	1.525	<i>0.0855</i>	13.76
Leyenda: N/L: índice neutrófilos / linfocitos LDH: lactato deshidrogenasa PCR: proteína C reactiva					

En el análisis multivariado, es decir durante la interacción de todas las variables se observa el impacto que estos tienen en la mortalidad. Para este caso se utilizó el software R. Se observa que con el 95% de confianza las variables: edad $p=0.000$ y lactato deshidrogenasa $p=0.0016$ están asociados a la mortalidad de pacientes por COVID-19 y son estadísticamente significativos. La variable sexo muestra un $OR=1.9091$ el que significa que el sexo masculino constituye un factor de riesgo para la mortalidad por COVID-19. El índice de neutrófilos / linfocitos ($p=0.2421$), muestra que la asociación no es estadísticamente significativa. En la proteína C reactiva, se observa: $PCR+ \rightarrow OR=0.8816$; $PCR++ \rightarrow OR=18.69$ y $PCR+++ \rightarrow OR=13.76$. De estos resultados se desprende que $PCR++$ y $PCR+++$ constituyen factores de riesgo de mortalidad por COVID-19.

Se calcularon los OR para las variables cualitativas sexo y proteína C reactiva. En la variable sexo, se utilizó como referencia al género femenino, por observarse mayor número de pacientes masculinos hospitalizados por COVID-19. En este sentido, el OR indica que los varones tienen un riesgo de 1.91 veces más de fallecer por COVID-19 que las mujeres, aunque la asociación no sea estadísticamente significativa ($p=0.3215$).

Para el cálculo de los OR de la proteína C reactiva (+), (++) , (+++) se utilizó a la proteína C reactiva negativa como referencia, debido a su bajo impacto en la mortalidad de pacientes por COVID-19. En este sentido, se observa que los pacientes con PCR (+) tienen un riesgo 0.88 veces más que PCR negativa de estar asociada a la mortalidad por COVID-19, pero no es estadísticamente significativo al 95% de confianza con $p=0.9431$. En el caso de pacientes con PCR (++) se observa que tienen un riesgo 18.69 veces más que la PCR negativa de estar asociada a la mortalidad por COVID-19, pero no es estadísticamente significativo al 95% de confianza ($p=0.0671$). Respecto a los pacientes con PCR (+++) se observa que tienen un riesgo 13.76 veces más que PCR negativa de estar asociada a la mortalidad por COVID-19. Según estudios de Hueda-Zavaleta (2021) en un análisis multivariado, mostró que la edad, mayor a 65 años, un incremento de LDH superior a 720 U/L y saturación menor a 80% estaban asociados a la mortalidad por COVID-19. En nuestra investigación no se consideraron exactamente los mismos parámetros de estudio, sin embargo, podemos concluir que en su investigación y en el nuestro, las edades y la concentración de LDH constituyen factores determinantes de mortalidad de pacientes con COVID-19. En otra investigación realizada por Sirvent (2020) con 168 pacientes entubados, concluyeron que la edad, PCR, LDH, y troponina T cardiaca, fueron factores determinantes para el fallecimiento de los pacientes. Estos resultados concuerdan con los nuestros, donde se observa que las variables: edad, PCR y LDH constituyeron factores de riesgo y están asociadas a la mortalidad de los pacientes.

CONCLUSIONES

1. De los 118 pacientes hospitalizados por COVID-19 en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba, el 58.5% eran varones, el 41.5% mujeres. El 52.5% obtuvieron alta médica y el 47.5% fallecieron. De estos, el 60.7% fueron varones y el 39.3% mujeres. El 82.1% de los fallecidos, pertenecieron al grupo etario de mayores 60 años.
2. En el parámetro de Índice de Neutrófilos y Linfocitos (INL) en pacientes hospitalizados por COVID-19 se determinó la mortalidad del 94.6% (53/56) en valores mayores a 3.1 de INL y alta médica con el 48.4% (30/62) con valores menores de 3.0 de INL. La media de INL en pacientes fallecidos fue de 13.98 y en los pacientes con alta médica de 5.76, existiendo una diferencia significativa entre las medias. Respecto a su capacidad pronóstica de mortalidad se utilizó un punto de corte de 6.5 en la curva ROC para lograr una sensibilidad del 77.4% y especificidad 76.8% que indica la posibilidad de fallecimiento y alta médica.
3. En el parámetro de lactato deshidrogenasa (LDH) en pacientes hospitalizados por COVID-19 se determinó la mortalidad del 94.6% (53/56) cuyos valores fueron superiores a 351 U/L, y alta médica con el 50.0% (31/62) cuyos valores fueron inferiores a 350 U/L. La media de LDH en pacientes fallecidos fue de 819.84 U/L y en los pacientes con alta médica de 449.93 U/L, existiendo una diferencia significativa entre las medias. Respecto a la capacidad pronóstica de mortalidad se utilizó un punto de corte de 500.5 U/L en la curva ROC para lograr una sensibilidad del 74.2% y especificidad 87.5% que indica la posibilidad de fallecimiento y alta médica.
4. Respecto al parámetro proteína C reactiva, el 48.4% (30/62) de los pacientes que fueron dados de alta reportaron resultados de PCR (+) y PCR negativa. El 98.2% de pacientes fallecidos reportaron resultados de PCR (++) y PCR (+++). En el análisis

de odds ratios se determinó PCR (++) 2.72 y PCR (+++) 2.84, por lo que constituyen factores de riesgo de mortalidad para COVID-19.

5. Del análisis multivariable se concluye que la edad y, lactato deshidrogenasa afectan significativamente la mortalidad de los pacientes por COVID-19. La variable sexo (masculino), y proteína C reactiva $PCR++(OR=18.69)$ y $PCR+++ (OR=13.76)$ constituyen factores de riesgo para la mortalidad por COVID-19.

RECOMENDACIONES

1. Estudiar la capacidad predictiva de mortalidad de las variables independientes: índice neutrófilos / linfocitos (INL), concentración de lactato deshidrogenasa (LDH), y concentración de proteína C reactiva (PCR) en combinación con los factores de comorbilidad, edad y género de los pacientes.
2. Estudiar los otros marcadores inflamatorios como ferritina, dímero d, interleucina-6, procalcitonina etc., considerados indicadores de mala evolución de enfermedad por COVID-19, en combinación con las variables independientes del presente estudio para evaluar su potencial capacidad pronostica en un análisis estadístico multivariado.
3. Estudiar la capacidad pronostica de la variable PCR cuantitativa en relación a otros factores de riesgo y comorbilidades de los pacientes.

BIBLIOGRAFIA

- Abbott Laboratories. (2020, agosto). *COVID-19 Ag Rapid Test Device*.
https://www.who.int/diagnostics_laboratory/eual/eul_0564_032_00_panbi_COVID19_ag_rapid_test_device.pdf
- Acter, T., Uddin, N., Das, J., Akhter, A., Choudhury, T. R., & Kim, S. (2020). Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency. *Science of The Total Environment*, 730, 138996.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138996>
- Ali, N. (2020). Elevated level of C-reactive protein may be an early marker to predict risk for severity of COVID-19. *Journal of Medical Virology*, 92(11), 2409–2411. <https://doi.org/10.1002/jmv.26097>
- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, 26(4), 450–452.
<https://doi.org/10.1038/s41591-020-0820-9>
- Antezana, G., & Arandia-Guzmán, J. (2020). SARS-CoV-2: estructura, replicación y mecanismos fisiopatológicos relacionados con COVID-19. *Gaceta Medica Boliviana*, 43(2), 172–178. <https://doi.org/10.47993/gmb.v43i2.85>
- Arya, R., Kumari, S., Pandey, B., Mistry, H., Bihani, S. C., Das, A., Prashar, V., Gupta, G. D., Panicker, L., & Kumar, M. (2021). Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. *Journal of Molecular Biology*, 433(2), 166725.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.11.024>
- Ayslan, B., Wei, T., Marjeczak, V., Yang, W., & Zheng, Z.-M. (2021, 9 julio). *Genome structure and coding potentials of human coronaviruses*. [Ilustración]. SARS-

CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication.

<https://doi.org/10.1186/s13578-021-00643-z>

Ayanian, S., Reyes, J., Lynn, L., & Teufel, K. (2020). The association between biomarkers and clinical outcomes in novel coronavirus pneumonia in a US cohort. *Biomarkers in Medicine*, *14*(12), 1091–1097.

<https://doi.org/10.2217/bmm-2020-0309>

Basbus, L., Lapidus, M., Martingano, I., Puga, M. C., & Pollán, J. (2020, 10 agosto).

Índice neutrófilo-linfocito como factor pronóstico de COVID-19. Medicina Argentina. Recuperado 9 de noviembre de 2021, de

https://www.medicinabuenosaires.com/indices-de-2020/volumen-80-ano-2020-s-3-indice/indice_COVID/

Brant, A. C., Tian, W., Majerciak, V., Yang, W., & Zheng, Z. M. (2021a). SARS-CoV-

2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. *Cell & Bioscience*, *11*(1). <https://doi.org/10.1186/s13578-021-00643-z>

Brookes, L. (2020, 26 julio). *El papel de los biomarcadores de pruebas de laboratorio*

en el diagnóstico, la estratificación de riesgos y la supervisión de los pacientes de COVID-19. Siemens Healthiners. Recuperado 8 de noviembre de 2021, de

<https://www.siemens-healthineers.com/pe/news/lab-tests-COVID-19.html>

Carpio-Orantes, L., García-Méndez, S., & Hernández- Hernández, S. N. (2020). Índices

neutrófilo/linfocito, plaqueta/linfocito e inmunidad/inflamación sistémica en pacientes con neumonía por COVID-19. *Gaceta de Mexico*, *156*(6).

<https://doi.org/10.24875/gmm.20000485>

Chang, C. K., Sue, S. C., Yu, T. H., Hsieh, C. M., Tsai, C. K., Chiang, Y. C., Lee, S. J.,

Hsiao, H. H., Wu, W. J., Chang, W. L., Lin, C. H., & Huang, T. H. (2005).

- Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of Biomedical Science*, 13(1), 59–72. <https://doi.org/10.1007/s11373-005-9035-9>
- Ciccullo, A., Borghetti, A., Zileri Dal Verme, L., Tosoni, A., Lombardi, F., Garcovich, M., Biscetti, F., Montalto, M., Cauda, R., & di Giambenedetto, S. (2020). Neutrophil-to-lymphocyte ratio and clinical outcome in COVID-19: a report from the Italian front line. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(2), 106017. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106017>
- Consejo Médico de Canada. (2020, enero). *Valores normales en hematología*. Pruebas Clínicas de Laboratorio. Recuperado 30 de enero de 2022, de <https://mcc.ca/objectives/normal-values/>
- Corrales Ramírez, L. C., & Caycedo Lozano, L. (2020). Principios fisicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología Principios fisicoquímicos de los colorantes. *Nova*, 18(33). <https://doi.org/10.22490/24629448.3701>
- Escobar, G., Matta, J., Taype-Huamaní, W., Ayala, R., & Amado, J. (2020). Características clínico epidemiológicas de pacientes fallecidos por COVID-19 en un hospital nacional de Lima, Perú. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 20(2), 180–185. <https://doi.org/10.25176/rfmh.v20i2.2940>
- Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Coronaviruses*, 1–23. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1
- Fuentes, X., Castiñeiras, M. J., & Queralto, J. M. (1998). *Bioquímica Clínica y Patología Molecular: Vol. II. p. 829–830* (2.^a ed.). Reverte S.A. <https://books.google.com.pe/books?id=nM8ED6gYou0C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q=lactato&f=false>

- Gerencia Regional de Salud. (2021, 9 noviembre). *Análisis de la pandemia por COVID-19*. GERESA, Cusco. Recuperado 9 de noviembre de 2021, de https://geresacusco.shinyapps.io/DASHBOARD_COVID-19_CUSCO/
- González, A. (2019). *Principios de bioquímica clínica y patología molecular: Vol. p. 196–197* (3.^a ed.). Elsevier España, S.L.U.
<https://books.google.com.pe/books?id=oACiDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Guo, Y. R., Cao, Q. D., Hong, Z. S., Tan, Y. Y., Chen, S. D., Jin, H. J., Tan, K. S., Wang, D. Y., & Yan, Y. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Medical Research*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>
- Gutiérrez, J. C., Almonacid, C. C., Hernández, E. D. C., & Mendieta, H. (2020). Valor pronóstico de los marcadores bioquímicos en pacientes con COVID-19. *Nova. 2020 Especial COVID-19*, 18(35), 53–60.
<https://doi.org/10.22490/24629448.4186>
- HemaCount: contador hemograma, citometría hemática* (1.3). (2019). [Software de aplicación móvil]. Google Play Store.
https://play.google.com/store/apps/details?id=mx.com.sousystems.hemacount&hl=es_PE&gl=US
- Hueda-Zavaleta, M., Copaja-Corzo, C., Bardales-Silva, F., Flores-Palacios, R., Barreto-Rocchetti, L., & Benites-Zapata, V. A. (2021). Factores asociados a la muerte por COVID-19 en pacientes admitidos en un hospital público en Tacna, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 38(2), 214–223.
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.382.7158>

- Instituto Nacional de Salud (INS), Perú. (2021, 12 noviembre). *Cómo hacer la prueba de COVID-19*. Ministerio de Salud, MINSA. Recuperado 12 de noviembre de 2021, de <https://web.ins.gob.pe/es/salud-publica/como-hacer-prueba-COVID19>
- Instituto Nacional de Salud, Perú. (2013, mayo). *Manual de procedimientos de laboratorio: laboratorios locales I: laboratorios locales II*. Instituto Nacional de Salud. Repositorio Científico. Recuperado 14 de noviembre de 2021, de <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/handle/INS/153>
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2020, octubre). *Virus Taxonomy*. 2020 Release. Recuperado 9 de noviembre de 2021, de <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/?fbclid=IwAR0xC8s-o51K6l-%203Rk84u2YNrPTHOB7KfkKeD8OTuUdXOYys4AeQg8T9RgE>
- Jegerlehner, S., Suter-Riniker, F., Jent, P., Bittel, P., & Nagler, M. (2021). Diagnostic accuracy of a SARS-CoV-2 rapid antigen test in real-life clinical settings. *International Journal of Infectious Diseases*, *109*, 118–122. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.07.010>
- Koolman, J., & Röhm, K. H. (2004). *Bioquímica: Texto y Atlas: Vol. I. p. 98–100* (3.^a ed.). Médica Panamericana S.A. <https://books.google.com.ec/books?id=f61Mvd-vl60C&printsec=copyright#v=snippet&q=isoenzima%20LDH&f=false>
- Kumar, S., Nyodu, R., Maurya, V. K., & Saxena, S. K. (2020). Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Medical Virology: From Pathogenesis to Disease Control*, 23–31. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4814-7_3

- Lam Cabanillas, E. R., León Risco, A. O., León Risco, K. B., Llamó Hoyos, G. L., López Zavaleta, R. M., Luzuriaga Tirado, E. D. R., Mendoza Blas, A. M., & Huamán Saavedra, J. J. (2021). Molecular basis of COVID-19 pathogenesis and in silico studies of potential pharmacological treatment. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 21(2), 417–432.
<https://doi.org/10.25176/rfmh.v21i1.3327>
- Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2), 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>
- Liu, H., Zhang, H., Wan, G., Sang, Y., Chang, Y., Wang, X., & Zeng, H. (2013). Neutrophil-lymphocyte ratio: a novel predictor for short-term prognosis in acute-on-chronic hepatitis B liver failure. *Journal of Viral Hepatitis*, 21(7), 499–507. <https://doi.org/10.1111/jvh.12160>
- Liu, J., Liu, Y., Xiang, P., Pu, L., Xiong, H., Li, C., Zhang, M., Tan, J., Xu, Y., Song, R., Song, M., Wang, L., Zhang, W., Han, B., Yang, L., Wang, X., Zhou, G., Zhang, T., Li, B., . . . Wang, X. (2020). Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *Journal of Translational Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02374-0>
- Luna Campos, P. F. (2021). Factores clínicos, bioquímicos e imagenológicos predictores de mortalidad en pacientes con COVID-19: un artículo de revisión narrativa. *Repositorio de Tesis. Universidad Privada Antenor Orrego*.
Published. <https://hdl.handle.net/20.500.12759/7176>
- Ma, J. (2021, 10 mayo). *Coronavirus: China's first confirmed COVID-19 case traced back to November 17*. South China Morning Post. Recuperado 11 de agosto de 2021, de

<https://www.scmp.com/news/china/society/article/3074991/coronavirus-chinas-first-confirmed-COVID-19-case-traced-back>

Mercado, M., & Zabaleta, G. (2020, noviembre). *Validación secundaria y verificación del desempeño de la prueba - PDF Descargar libre*. Instituto Nacional de Salud, Colombia. Recuperado 14 de noviembre de 2021, de <https://docplayer.es/190491095-Validacion-secundaria-y-verificacion-del-desempeno-de-la-prueba.html>

Ministerio de Salud. (2021, 9 noviembre). *Sala Situacional COVID 19 en el Perú*. MINSA, Perú. Recuperado 9 de noviembre de 2021, de https://COVID19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp

Ministerio de Salud, Peru. (2009, agosto). *Resolución Ministerial N° 538–2009-MINSA*. <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/246361-538-2009-minsa>

Ministerio de Salud, Perú. (2020, 14 abril). *Resolución Ministerial 193–2020-MINSA*. Gobierno del Perú. Recuperado 12 de noviembre de 2021, de <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/473575-193-2020-minsa>

Ministerio de Salud, Perú. (2022, 20 febrero). *Sala Situacional Covid-19*. Ministerio de Salud. Recuperado 22 de febrero de 2022, de https://covid19.minsa.gob.pe/sala_situacional.asp

Mistry, D. A., Wang, J. Y., Moeser, M. E., Starkey, T., & Lee, L. Y. W. (2021). A systematic review of the sensitivity and specificity of lateral flow devices in the detection of SARS-CoV-2. *BMC Infectious Diseases*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06528-3>

Motta, J. C., Novoa, D. J., Gómez, C. C., Moreno, J. M., Vargas, L., Pérez, J., Millán, H., & Arango, L. I. (2020). Factores pronósticos en pacientes hospitalizados con

- diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 en Bogotá, Colombia. *Biomédica*, 40(Supl. 2), 116–130. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5764>
- Mullis, K. B. (1990, abril). *The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction on JSTOR*. Scientific American. Recuperado 14 de noviembre de 2021, de <http://www.jstor.org/stable/24996713>
- Neuman, B. W., Kiss, G., Kunding, A. H., Bhella, D., Baksh, M. F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J. P., Makino, S., Sawicki, S. G., Siddell, S. G., Stamou, D. G., Wilson, I. A., Kuhn, P., & Buchmeier, M. J. (2011). A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of Structural Biology*, 174(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>
- Organización Mundial de la Salud. (2021, 9 noviembre). *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*. With Vaccination Data. Recuperado 9 de noviembre de 2021, de <https://COVID19.who.int/>
- Organización Mundial de la Salud, OMS. (2020, 29 junio). *Cronología de la respuesta de la OMS a la COVID-19*. Organización Mundial de la Salud. Recuperado 8 de noviembre de 2021, de <https://www.who.int/es/news/item/29-06-2020-COVIDtimeline>
- Pardo, J., Ayarza, L., González-García, P., Salmón, Z., Calvo, J., Gozalo, M., Hernández, J. L., & Olmos, J. M. (2020). Repetition of microbiological tests in suspect of SARS-CoV-2 infection: utility of a score based on clinical probability. *Revista Española de Quimioterapia*, 33(6), 410–414. <https://doi.org/10.37201/req/080.2020>
- Pellanda, L. C., da Ros Wendland, E. M., McBride, A. J. A., Tovo-Rodrigues, L., Ferreira, M. R. A., Dellagostin, O. A., da Silveira, M. F., de Barros, A. J. D., Hallal, P. C., & Victora, C. G. (2020). Sensitivity and specificity of a rapid test

- for assessment of exposure to SARS-CoV-2 in a community-based setting in Brazil. *MedRxiv*. Published. <https://doi.org/10.1101/2020.05.06.20093476>
- Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., Xie, C., Ma, K., Shang, K., Wang, W., & Tian, D. S. (2020). Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*, 71(15), 762–768. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
- Ramos-Peñañiel, C. O., Santos-González, B., Flores-López, E. N., Galván-Flores, F., Hernández-Vázquez, L., Santoyo-Sánchez, A., Montes De Oca-Yemha, R., Bejarano-Rosales, M., Rosas-González, R., Olarte-Carrillo, I., Martínez-Murillo, C., & Martínez-Tovar, A. (2020). Utilidad de los índices neutrófilo/linfocito, monocito/linfocito y linfocito/plaqueta para el pronóstico de complicaciones asociadas a COVID-19. *Gaceta de México*, 156(5). <https://doi.org/10.24875/gmm.20000458>
- Ravi N., Cortade D., Ng E., Wang X. (2020). Diagnostics for SARS-CoV-2 detection: A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape. *Biosensors and Bioelectronics*. 165. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112454>.
- Reed, A. (2020). *Bioquímica Clínica. Guías de Formación*. Abbott Laboratories Inc. Recuperado 14 de noviembre de 2021, de <https://www.corelaboratory.abbott/int/es/knowledge-center/learning-guides>
- Rubio Sánchez, R., Lepe Balsalobre, E., & Viloría Peñas, M. D. M. (2020). Factores pronósticos de gravedad de la infección por SARS-CoV-2. *Advances in Laboratory Medicine / Avances en Medicina de Laboratorio*, 2(2), 259–265. <https://doi.org/10.1515/almed-2020-0069>
- Sakr, M. M., Elsayed, N. S., & El-Housseiny, G. S. (2021). Latest updates on SARS-CoV-2 genomic characterization, drug, and vaccine development; a

comprehensive bioinformatics review. *Microbial Pathogenesis*, 154, 104809.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104809>

Sama, I. E., Ravera, A., Santema, B. T., van Goor, H., ter Maaten, J. M., Cleland, J. G. F., Rienstra, M., Friedrich, A. W., Samani, N. J., Ng, L. L., Dickstein, K., Lang, C. C., Filippatos, G., Anker, S. D., Ponikowski, P., Metra, M., van Veldhuisen, D. J., & Voors, A. A. (2020). Circulating plasma concentrations of angiotensin-converting enzyme 2 in men and women with heart failure and effects of renin-angiotensin-aldosterone inhibitors. *European Heart Journal*, 41(19), 1810–1817. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa373>

Sethuraman, N., Jeremiah, S. S., & Ryo, A. (2020). Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, 323(22), 2249. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>

Shang, J., Han, N., Chen, Z., Peng, Y., Li, L., Zhou, H., Ji, C., Meng, J., Jiang, T., & Wu, A. (2020). Compositional diversity and evolutionary pattern of coronavirus accessory proteins. *Briefings in Bioinformatics*, 22(2), 1267–1278. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa262>

Singh Tomar, P. P., & Arkin, I. T. (2020). SARS-CoV-2 E protein is a potential ion channel that can be inhibited by Gliclazide and Memantine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 530(1), 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.05.206>

Sirvent, J., Baro, A., Morales, M., Sebastian, P., & Saiz, X. (2020). Biomarcadores predictivos de mortalidad en pacientes críticos con COVID-19. *Medicina Intensiva*. Published. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2020.09.010>

Soca Chuquino, R. (2020, 21 agosto). *Valor predictor del índice neutrófilo / linfocito en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad en un Hospital Nivel II-2019. Lima, Perú*. Repositorio Universidad Nacional Federico Villarreal.

Recuperado 11 de noviembre de 2021, de

<http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/4223>

Takahashi, T., Ellingson, M. K., Wong, P., Israelow, B., Lucas, C., Klein, J., Silva, J., Mao, T., Oh, J. E., Tokuyama, M., Lu, P., Venkataraman, A., Park, A., Liu, F., Meir, A., Sun, J., Wang, E. Y., Casanovas-Massana, A., Wyllie, A. L., . . .

Iwasaki, A. (2020). Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature*, 588(7837), 315–320.

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2700-3>

Waliza, A., & Shyamasree, G. (2020). *Clinical Significance of C-reactive Protein*.

Springer.

[https://books.google.com.pe/books?id=iNQPEAAAQBAJ&pg=PR5&dq=http://doi.org/10.1007/978-981-15-6787-2&hl=es-](https://books.google.com.pe/books?id=iNQPEAAAQBAJ&pg=PR5&dq=http://doi.org/10.1007/978-981-15-6787-2&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjTu6Kivpj0AhUZQzABHb8jAcgQ6AF6BAgCEAI#v=onepage&q=http%3A%2F%2Fdoi.org%2F10.1007%2F978-981-15-6787-2&f=false)

[419&sa=X&ved=2ahUKEwjTu6Kivpj0AhUZQzABHb8jAcgQ6AF6BAgCEAI#v=onepage&q=http%3A%2F%2Fdoi.org%2F10.1007%2F978-981-15-6787-2&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=iNQPEAAAQBAJ&pg=PR5&dq=http://doi.org/10.1007/978-981-15-6787-2&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwjTu6Kivpj0AhUZQzABHb8jAcgQ6AF6BAgCEAI#v=onepage&q=http%3A%2F%2Fdoi.org%2F10.1007%2F978-981-15-6787-2&f=false)

Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veerler, D.

(2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281–292.e6.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>

Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2000). *Método UV optimizado (DGKC) para la determinación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero*. https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/ldh_p_uv_unitest_sp.pdf

Wiener Laboratorios S.A.I.C. (2005). *Prueba de aglutinación en placa para la determinación de Proteína C Reactiva*. [https://www.wiener-](https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/ldh_p_uv_unitest_sp.pdf)

lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/pcr_latex_directo
_sp.pdf

Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X., Su, Y., Wang, X., Yuan, J., Li, T., Li, J., Qian, S., Hong, C., Wang, F., Liu, Y., Wang, Z., He, Q., Li, Z., He, B., Zhang, T., . . . Zhang, Z. (2020). Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 71(16), 2027–2034. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>

ANEXOS

Anexo 01: Análisis realizados a los pacientes del estudio en la U.E. 410 Hospital de Quillabamba.

Fecha de ingreso	Pacientes	Edad	*G	Desenlace		Fechas de exámenes	RESULTADOS							
				Alta	Deceso		Leucocitos (cel/mm3)	*N	Neutrófilos (cel/mm3)	*L	Linfocitos (cel/mm3)	*NL	*DHL (U/L)	*PCR (mg/l)
2/4/2021	Paciente 1	55	M		11/4/2021	10/4/2021	6200	93	5766	5	310	18.60	820	++
2/4/2021	Paciente 2	46	M	4/4/2021		2/4/2021	7500	76	5700	18	1350	4.22	230	+
2/4/2021	Paciente 3	62	M		3/4/2021	2/4/2021	13670	94	12850	6	820	15.67	531	+++
2/4/2021	Paciente 4	68	F		6/4/2021	5/4/2021	9800	87	8526	13	1274	6.69	883	++
3/4/2021	Paciente 5	80	M		6/4/2021	3/4/2021	10100	90	9090	10	1010	9.00	1085	++
3/4/2021	Paciente 6	46	F	23/4/2021		23/4/2021	7200	78	5616	20	1440	3.90	303	+
4/4/2021	Paciente 7	47	M		12/4/2021	12/4/2021	8200	72	5904	22	1804	3.27	530	++
4/4/2021	Paciente 8	29	M	10/4/2021		10/4/2021	9800	72	7056	22	2156	3.27	520	+
4/4/2021	Paciente 9	73	M		21/4/2021	19/4/2021	5200	92	4784	6	312	15.33	563	+++
5/4/2021	Paciente 10	40	M	14/4/2021		14/4/2021	10800	41	4428	52	5616	0.79	252	-
5/4/2021	Paciente 11	33	M	9/4/2021		9/4/2021	7800	70	5460	26	2028	2.69	653	+
5/4/2021	Paciente 12	68	M	11/4/2021		11/4/2021	5400	40	2160	56	3024	0.71	250	+
6/4/2021	Paciente 13	76	F		9/4/2021	8/4/2021	9200	74	6808	21	1932	3.52	734	+++
7/4/2021	Paciente 14	50	F	9/4/2021		7/4/2021	14200	84	11928	13	1846	6.46	230	++
7/4/2021	Paciente 15	85	M	14/4/2021		13/4/2021	7100	74	5254	22	1562	3.36	340	+
7/4/2021	Paciente 16	32	F	8/4/2021		7/4/2021	6200	52	3224	43	2666	1.21	392	++
7/4/2021	Paciente 17	14	M	9/4/2021		8/4/2021	11200	73	8176	19	2128	3.84	230	-
8/4/2021	Paciente 18	78	M		10/4/2021	8/4/2021	9600	85	8160	8	768	10.63	874	++
8/4/2021	Paciente 19	68	F		14/4/2021	14/4/2021	14600	62	9052	31	4526	2.00	1719	++
8/4/2021	Paciente 20	74	M		10/4/2021	8/4/2021	12100	82	9922	10	1210	8.20	457	+++
9/4/2021	Paciente 21	46	M		28/4/2021	26/4/2021	11500	84	9660	14	1610	6.00	920	+++
9/4/2021	Paciente 22	73	F		12/4/2021	12/4/20021	16200	94	15228	5	810	18.80	765	++
10/4/2021	Paciente 23	80	F		12/4/2021	11/4/2021	5400	90	4860	7	378	12.86	652	+++
11/4/2021	Paciente 24	73	M	7/5/2021		4/5/2021	10500	84	8820	6	630	14.00	395	+++
12/4/2021	Paciente 25	79	F		14/4/2021	12/4/2021	13500	78	10530	19	2565	4.11	950	++
12/4/2021	Paciente 26	66	F	22/4/2021		19/4/2021	5400	56	3024	38	2052	1.47	382	+
13/4/2021	Paciente 27	63	M		18/4/2021	16/4/2021	10500	85	8925	8	840	10.63	1120	++
14/4/2021	Paciente 28	29	F	27/4/2021		27/4/2021	6800	67	4556	28	1904	2.39	232	+
14/4/2021	Paciente 29	92	F		19/4/2021	18/4/2021	11300	89	10057	8	904	11.13	1078	+++
14/4/2021	Paciente 30	56	M	19/4/2021		19/4/2021	5900	74	4366	14	826	5.29	303	+
14/4/2021	Paciente 31	62	F	25/4/2021		24/4/2021	13600	93	12648	4	544	23.25	250	+
15/4/2021	Paciente 32	32	F	20/4/2021		19/4/2021	7600	82	6232	14	1064	5.86	443	+
16/4/2021	Paciente 33	41	F	21/4/2021		19/4/2021	5100	56	2856	42	2142	1.33	935	++
16/4/2021	Paciente 34	85	F		22/4/2021	19/4/2021	8400	88	7392	5	420	17.60	506	++
16/4/2021	Paciente 35	44	M	26/4/2021		20/4/2021	8600	84	7224	13	1118	6.46	692	+
16/4/2021	Paciente 36	64	F		18/4/2021	18/4/2021	7100	93	6603	3	213	31.00	1006	++
17/4/2021	Paciente 37	82	F		21/4/2021	19/4/2021	10300	92	9476	6	618	15.33	340	++
17/4/2021	Paciente 38	31	M	2/5/2021		26/4/2021	3700	39	1443	50	1850	0.78	274	-
18/4/2021	Paciente 39	77	M		21/4/2021	19/4/2021	8600	90	7740	8	688	11.25	80	++
19/4/2021	Paciente 40	76	F		28/4/2021	26/4/2021	10200	90	9180	9	918	10.00	987	+++
19/4/2021	Paciente 41	28	M	22/4/2021		22/4/2021	7850	72	5652	18	1413	4.00	548	++
19/4/2021	Paciente 42	38	M	23/4/2021		19/4/2021	11000	92	10120	6	660	15.33	490	++
19/4/2021	Paciente 43	35	M	25/4/2021		24/4/2021	8200	64	5248	36	2952	1.78	838	+
19/4/2021	Paciente 44	78	M	18/5/2021		18/5/2021	5880	64	3763	25	1470	2.56	247	-
19/4/2021	Paciente 45	68	M	3/5/2021		3/5/2021	8500	78	6630	20	1700	3.90	246	+
20/4/2021	Paciente 46	52	F	22/4/2021		22/4/2021	9800	87	8526	11	1078	7.91	490	+
21/4/2021	Paciente 47	64	M		22/4/2021	21/4/2021	9200	80	7360	18	1656	4.44	640	++

21/4/2021	Paciente 48	74	F		23/4/2021	21/4/2021	11700	93	10881	5	585	18.60	763	+++
21/4/2021	Paciente 49	36	M	2/5/2021		26/4/2021	6100	73	4453	25	1525	2.92	430	++
22/4/2021	Paciente 50	30	F	28/4/2021		22/4/2021	10200	89	9078	8	816	11.13	760	++
22/4/2021	Paciente 51	74	M		28/4/2021	27/4/2021	12400	93	11532	5	620	18.60	1791	++
23/4/2021	Paciente 52	59	F		27/4/2021	26/4/2021	11700	77	9009	16	1872	4.81	592	+++
23/4/2021	Paciente 53	69	F	24/4/2021		23/4/2021	5200	50	2600	44	2288	1.14	270	+
23/4/2021	Paciente 54	79	F		29/4/2021	29/4/2021	9500	85	8075	10	950	8.50	787	+++
23/4/2021	Paciente 55	18	F	4/5/2021		29/4/2021	9000	68	6120	26	2340	2.62	430	+
23/4/2021	Paciente 56	43	F	6/5/2021		5/5/2021	5100	64	3264	35	1785	1.83	386	+++
24/4/2021	Paciente 57	57	M	28/4/2021		27/4/2021	6000	68	4080	28	1680	2.43	850	+++
24/4/2021	Paciente 58	84	F		28/4/2021	27/4/2021	10000	86	8600	10	1000	8.60	694	++
25/4/2021	Paciente 59	71	M		6/5/2021	5/5/2021	9850	91	8964	8	788	11.38	1126	+++
25/4/2021	Paciente 60	28	M	2/5/2021		1/5/2021	6000	72	4320	18	1080	4.00	548	++
25/4/2021	Paciente 61	68	M	4/5/2021		3/5/2021	5100	77	3927	22	1122	3.50	773	+++
25/4/2021	Paciente 62	45	M	10/5/2021		9/5/2021	7200	73	5256	25	1800	2.92	173	+++
25/4/2021	Paciente 63	58	F		27/4/2021	25/4/2021	10220	87	8891	11	1124	7.91	490	+
25/4/2021	Paciente 64	58	M		29/4/2021	27/4/2021	12060	91	10975	7	844	13.00	703	+++
25/4/2021	Paciente 65	78	M		28/4/2021	26/4/2021	16300	90	14670	2	326	45.00	820	++
27/4/2021	Paciente 66	75	F		28/4/2021	27/4/2021	9750	84	8190	14	1365	6.00	703	++
28/4/2021	Paciente 67	69	M	10/5/2021		7/5/2021	5100	64	3264	33	1683	1.94	329	-
28/4/2021	Paciente 68	63	F	15/5/2021		13/4/2021	6800	69	4692	27	1836	2.56	322	+++
28/4/2021	Paciente 69	55	F	30/4/2021		28/4/2021	6200	69	4278	27	1674	2.56	720	+++
29/4/2021	Paciente 70	42	M	5/5/2021		3/5/2021	10000	86	8600	11	1100	7.82	495	++
30/4/2021	Paciente 71	88	M		16/5/2021	16/5/2021	7200	98	7056	1	72	98.00	586	+++
30/4/2021	Paciente 72	72	M		5/5/2021	4/5/2021	10200	94	9588	4	408	23.50	831	+++
1/5/2021	Paciente 73	48	M		7/5/2021	5/5/2021	9375	92	8625	6	563	15.33	638	+++
1/5/2021	Paciente 74	78	M		10/5/2021	7/5/2021	8100	94	7614	5	405	18.80	384	++
1/5/2021	Paciente 75	82	M		16/5/2021	15/5/2021	6300	86	5418	10	630	8.60	890	+++
2/5/2021	Paciente 76	47	F	17/5/2021		16/5/2021	6900	85	5865	13	897	6.54	240	+++
2/5/2021	Paciente 77	79	M		7/5/2021	6/5/2021	2900	91	2639	9	261	10.11	669	++
2/5/2021	Paciente 78	98	M		2/5/2021	2/5/2021	2300	26	598	68	1564	0.38	920	++
3/5/2021	Paciente 79	71	M		4/5/2021	3/5/2021	9600	72	6912	22	2112	3.27	962	+++
3/5/2021	Paciente 80	92	M	7/5/2021		4/5/2021	5005	72	3604	21	1051	3.43	211	+
4/5/2021	Paciente 81	67	F		8/5/2021	4/5/2021	12300	90	11070	8	984	11.25	708	+++
4/5/2021	Paciente 82	84	M		7/5/2021	5/5/2021	9000	74	6660	21	1890	3.52	515	+++
7/5/2021	Paciente 83	50	M	11/5/2021		10/5/2021	6100	77	4697	17	1037	4.53	432	+++
7/5/2021	Paciente 84	42	M	15/5/2021		14/5/2021	8000	89	7120	10	800	8.90	287	+
7/5/2021	Paciente 85	67	F	15/5/2021		13/5/2021	6900	54	3726	38	2622	1.42	220	+++
7/5/2021	Paciente 86	78	M		13/5/2021	11/5/2021	7900	91	7189	6	474	15.17	1021	+++
9/5/2021	Paciente 87	67	M		9/5/2021	9/5/2021	14000	90	12600	8	1120	11.25	1236	+++
9/5/2021	Paciente 88	42	F	12/5/2021		12/5/2021	6950	72	5004	25	1738	2.88	228	-
9/5/2021	Paciente 89	66	M		17/5/2021	16/5/2021	9800	97	9506	2	196	48.50	1200	++
10/5/2021	Paciente 90	34	F	15/5/2021		10/5/2021	9000	62	5580	38	3420	1.63	320	++
10/5/2021	Paciente 91	39	F	18/5/2021		18/5/2021	8400	51	4284	36	3024	1.42	313	+
12/5/2021	Paciente 92	54	F	16/5/2021		16/5/2021	6300	98	6174	2	126	49.00	225	++
14/5/2021	Paciente 93	63	M		14/5/2021	14/5/2021	9000	89	8010	6	540	14.83	2100	+++
15/5/2021	Paciente 94	59	M	21/5/2021		19/5/2021	8800	64	5632	34	2992	1.88	200	++
15/5/2021	Paciente 95	69	F		23/5/2021	21/5/2021	5100	97	4947	3	153	32.33	897	++
16/5/2021	Paciente 96	42	M	18/5/2021		16/5/2021	10100	57	5757	37	3737	1.54	332	++
16/5/2021	Paciente 97	54	F	24/5/2021		23/5/2021	4800	72	3456	26	1248	2.77	316	++
17/5/2021	Paciente 98	44	M	20/5/2021		19/5/2021	5400	88	4752	6	324	14.67	813	+++
17/5/2021	Paciente 99	37	F	25/5/2021		23/5/2021	6600	73	4818	24	1584	3.04	374	+
17/5/2021	Paciente 100	63	M		23/5/2021	22/5/2021	10200	89	9078	6	612	14.83	1247	++
18/5/2021	Paciente 101	86	F		20/5/2021	18/5/2021	7600	60	4560	32	2432	1.88	586	++
18/5/2021	Paciente 102	27	F	19/5/2021		18/5/2021	7900	86	6794	8	632	10.75	1121	+++
19/5/2021	Paciente 103	68	M	25/5/2021		19/5/2021	7900	67	5293	32	2528	2.09	468	-
20/5/2021	Paciente 104	89	F	22/5/2021		20/5/2021	9100	85	7735	14	1274	6.07	484	-
20/5/2021	Paciente 105	49	M	4/6/2021		2/6/2021	8500	96	8160	4	340	24.00	201	++
20/5/2021	Paciente 106	77	M		26/5/2021	23/5/2021	7800	90	7020	8	624	11.25	782	+++
22/5/2021	Paciente 107	71	M	4/6/2021		2/6/2021	10600	92	9752	8	848	11.50	412	+++

22/5/2021	Paciente 108	65	M	30/5/2021		29/5/2021	10800	67	7236	30	3240	2.23	753	+++
25/5/2021	Paciente 109	53	F	27/5/2021		2/6/2021	6200	90	5580	10	620	9.00	326	+++
25/5/2021	Paciente 110	34	M	29/5/2021		29/5/2021	7100	66	4686	26	1846	2.54	366	+++
25/5/2021	Paciente 111	33	M	29/5/2021		29/5/2021	9500	61	5795	29	2755	2.10	1178	+++
25/5/2021	Paciente 112	78	F		2/6/2021	2/6/2021	7000	93	6510	6	420	15.50	628	+++
25/5/2021	Paciente 113	50	F		3/6/2021	2/6/2021	7400	93	6882	7	518	13.29	681	++
25/5/2021	Paciente 114	42	M		30/5/2021	29/5/2021	19200	88	16896	11	2112	8.00	1446	+++
26/5/2021	Paciente 115	70	F	29/5/2021		2/6/2021	12400	81	10044	18	2232	4.50	253	-
28/5/2021	Paciente 116	70	M		1/6/2021	1/6/2021	11205	63	7059	33	3698	1.91	242	+++
28/5/2021	Paciente 117	55	M		1/6/2021	2/6/2021	9000	90	8100	8	720	11.25	1412	+++
31/5/2021	Paciente 118	66	M		2/6/2021	31/5/2021	8400	85	7140	13	1092	6.54	793	+++

Legenda:

G: Género

N: Neutrófilos

L: Linfocitos

INL: Índice neutrófilos / linfocitos

Anexo 2: Consentimiento informado para pacientes hospitalizados por COVID-19

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN	
Título:	INDICE NEUTROFILO-LINFOCITOS, LACTATO DESHIDROGENASA, PROTEINA C REACTIVA; Y TASA DE MORTALIDAD DE PACIENTES ANTIGENO REACTIVO COVID-19 HOSPITALIZADOS EN LA U.E. 410 HOSPITAL DE QUILLABAMBA
Investigadores:	Bach. Biol. José Luis Ramírez Aparco Mgt. Blga. Elsa Gladys Aguilar Ancori
Instituciones:	Escuela Profesional de Biología – Facultad de Ciencias – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Centro de Atención Temporal (CAT) – COVID-19 de la Unidad Ejecutora N° 410 Hospital Quillabamba.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA USO DE RESULTADOS DE EXÁMENES DE LABORATORIO E INFORMACIÓN CLÍNICA DEL PACIENTE CON PROPÓSITOS DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Introducción

El COVID-19 es una enfermedad infecciosa de origen vírico. Actualmente, el número de contagiados en el Perú es de 1.5 millones aproximadamente, y el número de decesos asciende a más de 50 831. En Quillabamba se registra más de 4200 infectados con más de 110 muertos hasta la fecha según el Ministerio de Salud. Uno de los problemas más acuciantes en nuestro medio es la falta de evidencia científica que nos ayude a comprender los mecanismos de acción del patógeno, la respuesta del sistema inmunológico, la progresión de la enfermedad, y el tratamiento médico adecuado. Por estas razones, es importante desarrollar investigación biomédica para mejorar la eficacia y las estrategias de intervención clínica en los pacientes, especialmente de aquellos hospitalizados en nuestro Hospital de Quillabamba.

En este sentido, se le solicita a usted; autorizar la toma de muestras serológicas, las veces que sean necesarias durante el tiempo que dure la hospitalización; disposición de los resultados de los exámenes y la información clínica obtenida del paciente; la sistematización de los datos, su análisis, interpretación y discusión; y la publicación de estos resultados en revistas de interés académico, manteniendo el anonimato de los pacientes.

Toma de muestras e información clínica

Para el desarrollo de esta investigación se requieren muestras de mucosa nasal útiles para confirmar o descartar infección por el virus SARS-Cov-2, y sangre del paciente para el conteo de células sanguíneas y determinación de concentraciones de sustancias específicas. Asimismo, se requiere acceso a la información clínica del paciente. Las muestras de mucosa se obtienen a través de un hisopado nasofaríngeo, que consiste en la introducción de un hisopo a través de las fosas nasales, el cual recogerá muestras del virus para ser identificados en unos kits de pruebas rápidas antigénicas.

Las muestras de sangre se obtienen de cualquiera de las venas del antebrazo a través de una técnica llamada venopunción. Primeramente, se desinfecta la zona de punción con alcohol al 70%, luego se ejerce presión de 360° en el brazo con un ligador de goma unos 20cm lejos del área de extracción de sangre. Se utilizan agujas vacutainer y tubos con y sin anticoagulante. Los tubos sin anticoagulante nos permiten obtener suero, útiles para la mayoría de exámenes bioquímicos e inmunológicos, mientras que a partir de los tubos con anticoagulante se obtiene plasma, los cuales son útiles para hemograma y estudios de coagulación.

La información de las historias clínicas, provienen directamente de la evaluación del médico, los cuales nos proveen información sobre factores de riesgo o comorbilidades, diagnósticos y cuadros epidemiológicos del paciente.

Todos los pacientes atendidos en el Centro de Atención Temporal (CAT) para pacientes COVID-19 están cubiertos por el Seguro Integral de Salud (SIS) por lo que, no se requiere pago adicional alguno por los exámenes que se van a realizar en este estudio.

Posibles consecuencias y controles establecidos.

Después del hisopado nasofaríngeo, sentirá una picazón en el interior de sus fosas nasales y ligero ardor que se aliviará a los pocos minutos de terminado el examen. No se ha observado mayores consecuencias al respecto.

Después de las tomas de muestras de sangre, los hematomas en el área de punción son las consecuencias más comunes, aunque pueden reducirse considerablemente cuando se realiza una buena técnica de extracción. Por otro lado, la aparición de hematomas depende de las condiciones fisiológicas y anatómicas del paciente hospitalizado. En muy pocos casos los hematomas permanecen varios días, dificultando la toma de muestras, y en muchos casos, la inflamación se reabsorbe y el paciente no tiene mayores inconvenientes. De cualquier forma, los hematomas se previenen realizando extracciones de sangre en diferentes puntos y venas del antebrazo, siguiendo cuidadosamente la metodología de extracción.

En cuanto a la disposición de la información clínica, no se observan mayores consecuencias para el paciente. La investigación asegura la confidencialidad de los resultados y el anonimato de cada paciente en estudio. Los resultados se utilizarán únicamente con propósitos de investigación biomédica.

Personal a cargo de la investigación.

El tesista Bachiller en Ciencias Biológicas José Luis Ramírez Aparco, con la asesoría de la Mgt. Blga. Elsa Gladys Aguilar Ancori, Docente Principal de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. La investigación se desarrolla con la autorización de la Dirección de la

institución en mención. El cual se adjunta al presente consentimiento informado.

Descripción y objetivos de la investigación

La investigación pretende determinar la relación entre unas concentraciones de sustancias específicas en la sangre, que aparecen cuando el paciente desarrolla la enfermedad por COVID-19 junto a los factores de riesgo, y la tasa de mortalidad producto del avanzado estado de la enfermedad. La relación entre estos valores nos permitirá estudiar posibles factores pronósticos de la progresión de la enfermedad, al mismo tiempo, nos ayudará a mejorar nuestras estrategias de intervención clínica y el tratamiento proporcionado a los pacientes hospitalizados en el Centro de Atención Temporal de pacientes con COVID-19 del Hospital de Quillabamba.

Retiro voluntario de la investigación

Su retiro de la investigación es voluntario. Tiene derecho a retirar su consentimiento en cualquier momento sin que esto tenga un efecto negativo sobre la calidad de atención médica que reciba. Si desea retirar su consentimiento, por favor informe al personal de investigación. Si retira su consentimiento, sus datos clínicos y resultados de exámenes de laboratorio no serán utilizados como parte del estudio.

PERSONAS A CONTACTAR. Si usted:

- Tiene preguntas sobre la investigación y el almacenamiento de sus datos contactar al tesista Bach. Blgo. José Luis Ramírez Aparco, llamando al 950311285 o escribiendo al correo electrónico ramirez.joseluis25@gmail.com.
- Mgt. Blga. Elsa Gladys Aguilar Ancorí, investigadora asesora de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Celular: 987102047 o al correo: elsa.aguilar@unsaac.edu.pe

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA USO DE RESULTADOS DE EXÁMENES DE LABORATORIO E INFORMACIÓN CLÍNICA DEL PACIENTE CON PROPÓSITOS DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Mi firma a continuación indica que yo acepto que mis datos provenientes de exámenes de laboratorio e historia clínica sean utilizados con fines de investigación presente y futura. Entiendo que esta aceptación es voluntaria, que no recibiré ningún pago por la misma. También entiendo que, si no acepto, puedo solicitar mi retiro voluntario del presente estudio.

Presto libremente mi conformidad para:

(Marcar una opción)
<input type="checkbox"/> Sí deseo <input type="checkbox"/> No deseo proporcionar el uso de mis datos para investigación biomédica.

Nombres y apellidos del paciente / apoderado: _____

Si es familiar apoderado, por favor indique nombre del paciente: _____

Firma del paciente / apoderado: _____

DNI N° del paciente / apoderado: _____


Fecha y hora: _____

“Le he explicado este proyecto al participante y he contestado todas sus preguntas. Creo que él comprende la información escrita en este documento y accede a participar de manera voluntaria.”

Nombre, apellidos y firma de persona que obtiene el consentimiento

Fecha y hora

Anexo 2: Autorización de ejecución de trabajo de investigación

**CUSCO**
GOBIERNO REGIONAL
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD CUSCO
U.E. 410 Hospital de Quillabamba
DIRECCIÓN EJECUTIVA


"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

Quillabamba, 07 de Abril del 2021.

Señor:
M.C. Aldo MEZA SALAZAR.
JEFE DEL CENTRO DE ATENCIÓN TEMPORAL COVID - 19
Presente.-

ASUNTO: Autorización para recabar información para Tesis de Investigación.


De mi mayor consideración.

Previo un atento y cordial saludo tengo a bien dirigirme a Usted, con la finalidad de hacer de su conocimiento que la Dirección Ejecutiva autoriza al Bach. Blgo. José Luis Ramírez Aparco, quien realizará los procedimientos respectivos para poder elaborar la tesis de investigación para la obtención de su Título Profesional de Biólogo, denominado "Índice neutrófilo – linfocito, lactato deshidrogenasa, proteína C reactiva, y tasa de mortalidad de pacientes antígeno reactivo COVID-19 hospitalizados en la U.E. 410- Hospital Quillabamba.

Por lo que se solicita brindar las facilidades del caso para que pueda realizar dicho trabajo.

En espera de la atención que le brinde al presente, reitero a Ud., las muestras de mi estima personal.

Atentamente.


MEd. Jorge D. Cevallos Sotomayor
CMP 20588
DIRECTOR

C.c
#G08gao

AV. HERRERA, CORONADO Nº 106. TEL: 052-261000 LA COMISIÓN
TEL: 052-261000-261001-261002-261003
WWW.GOBREGIONALCUSCO.GOV.PE
DIRECCIONREGIONAL@GOB.CUSCO

Anexo 3: Inserto del reactivo proteína C reactiva en látex para identificación de antígenos



PCR-látex

directo

Prueba de aglutinación en placa para la determinación de Proteína C Reactiva

SIGNIFICACION CLINICA

La Proteína C Reactiva (PCR) es una proteína termolábil que no atraviesa la barrera placentaria y cuya movilidad electroforética se encuentra entre las zonas de las α y β globulinas. Su nombre se debe a la capacidad para precipitar los polisacáridos C de los pneumococos.

Es una de las llamadas proteínas de fase aguda y se incrementa en suero, en una gran variedad de enfermedades inflamatorias o como respuesta a necrosis tisular.

Su determinación es importante debido a que aumenta rápidamente al comienzo de la enfermedad, 14 a 26 horas luego de la inflamación o injuria tisular y desaparece en la etapa de recuperación, apareciendo sólo durante la fase activa del proceso inflamatorio.

La PCR se encuentra comúnmente aumentada en: artritis reumatoidea activa, infecciones virales, tuberculosis, fiebre reumática activa, infarto agudo de miocardio, etc. También se la puede hallar luego de una operación quirúrgica y en gran porcentaje luego de transfusiones sanguíneas. La determinación de PCR no sólo indica la intensidad de la enfermedad sino también la respuesta del paciente a un tratamiento dado.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La PCR se detecta en suero por reacción con un anticuerpo específico adsorbido sobre un soporte inerte de látex. La PCR se une a los anticuerpos adsorbidos produciendo la aglutinación de las partículas de látex.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: suspensión de partículas de látex-poliestireno sensibilizadas con anticuerpos anti-PCR.

Control Negativo: dilución de suero negativo.

Control Positivo: dilución de suero positivo.

REACTIVOS NO PROVISTOS

Solución fisiológica.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo A: agitar bien y luego cambiar la tapa ciega por la tapa gotero suministrada adicionalmente.

Controles Positivo y Negativo: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los Reactivos Provistos son para uso diagnóstico "in vitro". Los Controles han sido examinados para antígeno de superficie del virus de hepatitis B, virus de la hepatitis C y anticuerpos contra HIV 1/2, encontrándose no reactivos. No obstante,

deben ser empleados como si se tratara de material infectivo. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

La autoaglutinación del Reactivo A es indicio de deterioro del mismo. En tal caso desechar.

MUESTRA

Suero

a) Recolección: obtener suero de la manera usual.

b) Aditivos: no se requieren.

c) Sustancias interferentes conocidas: los sueros marcadamente lipémicos o contaminados pueden dar resultados falsamente positivos.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero debe ser preferentemente fresco. En caso de no procesarse en el momento puede conservarse hasta 24 horas en refrigerador (2-10°C) y hasta 4 semanas congelado a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO

1- Provisto

- placas de plástico o vidrio fondo negro

2- No Provisto

- material volumétrico adecuado para efectuar mediciones y diluciones de las muestras

- palillos mezcladores descartables

- cronómetro

- lámpara o fuente de luz

PROCEDIMIENTO

Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente antes de usar. Agitar el Reactivo A antes de usar, vaciando previamente la pipeta del gotero.

I- TECNICA CUALITATIVA

Muestra	1 gota (50 ul)
Reactivo A	1 gota (50 ul)

Mezclar con un palillo descartable hasta obtener una suspensión uniforme en toda la superficie del círculo. Inmediatamente disparar un cronómetro, balancear suavemente la placa y observar macroscópicamente el resultado bajo un haz luminoso dentro de los 2 minutos.

II- TITULACION

Los sueros positivos pueden titularse efectuando diluciones seriadas en 8 tubos de Kahn.

- Colocar 0,5 ml de solución fisiológica en cada uno de los tubos.
- Agregar 0,5 ml de suero al tubo Nº 1 y mezclar. Transferir 0,5 ml de esta dilución al tubo Nº 2 y mezclar, continuando así las diluciones hasta el último tubo. Las diluciones así obtenidas equivalen a 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, etc.
- Ensayar cada dilución según la TÉCNICA I.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Negativo: suspensión homogénea.

Positivo: aglutinación que aparece dentro de los 2 minutos. Se califica de 1 a 4 +.

Título: inversa de la máxima dilución a la que se produce aglutinación visible macroscópicamente.

La concentración aproximada de PCR en la muestra puede ser calculada por la fórmula siguiente:

$$\text{PCR (mg/l)} = \text{Título} \times \text{Sensibilidad de la reacción (6 mg/l)}$$

Ejemplo: la muestra presenta un título de 1:2. Su concentración de PCR es de $2 \times 6 = 12 \text{ mg/l}$.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar simultáneamente el Control Negativo y el Control Positivo provistos, empleando una gota del Control correspondiente en lugar de la muestra y una gota del Reactivo A según la técnica cualitativa.

VALORES DE REFERENCIA

Hasta 6 mg/l.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Tiempos de reacción mayores de dos minutos pueden producir reacciones falsamente positivas por efectos de secado de los reactivos.

PERFORMANCE

Sensibilidad: PCR-Látex *directo* detecta 6 mg/l de proteína C reactiva.

PRESENTACION

Equipo para 50 determinaciones (Cód. 1683152).

BIBLIOGRAFIA

- Singer, J.M.; Plotz, C.M.; Parker, E. and Elster, S.K. - Am. J. Clin. Path. 28:611 (1957).
- Nilson, L.A. - Acta Pathol. Microbiol. Scand. 73:129 (1968).
- Scherfarth, F.; Pérez-Miranda, M; Goetz, H. - Blut. 20:296 (1970).

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

Representante autorizado en la Comunidad Europea

Uso diagnóstico "in vitro"

Contenido suficiente para <n> ensayos

Fecha de caducidad

Límite de temperatura (conservar a)

No congelar

Riesgo biológico

Volumen después de la reconstitución

Contenido

Número de lote

Elaborado por:

Nocivo

Corrosivo / Cáustico

Irritante

Consultar instrucciones de uso

Calibrador

Control

Control Positivo

Control Negativo

Número de catálogo

Anexo 4: Inserto del reactivo lactato deshidrogenasa LDH-L



LDH-L

Para la determinación de lactato deshidrogenasa en suero, plasma y líquido cefalorraquídeo

SIGNIFICACION CLINICA

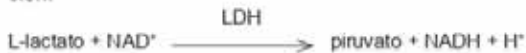
La determinación de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) tiene una gran variedad de aplicaciones clínicas. Por ser una enzima intracelular, su elevación es índice de daño tisular con la consecuente liberación de ésta a la circulación. El daño puede variar desde una simple anoxia con ligero daño celular y pérdida de citoplasma hasta necrosis celular severa generando diversos grados de elevación de la actividad enzimática.

En el infarto agudo de miocardio, la actividad de LDH total (junto con las CK y AST), constituye un elemento importante de diagnóstico. La misma comienza a elevarse 12-24 horas después de producido el infarto; alcanza un pico entre las 48-72 horas y permanece elevada hasta el séptimo o décimo día. También se registra un aumento de actividad de LDH total en pacientes con necrosis hepática (producida por agentes tóxicos o por infección aguda como la hepatitis viral) e incluso acompañando a necrosis tubular renal, pielonefritis, etc. En los tumores sanguíneos como leucemias y linfomas también se observan valores aumentados de la LDH.

En el líquido cefalorraquídeo (LCR) el valor normal es de aproximadamente el 10% de su valor en suero, aumentando marcadamente su valor en meningitis bacterianas. En las meningitis virales la LDH aumenta su valor solo en el 10% de los casos.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El método se basa en el siguiente esquema de reacción:



La velocidad de formación de NADH es directamente proporcional a la actividad catalítica de la LDH y se determina midiendo el aumento de la absorbancia a 340 nm.

Las concentraciones del ensayo están optimizadas de acuerdo a los procedimientos de referencia para la medición de la actividad catalítica de las enzimas a 37°C descriptos por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de metilglucamina (MEG) 400 mM y lactato 61 mM; pH 9,4 a 37°C.

B. Reactivo B: solución conteniendo NAD 61 mM.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Solución fisiológica (NaCl 9 g/l).

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. Una vez abiertos, no deben permanecer destapados ni fuera del refrigerador por períodos prolongados. Evitar contaminaciones. Proteger de la luz directa.

MUESTRA

Suero, plasma o LCR

a) Recolección: obtener el suero de la manera habitual, libre de hemólisis. También pueden usarse plasma o LCR. El plasma debe estar libre de hemólisis y de células ya que las plaquetas poseen elevadas concentraciones de LDH. El plasma recogido en tubos primarios de acuerdo a las instrucciones del fabricante puede contener células en suspensión, generando resultados falsamente aumentados. Se recomienda transferir el plasma a un tubo secundario y centrifugar.

b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de heparina como anticoagulante. También puede utilizarse EDTA o citrato. En caso de utilizar EDTA, se ha demostrado que puede disminuir la actividad de la LDH hasta un 10%.

c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por triglicéridos hasta 1400 mg/dl, bilirrubina hasta 30 mg/dl. La hemoglobina interfiere significativamente en todo su rango de concentraciones por lo que se recomienda usar muestras libres de hemólisis.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: separar el suero o el plasma del coágulo o de las células y efectuar el test inmediatamente. En caso de no procesarse en el momento, puede conservarse 7 días a 20-25°C, 4 días a 2-10°C o 6 semanas a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Micropipetas para medir los volúmenes indicados
- Analizador automático

PROCEDIMIENTO

(Analizador automático)

A continuación se detalla un procedimiento general para **LDH-L** en un analizador automático. Cuando se implemente la técnica en un analizador en particular, siga las instrucciones de trabajo del mismo. En una cubeta mantenida a la temperatura elegida, colocar:

Muestra o Calibrador	4 ul
Reactivo A	100 ul
Incubación durante 300 segundos a 37°C	
Reactivo B	20 ul

Incubación durante 120 segundos a 37°C.

[LDH] = ($\Delta A/min$) x factor; $\epsilon_{NAD^+/NADH} = 6230 M^{-1} cm^{-1}$

Los analizadores Wiener lab. calculan automáticamente la actividad de LDH de cada muestra.

CALIBRACION

El método **LDH-L** fue estandarizado frente a la fórmula original del IFCC usada como referencia.

El **Calibrador A plus** es procesado de la misma manera que las muestras y a partir de él se calcula el factor correspondiente. Se recomienda usar calibración a dos puntos después de cambiar lote de reactivo y cuando el control de calidad lo requiera.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con actividades conocidas de lactato deshidrogenasa, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Adultos 135 -240 U/l

Niños (2 - 15 años) 120 -300 U/l

Recién nacidos (4 a 20 días) 240 - 600 U/l

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia, teniendo en cuenta sexo, edad, hábitos alimenticios, medicación y otros factores de su población.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

LDH (U/l) x 0,0167 = LDH (ukat/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

Las muestras de plasma deben ser centrifugadas previamente a realizar el ensayo.

Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas.

Se recomienda utilizar **Standatrol S-E 2 niveles** de Wiener lab, como material de control de calidad, ya que con controles de otras marcas comerciales pueden obtenerse valores diferentes al rango especificado, dado que los mismos dependen del método o sistema utilizado.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente replicas de una misma muestra, se obtienen los siguientes valores:

Nivel	D.S.	C.V.
150 U/l	$\pm 2,69$ U/l	1,8 %
250 U/l	$\pm 3,75$ U/l	1,5 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 1000 U/l. Para valores superiores, diluir la muestra 1+4 partes con solución fisiológica (NaCl 9 g/l), repetir la determinación y multiplicar el resultado por el factor de dilución.

c) Límite de detección: 4 U/l

d) Límite de cuantificación: 20 U/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consultar las adaptaciones correspondientes a los analizadores de la línea Wiener lab para el método LDH-L. Para la calibración debe utilizarse Calibrador A plus de Wiener lab.

PRESENTACION

84 ml: - 2 x 35 ml Reactivo A

- 2 x 7 ml Reactivo B

(Cód. 1008121)*

120 ml: - 1 x 100 ml Reactivo A

- 1 x 20 ml Reactivo B

(Cód. 1999726)

120 ml: - 2 x 50 ml Reactivo A

- 2 x 10 ml Reactivo B

(Cód. 1009213)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A

- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009364)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A

- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009625)

150 ml: - 2 x 60 ml Reactivo A

- 2 x 15 ml Reactivo B

(Cód. 1009933)

BIBLIOGRAFIA

- Conmutable Calibrador with Value Assigned by the IFCC Reference Procedure. Clinical Chemistry 54/8:1349-1355, 2008.
- IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37°C. Clin. Chem. Lab. Med. 40/6:643-648, 2002.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.
- Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI EP6-A Vol. 23 N° 16, 2003.
- Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. CLSI EP9-A2 Vol. 22 N° 19, 2002.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17-A Vol. 24 N° 34, 2004.
- J. Vázquez, M. Adducci, D. Monzón, K. Iserson - Journal of Emergency Medicine, 37/1:93-97, 2009.

*Marca CE pendiente

Anexo 5: Inserto de pruebas antigénicas para SARS-CoV-2

ESPAÑOL

Acerca de la prueba

Introducción

La enfermedad por coronavirus (COVID-19) es una enfermedad infecciosa causada por un coronavirus recién descubierto, el síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-CoV-2)¹. El SARS-CoV-2 es un β -coronavirus, que es un virus de ARN de sentido positivo no segmentado con envoltura². Se transmite de persona a persona a través de gotitas o contacto directo, y se ha estimado que la infección tiene un período de incubación medio de 6,4 días y un número de reproducción básico de 2,24 a 3,58. Entre los pacientes con neumonía causada por SARS-CoV-2, la fiebre fue el síntoma más común, seguido de la tos³. Los principales ensayos de DIV utilizados para COVID-19 emplean la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) que tarda unas pocas horas⁴. La disponibilidad de una prueba de diagnóstico rápida y costo efectiva en el lugar de atención es fundamental para que los profesionales de la salud puedan ayudar en el diagnóstico de los pacientes y prevenir una mayor propagación del virus⁵. Las pruebas de antígeno jugarán un papel fundamental en la lucha contra COVID-19⁶.

Principio de la prueba

Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device contiene una tira de membrana, que está pre-revestido con anticuerpo anti-SARS-CoV-2 inmovilizado en la línea de prueba e IgY anti-pollo monoclonal de ratón en la línea de control. Dos tipos de conjugados (IgG humana específica para el conjugado de oro de SARS-CoV-2 Ag y el conjugado de oro de IgY de pollo) se desplazan hacia arriba en la membrana cromatográficamente y reaccionan con el anticuerpo anti-SARS-CoV-2 y el anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgY de pollo pre-revestido respectivamente. Para obtener un resultado positivo, la IgG humana específica para el conjugado de oro SARS-CoV-2 Ag y el anticuerpo anti-SARS-CoV-2 formarían una línea de prueba en la ventana de resultados. Ni la línea de prueba, ni la línea de control son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar la muestra del paciente. Se requiere una línea de control visible para indicar que el resultado de una prueba es válido.

Uso Indicado



Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device es una prueba rápida de diagnóstico *in vitro* para la detección cualitativa del antígeno (Ag) del SARS-CoV-2 en muestras de hisopado nasofaríngeos humanos de individuos que cumplen con los criterios clínicos y / o epidemiológicos de COVID-19. Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device es solo para uso profesional y está destinado a ser utilizado como ayuda en el diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2. El producto se puede utilizar en cualquier entorno de laboratorio y no laboratorio que cumpla con los requisitos especificados en las Instrucciones de uso y la normativa local.

La prueba proporciona resultados preliminares de la prueba. Los resultados negativos no excluyen la infección por SARS-CoV-2 y no pueden usarse como la única base para el tratamiento u otras decisiones de manejo. Los resultados negativos deben combinarse con observaciones clínicas, historial del paciente e información epidemiológica. La prueba no está destinada a utilizarse como prueba de detección de donantes para el SARS-CoV-2.


Preparación de la prueba

1. Permita que todos los componentes del kit alcancen una temperatura entre 15 y 30 °C durante 30 minutos antes de realizar la prueba.
2. Extraiga el dispositivo de prueba de la bolsa de aluminio antes de usarlo. Coloque sobre una superficie plana, horizontal y limpia.
3. Sostenga el frasco de tampón verticalmente y llene el tubo de extracción con solución tampón hasta que fluya hasta la línea de llenado del tubo de extracción (300 μ L). Precaución: Si la cantidad de tampón es excesiva o insuficiente, puede producirse un resultado de prueba incorrecto.
4. Coloque el tubo de extracción en la gradilla de tubos.

Recolección y extracción de la muestra

1. Inclíne la cabeza del paciente ligeramente hacia atrás entre 45° y 70° para enderezar el pasaje desde la parte delantera de la nariz.
2. Inserte el hisopo con un eje flexible a través de la fosa nasal paralela al paladar.
 **Precaución:** Utilice un hisopo nasofaríngeo específico para la recolección de muestras.
3. El hisopo debe alcanzar una profundidad igual a la distancia desde las fosas nasales hasta la abertura exterior del oído.
 **Precaución:** Si encuentra resistencia durante la inserción del hisopo, retírelo e intente insertarlo en la fosa nasal opuesta.
4. Frote y gire suavemente el hisopo, 3 a 4 veces. Deje el hisopo en su lugar durante varios segundos para que absorba las secreciones.
5. Retire lentamente el hisopo mientras lo gira e insértelo en el tubo de extracción.
6. Gire la punta del hisopo en la solución tampón dentro del tubo de extracción, empujando hacia la pared del tubo de extracción al menos cinco veces y luego exprima el hisopo apretando el tubo de extracción con los dedos.
7. Quieb্রে el hisopo en el punto de ruptura y cierre la tapa del tubo de extracción.

Reacción con dispositivo de prueba

1. Abra la tapa de la boquilla de goteo en la parte inferior del tubo de extracción.
2. Dispense 5 gotas de la muestra extraída de manera vertical en el pocillo de muestra (S) del dispositivo. No manipule ni mueva el dispositivo de prueba hasta que la prueba esté completa y lista para leer.
 **Precaución:** Las burbujas que se forman en el tubo de extracción pueden dar lugar a resultados inexactos. Si no puede crear suficientes gotas, esto puede deberse a una obstrucción en la boquilla dispensadora. Agite el tubo suavemente para liberar el bloqueo hasta que observe la formación de gotas libres.
3. Cierre la boquilla y deseche el tubo de extracción que contiene el hisopo usado de acuerdo con las regulaciones locales y el protocolo de eliminación de desechos de riesgo

Materiales Suministrados

- 25 dispositivos de prueba con desecante en bolsa de aluminio individual
- Solución tampón (1 x 9 mL / frasco)
- 25 tubos de extracción
- 25 tapas de tubos de extracción
- 1 hisopo control positivo
- 1 hisopo control negativo
- 25 hisopos nasofaríngeos esterilizados para la recolección de muestras
- 1 gradilla para tubos
- 1 guía de referencia rápida (nasofaríngea)
- 1 Instrucciones de uso

Materiales Requeridos pero NO suministrados

- Equipo de protección personal, temporizador, contenedor de riesgo biológico

Ingredientes Activos de los componentes principales


- 1 Dispositivo de prueba
Conjugado de oro: IgG humana específica para el coloide de oro SARS-CoV-2 Ag y coloide de oro IgY de pollo, línea de prueba: anti-SARS-CoV-2 monoclonal de ratón, línea control: IgY anti-pollo monoclonal de ratón
- Tampón
Tricina, Cloruro de sodio, Tween 20, Azida de sodio (<0,1%), Proclin 300

Almacenamiento y estabilidad


1. El kit de prueba debe almacenarse a una temperatura entre 2 y 30 ° C. No congele el kit ni sus componentes. Nota: Cuando se almacena en un refrigerador, todos los componentes del kit deben llevarse a temperatura ambiente (15-30 °C) durante un mínimo de 30 minutos antes de realizar la prueba. No abra la bolsa mientras los componentes

4. De inicio al temporizador. Lea el resultado a los 15 minutos. No lea los resultados después de 20 minutos.
5. Deseche el dispositivo usado de acuerdo con las regulaciones locales y el protocolo de eliminación de desechos de riesgo biológico.

Hisopo de control positivo / negativo

1. Sostenga el frasco de tampón verticalmente y llene el tubo de extracción con solución tampón hasta que fluya hasta la línea de llenado del tubo de extracción (300 µL).
 **Precaución:** Si la cantidad de tampón es excesiva o insuficiente, puede producirse un resultado de prueba incorrecto.
2. Coloque el tubo de extracción en la gradilla de tubos.
3. Inserte el hisopo de control positivo o negativo en el líquido tampón dentro del tubo de extracción y empape el hisopo durante 1 minuto. Gire la punta del hisopo de control en la solución tampón dentro del tubo de extracción, empuje hacia la pared del tubo de extracción al menos cinco veces y luego exprima el hisopo apretando el tubo de extracción con los dedos.
4. Deseche el hisopo de control usado de acuerdo con su protocolo de eliminación de desechos de riesgo biológico.
5. Cierre la tapa del tubo de extracción.
6. Siga el procedimiento de prueba anterior [Reacción con dispositivo de prueba].

Interpretación de la prueba (consulte la figura)

1. Resultado negativo: La presencia de solo la línea de control (C) y ninguna línea de prueba (T) dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.
2. Resultado positivo: La presencia de la línea de prueba (T) y la línea de control (C) dentro de la ventana de resultados, independientemente de la línea que aparezca primero, indica un resultado positivo.
 **Precaución:** La presencia de cualquier línea de prueba (T), no importa cuán débil sea, indica un resultado positivo.
3. Resultado no válido: si la línea de control (C) no es visible

2. La botella de tampón se puede abrir y volver a sellar para cada prueba. La tapa del tampón debe sellarse firmemente entre cada uso. El tampón es estable hasta la fecha de caducidad si se mantiene a 2-30 °C.
3. Realice la prueba inmediatamente después de extraer el dispositivo de prueba de la bolsa de aluminio.
4. No use el kit de prueba después de su fecha de vencimiento.
5. La vida útil del kit es la indicada en el empaque exterior.
6. No utilice el kit de prueba si la bolsa está dañada o el sello está roto.
7. Las muestras de hisopo directo deben analizarse inmediatamente después de la recolección. Si la prueba inmediata no es posible, la muestra de hisopo se puede mantener en un tubo de extracción lleno de tampón de extracción (300 µL) a temperatura ambiente (15-30 °C) hasta dos horas antes de la prueba.

Advertencias

1. Solo para uso diagnóstico *in vitro*. No reutilice el dispositivo de prueba ni los componentes del kit.
 2. Estas instrucciones deben seguirse estrictamente por profesionales de la salud entrenados para lograr resultados precisos. Todos los usuarios deben leer las instrucciones antes de realizar una prueba.
 3. No coma ni fume mientras manipula las muestras.
 4. Utilice guantes protectores al manipular las muestras y lávese bien las manos después.
 5. Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles en la muestra y el tampón.
 6. Limpie los derrames a fondo con un desinfectante adecuado.
 7. Descontamine y deseche todas las muestras, kits de reacción y materiales potencialmente contaminados (es decir, hisopo, tubo de extracción, dispositivo de prueba) en un contenedor de riesgo biológico como si fueran desechos infecciosos y elimínelos de acuerdo con las regulaciones locales aplicables.
 8. No mezcle ni intercambie muestras diferentes.
 9. No mezcle reactivos de diferentes lotes o de otros productos.
10. No almacene el kit de prueba a la luz solar directa.
 11. Para evitar la contaminación, no toque la cabeza del hisopo suministrado al abrir la bolsa del hisopo.
 12. Los hisopos esterilizados suministrados en el paquete deben usarse solo para la recolección de muestras nasofaríngeas.
 13. Para evitar la contaminación cruzada, no reutilice los hisopos esterilizados para la recolección de muestras.
 14. No diluya el hisopo recogido con ninguna solución excepto el tampón de extracción proporcionado.
 15. El tampón contiene azida sódica <0,1% como conservante que puede ser tóxico si se ingiere. Cuando se deseche a través de un fregadero, enjuague con una gran cantidad de agua.⁷

Procedimiento de prueba (consulte la figura)

Muestras de hisopado nasofaríngeo

Note: El profesional de la salud debe cumplir con las pautas de seguridad personal, incluido el uso de equipo de protección personal.

prueba, el resultado se considera no válido.

Limitaciones de la prueba

1. El contenido de este kit está indicado para uso profesional para la detección cualitativa del antígeno del SARS-CoV-2 a partir de un hisopado nasofaríngeo. Otros tipos de muestra pueden dar lugar a resultados incorrectos y no deben utilizarse.
2. No seguir las instrucciones para el procedimiento de prueba y la interpretación de los resultados de la prueba puede afectar adversamente el desempeño de la prueba y producir resultados no válidos.
3. Puede producirse un resultado negativo de la prueba si la muestra se recogió, extrajo o transportó incorrectamente. Un resultado negativo de la prueba no elimina la posibilidad de infección por SARS-CoV-2 y debe confirmarse mediante cultivo viral o un ensayo molecular o ELISA.
4. Los resultados positivos de las pruebas no descartan coinfecciones con otros patógenos.
5. Para obtener más información sobre el estado inmunológico se recomiendan pruebas de seguimiento adicionales utilizando otros métodos de laboratorio.
6. Los resultados de la prueba deben evaluarse junto con datos clínicos disponibles para el médico.
7. La lectura de resultados de la prueba antes de 15 minutos o después de 20 minutos puede dar resultados incorrectos.
8. Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device no está destinado para detectar virus defectuosos (no infecciosos) en etapas tardías de la diseminación viral que pueden detectarse mediante pruebas moleculares de PCR.⁸

Control de calidad

1. Control de calidad interno:

El dispositivo de prueba tiene una línea de prueba (T) y una línea de control (C) en la superficie del dispositivo de prueba. La línea de prueba, ni la línea de control son visibles en la ventana de resultados antes de aplicar una muestra. La línea de control se

para el control del procedimiento y siempre debe aparecer si el procedimiento de prueba se realiza correctamente y los reactivos de prueba de la línea de control están funcionando.

2. Control de calidad externo:

Los controles están específicamente formulados y fabricados para garantizar el rendimiento de Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device y se utilizan para verificar la capacidad del usuario para realizar correctamente la prueba e interpretar los resultados. El control positivo producirá un resultado de prueba positivo y ha sido fabricado para producir una línea de prueba visible (T). El control negativo producirá un resultado de prueba negativo.


Las buenas prácticas de laboratorio sugieren el uso de controles positivos y negativos para asegurarse de que:

- Los reactivos de prueba están funcionando y
- La prueba se realiza correctamente.

Ejecute los controles externos en las siguientes circunstancias:

- Con cada nuevo operador antes de realizar pruebas en muestras de pacientes,
- Al recibir un nuevo envío de prueba,
- A intervalos periódicos según lo dicten los requisitos locales, estatales y nacionales, y/o los procedimientos de control de calidad del usuario.

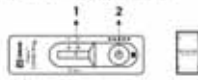
Anexo 6: Procedimiento de toma de muestra según inserto



**Panbio®
COVID-19 Ag
Rapid Test Device
(NASOPHARYNGEAL)**

In vitro diagnostic rapid test for qualitative detection of SARS-CoV-2 antigen (Ag)


PREPARATION

- Allow all kit components to reach a temperature between 15-30°C prior to testing for 30 minutes.
Warning: Healthcare professionals should comply with personal safety guidelines including the use of personal protective equipment.
- Open the package and look for the following:
 - Test device with desiccant in individual foil pouch
 - Buffer
 - Extraction tube
 - Extraction tube cap
 - Positive control vial
 - Negative control vial
 - Standard nasopharyngeal swabs for sample collection
 - Take vial
 - Quick reference guide (Nasopharyngeal)
 - Instructions for use
- Carefully read these instructions prior to using Panbio® COVID-19 Ag Rapid Test Device kit.
- Look at the expiration date of the kit box. If the expiration date has passed, use another kit.
- Open the foil pouch and look for the following:
 - Straw window
 - Specimen well
 Then, label the device with the patient identifier.
 

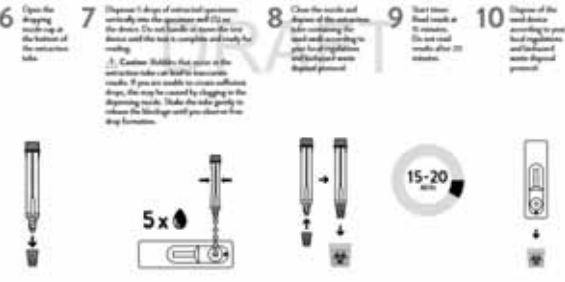
REF: 41FK36

TEST PROCEDURE

- Hold the buffer bottle vertically and fill the extraction tube with buffer. Seal with the cap in the U3 box of the extraction tube (U3a).
- Place the specimen swab in the tube well.
- Tip the patient's head back, insert the swab through the nostril. Gently rub and roll the swab. 3. A. Rotate. Lower the swab a place for several seconds. Clearly remove swab.
- Insert the swab specimen in the extraction tube. Seal the well by the the buffer that seals the extraction tube, pushing into the well of the extraction tube at least five times and then agitate over the seal by opening the extraction tube with your fingers.
- Shake the well at the bridge and show the top of extraction tube.




- Open the drying window at the bottom of the extraction tube.
- Dispense 3 drops of extraction specimen vertically into the specimen well (U) on the device. Do not handle or touch the test device until this step is complete and ready for reading.
 - Caution: Shaking the vial in the extraction tube can lead to inaccurate results. If you are unable to obtain sufficient drops, this may be caused by clogging in the drying window. Shake the tube gently to release the blockage and you should see the dry window.
- Clear the inside and edges of the substrate. Use a swab containing the seal well according to your local regulations and follow local waste disposal protocol.
- Start timer. Read results at 15 minutes. Do not read results after 20 minutes.
- Dispose of the used device according to your local regulations and follow local waste disposal protocol.



TEST INTERPRETATION

NEGATIVE


The presence of only the control line (C) and no test line (T) within the result window indicates a negative result.



POSITIVE


The presence of the test line (T) and the control line (C) within the result window, regardless of which line appears first, indicates a positive result.

- Caution: The presence of any test line (T), no matter how faint, indicates a positive result.



INVALID

If the control line (C) is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. Instructions may not have been followed correctly. It is recommended to read the IFU again before re-testing the specimen with a new test device.



GLOSSARY OF SYMBOLS

Extraction tube	Lot Number	Manufacturer
In vitro diagnostic use only	Control window for use	Keep away from sunlight
Store at room temperature	Biological hazard	Caution
CE mark	ISO 13485	Control window for use
RoHS	ISO 13485	Control window for use

Anexo 7: Inserto de solución Türk.

Sigma-Aldrich.

1.09277.0100

Microscopía

Türk solución

para recuento de leucocitos

Solamente para uso profesional



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Finalidad prevista

La presente "Türk solución - para recuento de leucocitos" es utilizada para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen hematológico de muestras de origen humano. Se trata de una solución de tinción lista para el uso que hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (mediante tinción) en material de examen hematológico.

Las estructuras sin tefir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

Principio

La solución es utilizada para la determinación semicuantitativa manual de los leucocitos en sangre entera fresca venosa y anticoagulada, empleándose una cámara de recuento.

La condición previa de todos los métodos de recuento es la dilución y preparación programadas de una muestra de sangre. Los eritrocitos son hemolizados por el ácido acético en la solución de Türk, y los núcleos de los leucocitos son teñidos de color azul violeta mediante el colorante. Se recuenta el tipo de célula deseado en un volumen definido y se calcula el número de células en un microlitro de sangre.

Material de las muestras

Sangre venosa anticoagulada, en casos excepcionales sangre capilar

Reactivos

Art. 109277
Türk solución 100 ml, 500 ml
para recuento de leucocitos

Auxiliares:

Pipeta para leucocitos (con bola de mezcla blanca)
Cámara de recuento de Neubauer

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Preparación del reactivo

La Türk solución - para recuento de leucocitos utilizada está lista para el uso, la dilución de la solución no es necesaria y empeora el resultado de la tinción así como la estabilidad.

Técnica

Llenado de la pipeta

Aspirar sangre en una pipeta de leucocitos hasta la marca 1.0, seguidamente aspirar Türk solución hasta la marca 11. La dilución es 1:10.

También es posible una dilución de 1: 20 (en caso de haber más de 400 leucocitos por cuadrado grande, se necesitará una dilución más fuerte). Además aspirar sangre hasta la marca 0.5 y Türk solución hasta la marca 11.

En la evaluación debe considerarse correspondientemente el factor de dilución.

Mezclar cuidadosamente la sangre y la Türk solución, dejar en reposo como máximo durante 1 hora.

Llenado de la cámara de recuento

Desechar las 3 primeras gotas del líquido, llenar la cámara de recuento y efectuar el recuento.

Resultado

Recuento en el microscopio

Recuento con objetivo 10x, en microscopios antiguos con condensador bajado, cuya lente frontal esté desplegada.

En una cámara de recuento se deberían contar como mínimo cuatro cuadrados grandes de esquina con una longitud de lado de 1 mm.

Se recomienda hacer siempre determinaciones dobles cuyos resultados no deben diferir más del 15 %.

Resultado

Núcleos de leucocitos violeta oscuro

Evaluación

Cálculo

$$\text{Número de leucocitos (células / } \mu\text{l)} = \frac{X \times 10}{4} \times 10^{\text{(dilución 1:10)}}$$

X = Suma de las células contadas en los 4 grandes cuadrados exteriores

Como hallazgo se indica el valor medio de determinaciones dobles.

Los valores normalizados han de tomarse de la literatura técnica actual.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Utilizar pipeta para leucocitos y cámara de recuento (Neubauer) estándar. Utilizar solamente pipetas y cámaras de recuento (Neubauer) limpias.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes.

Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos posteriores según métodos reconocidos.

Almacenamiento

Guardar la Türk solución - para recuento de leucocitos de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

La Türk solución - para recuento de leucocitos se puede utilizar hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Capacidad

aprox. 10 aplicaciones / 100 ml

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado.

Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) N° 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) N° 1907/2006.

Anexo 8: Inserto de colorante Wright eosina-azul de metileno y solución tampón

Sigma-Aldrich.

1.01383.0100
1.01383.0500
1.01383.0503
1.01383.1022
1.01383.2500
1.01383.9025
1.01383.9180

Microscopía

Eosina-azul de metileno en solución según Wright

para microscopía

Solamente para uso profesional



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Finalidad prevista

El presente "Eosina-azul de metileno en solución según Wright - para microscopía" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen hematológico y clínico-citológico de muestras de origen humano. Se trata de una solución de tinción que, junto con otros materiales de diagnóstico in vitro pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (mediante fijación, inclusión, tinción, contratinción, montaje) en material de examen hematológico y clínico-citológico, como p.ej. frotis de sangre total y de médula ósea.

El Eosina-azul de metileno en solución según Wright se puede utilizar para el análisis y diagnóstico en la diferenciación de la sangre total.

Las estructuras sin tefir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Para un diagnóstico final deben realizarse pruebas más complejas según métodos reconocidos y válidos.

Principio

La tinción de los núcleos celulares es basa en la interacción molecular entre el colorante Eosina A (amarilla) y un complejo Azur B-ADN. Los dos colorantes forman un complejo Eosina Y - Azur B-ADN, dependiendo la intensidad de la tinción resultante del contenido de Azur B y de la relación de Azur B respecto a la Eosina A.

El resultado de la tinción puede ser influenciado además por factores como la fijación, los tiempos de tinción, el valor ph de las soluciones y las sustancias tampón.

Material de las muestras

Como material de partida se emplean frotis frescos y nativos de sangre total o médula ósea así como material clínico de la citología como sedimento urinario, esputo, frotis tomados de punciones aspirativas con aguja fina (PAAF/FNAB), líquidos de lavado, impronta.

Reactivos

Art. 101383
Eosina-azul de metileno en solución según Wright para microscopía 100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l, 25 l, 180 l

Necesario además:

Art. 109468 Tabletas tampón pH 7,2 para preparación de solución tampón según WEISE para tinción de frotis sanguíneos 100 tabs
o
Art. 111373 Tabletas tampón pH 6,4 para preparación de solución tampón según WEISE para tinción de frotis sanguíneos 100 tabs
o
Art. 111374 Tabletas tampón pH 6,8 para preparación de solución tampón según WEISE para tinción de frotis sanguíneos 100 tabs

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado. Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente. Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Preparación del reactivo

Eosina-azul de metileno en solución según Wright

Se trata de una solución de tinción concentrada que ha de ser diluida con una solución tampón de la manera indicada antes de ser usada (cubeta de tinción y aparato automático de tinción).

Solución tampón

Para la preparación de aproximadamente 1000 ml de solución se añaden y disuelven:

Tableta tampón, art. 111373 (pH 6,4), art. 111374 (pH 6,8) o art. 109468 (pH 7,2) en función del resultado de tinción deseado	1 tableta
Agua destilada	1000 ml

Solución de tinción de Wright diluida para tinción manual en la cubeta de tinción

Para preparar aprox. 200 ml de solución se añaden juntos:

Eosina-azul de metileno en solución según Wright	30 ml
Solución tampón	20 ml
Agua destilada	150 ml
mezclar	

Solución de tinción de Wright diluida para tinción en el aparato automático de tinción (pH 7,2)

Para preparar aprox. 300 ml de solución se añaden juntos:

Eosina-azul de metileno en solución según Wright	50 ml
Solución tampón pH 7,2	30 ml
Agua destilada	220 ml
mezclar	

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los periodos indicados.

Portaobjetos con frotis secado al aire	
Eosina-azul de metileno en solución según Wright	3 minutos
Solución de tinción de Wright diluida para tinción manual	6 minutos
Solución tampón	1 minuto
Solución tampón	1 minuto
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)	

Tinción en el banco de tinción

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los periodos indicados.

Portaobjetos con frotis secado al aire			
Eosina-azul de metileno en solución según Wright	1 ml	cubrir completamente	1 minuto
Solución tampón	1 ml	mezclar	4 minutos
Solución tampón		enjuagar	1 minuto
Solución tampón		enjuagar	1 minuto
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)			

Tinción en el aparato automático de tinción (pH 7,2)

	Tiempo	Estación	Dip
Portaobjetos con frotis secado al aire			
Eosina-azul de metileno en solución según Wright	3 minutos	2	on
Solución de tinción de Wright diluida para tinción en el aparato automático de tinción (pH 7,2)	20 minutos	3	on
Solución tampón pH 7,2	1 minuto	4	on
Secar	3 minutos	6	-

Todas las soluciones diluidas deben ser renovadas después de un día de trabajo. Solamente la solución concentrada de eosina-azul de metileno según Wright debería ser renovada a más tardar después de una semana de trabajo o según se haga necesario, si se usa a diario. La solución concentrada de eosina-azul de metileno según Wright no debe ser rellenada (en caso de una eventual evaporación) ya que, de hacerlo, la concentración de la solución de tinción ya no será correcta.

Notas: En autómatas se consigue el mejor resultado de tinción con un valor pH de 7,2.

Para el almacenamiento de preparados hematológicos durante varios meses se recomienda el montaje con un medio de montaje (p. ej. Neo-Mount®, DPX nuevo, Entellan® Nuevo) y un cubreobjetos. Sin montaje, la tinción tendrá una estabilidad de unos 3 días; si se cubre con aceite de inmersión, la estabilidad será de sólo unas horas.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Resultado

	Solución tampón pH 6,4	Solución tampón pH 6,8	Solución tampón pH 7,2
Núcleos celulares	violeta rojizo	violeta rojizo	violeta azulado
Citoplasma de los linfocitos	azul	azul	azul
Citoplasma de los monocitos	azul grisáceo	azul grisáceo	azul grisáceo
Gránulos neutrófilos	violeta claro	violeta claro	violeta claro
Gránulos eosinófilos	rojo ladrillo a pardo rojizo	rojo ladrillo a pardo rojizo	rojo a pardo rojizo
Gránulos basófilos	violeta oscuro a negro	violeta oscuro a negro	violeta oscuro a negro
Trombocitos	violeta	violeta	violeta
Eritrocitos	rojizo	rojizo	rosa a pardusco

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Si se utilizan aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software.

Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes.

Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano.

Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos. Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el Eosina-azul de metileno en solución según Wright - para microscopía de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El Eosina-azul de metileno en solución según Wright - para microscopía puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Capacidad

aprox. 1000 aplicaciones / 500 ml

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado.

Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Si es necesario, deberá utilizarse una centrifugadora que corresponda al estándar de laboratorios y a las exigencias.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) Nº 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) Nº 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 100579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 100869	Entellan® nuevo para montadores de cubreobjetos para microscopía	500 ml
Art. 100974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 103699	Aceite de inmersión Type N según ISO 8036 para microscopía	frasco gotero de 100 ml
Art. 104699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 107961	Entellan® Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 108298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 109016	Neo-Mount® medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 109278	Eosina azul de metileno según Wright para microscopía	25 g
Art. 109468	Hemacolor® Tabletas tampón pH 7,2 para preparación de solución tampón según WEISE para tinción de frotis sanguíneos	100 tabs
Art. 109843	Neo-Clear® (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 111373	Tabletas tampón pH 6,4 para preparación de solución tampón según WEISE para tinción de frotis sanguíneos	100 tabs
Art. 111374	Tabletas tampón pH 6,8 para preparación de solución tampón según WEISE para tinción de frotis sanguíneos	100 tabs

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 101383

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Componentes principales del producto

Art. 101383

C.I. 52015 + azur 0,8 g/l

C.I. 45380 0,7 g/l

contiene CH₃OH

1 l = 0,80 kg

Otros productos de IVD

Art. 101424	Eosina-azul de metileno en solución según May-Grünwald modificada para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 105387	Eosina-azul de metileno en solución según Leishman modificada para microscopia	500 ml
Art. 109204	Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa en solución para microscopia	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 111674	Hemacolor® Tinción rápida de frotis sanguíneos kit de tinción para microscopia	1 set

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

1. Histological & Histochemical Methods, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, Second Edition
2. Sobotta, Lehrbuch Histologie, Welsch, 2006, Urban&Fischer, 2. Auflage
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002



Observe las instrucciones de uso



Fabricante



Número de catálogo



Código del lote



Atención, observar la documentación pertinente



Utilizable hasta AAAA-MM-DD



Delimitación de la temperatura

Status: 2020-Aug-24

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6Z9
Phone: +1 800-565-1400



Anexo 9: Desarrollo de pruebas bioquímicas e inmunológicas en el laboratorio central.

