



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**  
*La Universidad Católica de Loja*

**ÁREA BIOLÓGICA y BIOMÉDICA**

**MAGÍSTER EN ANÁLISIS BIOLÓGICO Y DIAGNOSTICO  
DE LABORATORIO**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Determinación de parámetros bioquímicos como  
biomarcadores diagnósticos para COVID-19, en el Hospital  
General Riobamba del IESS

**Autor (a):** Tene Salcán, Diego Mauricio

**Director (a):** Dalgo Aguilar, Paola Ximena

LOJA - ECUADOR  
2021



*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

2025

## **Aprobación del director del trabajo de titulación**

Loja, 07 de octubre del 2021

Magister

JANNETH SIMALUISA

**Coordinadora del programa de maestría en análisis biológico y diagnóstico de laboratorio**

Ciudad. -

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación denominado: Determinación de parámetros bioquímicos como biomarcadores diagnósticos para COVID-19, en hospital General Riobamba del IESS, realizado por Diego Mauricio Tene Salcán, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo. Así mismo, doy fe que dicho trabajo de titulación ha sido revisado por la herramienta antiplagio institucional.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Paola Ximena Dalgo Aguilar.

C.I: 1104736655

### **Declaración de autoría y cesión de derechos**

“Yo, Tene Salcán Diego Mauricio, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

- Ser autor(a) del Trabajo de Titulación denominado: Determinación de parámetros bioquímicos como biomarcadores diagnósticos para COVID-19, en hospital General Riobamba del IESS, del Programa de posgrados Maestría en Análisis Biológico y Diagnóstico de Laboratorio, específicamente de los contenidos comprendidos en: se debe colocar los nombres de los capítulos elaborados en el Trabajo de Titulación, por ejemplo. Introducción, Capítulo 1. Marco teórico de la pobreza y las políticas públicas, Capítulo 2. Evidencia empírica. Metodología de la investigación, Capítulo 3. Descripción de la población seleccionada, Capítulo 4. Relato del hogar, Conclusiones y Recomendaciones, siendo la Mgtr. Paola Ximena Dalgo Aguilar., directora del presente trabajo; y, en tal virtud, eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual. Además, ratifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de mi exclusiva responsabilidad.
- Que mi obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.
- Autorizo a la Universidad Técnica Particular de Loja para que pueda hacer uso de mi obra con fines netamente académicos, ya sea de forma impresa, digital y/o electrónica o por cualquier medio conocido o por conocerse, sirviendo el presente instrumento como la fe de mi completo consentimiento; y, para que sea ingresada al Sistema Nacional de

Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma: .....

Autor: Diego Mauricio Tene Salcán

C.I.: 0603847906

## **Dedicatoria**

El presente trabajo lo dedico a los seres que quiero y respeto en mi vida: a mi esposa, hija, mis padres y hermanos quienes me supieron ayudar, comprender y estuvieron conmigo en gran parte de mi formación profesional.

Diego Tene Salcán

## **Agradecimiento**

Expreso mi más sincero agradecimiento al personal docente quienes me supieron guiar en mi formación académica y supieron compartir sus conocimientos sin ningún tipo de interés, el agradecimiento profundo a Dios a mis padres, esposa, hija, hermanos y compañeros de clases los mismos que estuvieron y compartieron conmigo momentos de alegría y tristeza.

A nuestra querida Universidad Técnica Particular de Loja porque de ella recibí los más sabios conocimientos y los más gratos recuerdos que nunca olvidare.

Diego Tene Salcán

## Índice de Contenido

Carátula.....	I
Aprobación del director del trabajo de titulación.....	II
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	III
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento.....	VI
Índice de Contenido.....	VII
Resumen.....	1
Abstrac.....	2
Introducción.....	3
<b>Capítulo uno.....</b>	<b>6</b>
Marco Teórico.....	6
1. COVID-19.....	6
1.2. Coronavirus y SARS-CoV-2.....	7
1.2.1 Ciclo replicativo del SARS-CoV-2.....	9
1.2.2 Características epidemiológicas del SARS-CoV-2 y de la COVID-19.....	11
1.3. Características clínicas de la COVID-19.....	13
1.4. Diagnóstico de laboratorio de la COVID-19.....	14
1.4.1 Pruebas de detección de SARS-CoV-2.....	15
1.4.2. Prueba de detección de anticuerpos.....	17
1.5. Prácticas de bioseguridad en el laboratorio.....	18
1.7. Biomarcadores útiles para evaluar la progresión de la COVID-19.....	19
1.7.1 Marcadores hematológicos durante el COVID-19.....	19
1.7.1.2 Dímero-D.....	20
1.7.2 El papel emergente de los biomarcadores procalcitonina, ferritina y proteína C reactiva en el pronóstico en pacientes con COVID-19.....	21
1.7.2.1 Ferritina.....	23
1.7.2.1 Proteína C reactiva.....	23
1.7.2.3 Procalcitonina.....	24
<b>Capítulo Dos.....</b>	<b>25</b>
Marco Metodológico.....	25
2. Objetivos.....	25
2.1 Objetivo general.....	25
2.2 Objetivos específicos.....	25
2.3 Metodología.....	25
2.3.1 Criterios de inclusión.....	27
2.3.2 Criterios de exclusión.....	27
2.3.4 Análisis estadístico.....	27
<b>Capítulo Tres.....</b>	<b>28</b>
Resultados y Discusión.....	28
Conclusiones.....	35
Recomendaciones.....	36
Referencias.....	37

### Índice de Tablas

Tabla 1. Características epidemiológicas de coronavirus.....	13
Tabla 2. Distribución de pacientes de acuerdo al sexo.....	29
Tabla 3. Concentración de marcadores bioquímicos en diferentes períodos de tiempos en pacientes con COVID-19.....	29

### Índice de Figuras

Figura 1. Características estructurales del SARS-CoV-2.....	8
Figura 2. Ciclo replicativo del SARS-CoV-2 .....	10
Figura 3. Concentración sérica de dímero D en los diferentes períodos de tiempo.....	30
Figura 4. Distribución de pacientes que requirieron UCI de acuerdo a la concentración de Dímero-D.....	31
Figura 5. Concentración sérica de ferritina en los diferentes períodos de tiempo.....	32
Figura 6. Concentración sérica de proteína C reactiva en los diferentes períodos de tiempo.....	33
Figura 7. Concentración sérica de procalcitonina en los diferentes períodos de tiempo...	34

## Resumen

La enfermedad por coronavirus (COVID-19) causada por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), sigue cobrando la vida de miles de personas a nivel mundial. La identificación de biomarcadores de laboratorio capaces de evaluar la progresión de la enfermedad es imprescindible para garantizar un tratamiento oportuno. El objetivo de ésta investigación fue determinar la concentración de varios marcadores bioquímicos en diferentes etapas de evolución de la COVID-19. Se analizaron 74 pacientes con diagnóstico positivo para COVID-19 en el Hospital General Riobamba. Se tomaron muestras de sangre durante la primera, segunda y tercera semana de evolución de la enfermedad. Se cuantificó la concentración de ferritina, proteína C reactiva, dímero D y procalcitonina en suero. Se observó una diferencia significativa ( $p < 0.0001$ ) de los marcadores bioquímicos en los diferentes tiempos analizados, los cuales regresaron a la normalidad una vez finalizada la infección. En conclusión Los marcadores bioquímicos estudiados son parámetros sensibles y confiables que permiten evaluar la progresión clínica de la COVID-19 lo que permite un tratamiento oportuno en estos pacientes.

*Palabras claves:* COVID-19, SARS-CoV-2, Marcadores bioquímicos.

### **Abstrac**

Coronavirus disease (COVID-19) caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) continues to claim the lives of thousands of people worldwide. The identification of laboratory biomarkers capable of assessing disease progression is essential to ensure timely treatment. The objective of this research was to determine the concentration of several biochemical markers at different stages of progression of COVID-19. Seventy-four patients with positive diagnosis for COVID-19 at the General Hospital Riobamba were analyzed. Blood samples were taken during the first, second and third week of disease evolution. Serum ferritin, C-reactive protein, D-dimer and procalcitonin concentrations were quantified. A significant difference ( $p < 0.0001$ ) was observed in the biochemical markers at the different times analyzed, which returned to normal once the infection was over. In conclusion The biochemical markers studied are sensitive and reliable parameters that allow evaluation of the clinical progression of COVID-19, which allows timely treatment in these patients.

*Keywords:* COVID 19, SARS-CoV-2, Biomarkers.

## Introducción

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), es una pandemia mundial emergente causada por el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV-2), el cual es un virus de ARN perteneciente a la familia de los coronavirus que provoca primordialmente infección del sistema respiratorio, cuyos síntomas pueden variar desde un cuadro leve, a uno severo que puede implicar el desarrollo de neumonía, síndrome de dificultad respiratoria aguda severa (SDRA), falla multiorgánica y muerte (Khan et al., 2020).

A medida que el número de personas infectadas con SARS-CoV-2 sigue aumentando a nivel mundial y los sistemas de salud se vuelven cada vez más limitados para atender la pandemia, está claro que el laboratorio clínico desempeña un papel esencial en esta crisis, contribuyendo al diagnóstico, seguimiento y tratamiento de los pacientes, así como a la recuperación y a la vigilancia epidemiológica.

El diagnóstico microbiológico de la infección en fase aguda implica la detección del virus por métodos directos como los métodos moleculares o utilizando métodos indirectos como la serología. En el caso del SARS-CoV-2, su diagnóstico microbiológico a nivel mundial se basa principalmente, en la detección del material genético (ARN) viral, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR), en muestras respiratorias de pacientes con sintomatología compatible con COVID-19 (Mohamadian et al., 2021; Frater et al., 2020).

En pacientes que deben ser hospitalizados ya sea en unidad de cuidados intensivos o no, la epidemiología, la clínica del paciente y el examen físico debe acompañarse de exámenes complementarios de laboratorio e imagen. Se ha observado que ciertos parámetros bioquímicos como la proteína C reactiva (PCR), ferritina, procalcitonina y

Dímero-D, están asociados con un peor pronóstico y mayor severidad de la enfermedad, sin embargo, los datos entre pacientes pueden variar (Huang et al., 2020).

El hospital de IESS en Riobamba, se ha caracterizado desde sus inicios por una excelente atención al cliente y los más altos estándares de calidad en sus servicios, posicionándose como una de las mejores instituciones médicas del País. En el último año, y debido a la pandemia que actualmente se encuentra atravesando el planeta a causa de la COVID-19, ha elevado su atención en áreas como emergencia, Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), y el uso de pruebas diagnósticas que ayuden concretamente a realizar un seguimiento de la enfermedad.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la concentración sérica de proteína C reactiva, ferritina, Dímero-D y procalcitonina en pacientes diagnosticados con COVID-19 en diferentes períodos de tiempo, con el objeto de comprender el comportamiento de dichos marcadores bioquímicos durante la evolución de la enfermedad. Con el fin de realizar el monitoreo bioquímico de éstos pacientes, lo cual es fundamental para evaluar la gravedad y progresión de la enfermedad, así como para monitorear la intervención terapéutica.

La presente investigación es un estudio de tipo observacional descriptivo, con un diseño no experimental de corte transversal, realizado en el periodo comprendido entre el 01 de octubre del 2020 al 31 de enero de 2021. El muestreo fue de tipo intencional no probabilístico. A cada sujeto se le extrajo una muestra de sangre en ayunas para la determinación de los parámetros bioquímicos previamente mencionados, en pacientes con diagnóstico de COVID-19 en el Hospital General IESS Riobamba.

Los resultados de ésta investigación benefician al personal de salud que labora en la unidad, así como a los usuarios de la ciudad de Riobamba. Desde el punto de vista socio-

económico, los resultados obtenidos permiten mejorar el bienestar de nuestros pacientes y disminuir los costos que puedan generar el uso inadecuado de pruebas de laboratorio en pacientes diagnosticados con COVID 19. Desde el punto de vista científico, permite profundizar en el conocimiento de la enfermedad y conocer la relación entre biomarcadores y COVID-19 para un correcto manejo de los pacientes, así como referencia para futuras investigaciones.

## Capítulo uno

### Marco Teórico

#### 1. COVID-19

Durante el mes de diciembre del año 2019, en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei de la República Popular China, se presentó un brote de neumonía de causa desconocida. Las autoridades sanitarias informaron a la Organización Mundial de la Salud (OMS) la presencia de un grupo conformado por 27 casos de síndrome respiratorio agudo de origen desconocido (Li et al., 2020).

Mediante el análisis de la secuencia genética, se consideró que esta neumonía no identificada estaba causada por un nuevo coronavirus denominado inicialmente nCoV-2019 (Zhu et al., 2020). Posteriormente, el 30 de enero del año 2020 cuando ya los casos confirmados alcanzaban casi los 10.000 en China y más de 100 en 19 países, fue declarado el brote como una Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional por la Organización Mundial de la Salud, y luego se anunció un nuevo formato de Enfermedad por Coronavirus-2019 (COVID-19), según su nomenclatura, para esta nueva neumonía por coronavirus el 11 de febrero de 2020 (Conferencia de prensa OMS). El mismo día, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus nombró a este nuevo coronavirus como SARS-CoV-2 (Gorbalenya et al., 2020).

El 26 de febrero del año 2020, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), emitió alerta epidemiológica para América Latina sobre el nuevo coronavirus, el cual se extendió a la región, anunciándose el primer caso positivo confirmado en Brasil el 25 de febrero de 2020. El 11 de marzo, tras una evaluación de la situación a nivel mundial, la OMS lo declara como Pandemia (Ghebreyesus TA, 2020).

La información sobre los casos confirmados de COVID-19, indica que se está en presencia de una enfermedad con un curso diferente a lo reportado en brotes anteriores

provocados por otros coronavirus, con un nivel más alto de contagio y menor proporción de letalidad. La primera defunción reportada por COVID-19 en China, correspondió a un hombre mayor de 60 años con antecedentes de enfermedad hepática, el cual fue ingresado con un diagnóstico de neumonía y dificultad respiratoria aguda (Hemmer et al., 2020).

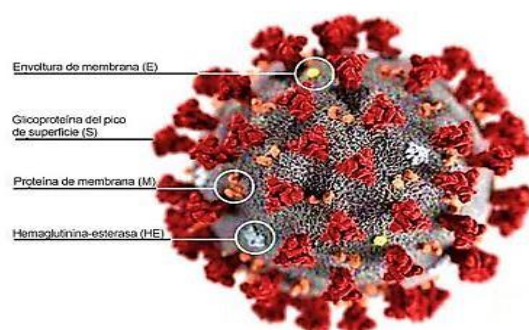
Las características clínicas de la infección por SARS-CoV-2 varían ampliamente, La mayoría de las infecciones pueden ser asintomáticas o causar síntomas leves en aproximadamente el 80% de los casos. Los síntomas comunes de COVID-19 son fiebre, tos, cansancio y dolor muscular. Otros síntomas que también se han observado incluyen dolor de cabeza, diarrea y anosmia. Sin embargo, algunos pacientes pueden progresar hacia una neumonía intersticial y SDRA en casi 10-20% de los casos, especialmente en aquellos que tienen mayor edad y comorbilidades asociadas (Jiang et al., 2020). La fisiopatología de la infección por SARS-CoV-2 se caracteriza por respuestas inflamatorias agresivas implicadas en el daño resultante a las vías respiratorias. Por lo tanto, la gravedad de la enfermedad en los pacientes se debe no solo a la infección viral sino también a la respuesta del sistema inmunitario del hospedador (Hemmer et al., 2020).

## **1.2. Coronavirus y SARS-CoV-2**

Los coronavirus (CoV) son esféricos y poseen un tamaño aproximadamente de 125 nm de diámetro, con espículas que sobresalen de la superficie del virus, dando la apariencia de una corona solar, lo que ha dado lugar al nombre de coronavirus. Se clasifican en el orden *Nidovirales*, familia *Coronaviridae*, y subfamilia *Orthocoronavirinae* (Malik, 2020).

**Figura 1**

*Características estructurales del SARS-CoV-2*



Nota: Imagen de un coronavirus y de las proteínas estructurales que lo conforman. Centers for Disease Control and Prevention/Alissa Eckert M.S. y Dan Higgins M.A.M.

La familia *Coronaviridae* es un gran grupo de virus animales y humanos compuestos de ARN monocatenario. SARS-CoV-2 es miembro del subgénero de sarbecovirus, betacoronavirus, filogenéticamente estrechamente relacionado (88%) con dos coronavirus similares al SARS derivados de murciélagos de Zhoushan, China en 2018; un poco menos concordante con SARS-CoV (79%) y MERS-CoV (50%) (Zhan et al., 2020).

Estructuralmente los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envoltura de bicapa lipídica que contienen ARN monocatenario de polaridad positiva, el cual presenta en el extremo 5' una envoltura metilada y una cola de poliadenina (poli-A) en el extremo 3' que le aporta estabilidad y un gran parecido al ARN mensajero del hospedador, lo que le permite adherirse directamente a los ribosomas para su traducción y producción de proteínas (Master, 2019). El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales principales: la proteína S (espícula), la proteína E (envoltura), la proteína M (membrana) y la proteína N (nucleocapside) (Master, 2019) Figura 1.

La proteína S de la espícula, es la responsable de la unión del virus a las células del huésped, y por lo tanto, es la proteína determinante del tropismo del virus. El SARS-CoV-2 utiliza como receptor la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE-2) para invadir e infectar las células (Hoffmann et al., 2020).

Previamente se han descrito cuatro coronavirus humanos (229E, NL63, OC43 y HKU1) que pueden infectar células del tracto respiratorio superior produciendo síntomas relativamente leves (Fehr et al., 2015).

El genoma del SARS-CoV-2 es similar al de otros coronavirus típicos y contiene al menos diez marcos de lectura abiertos (ORF). Los dos tercios terminales del genoma ORF1a/b codifican dos grandes poliproteínas, que forman el complejo de la transcriptasa. Los otros ORF del SARSCoV-2 en el tercio del genoma codifican las mismas cuatro proteínas estructurales principales: S, E, N y M, así como, varias proteínas accesorias con funciones desconocidas (Malik, 2020).

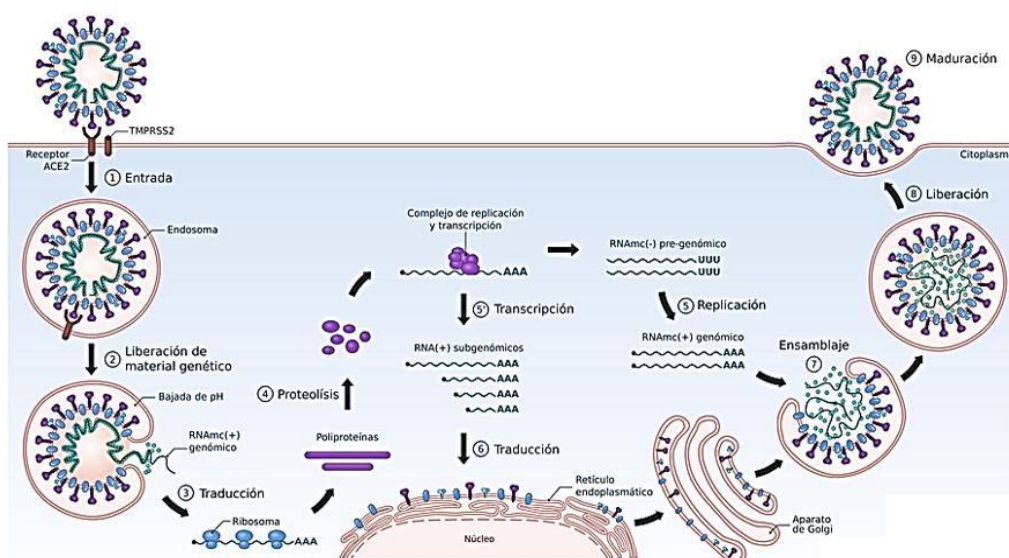
### ***1.2.1 Ciclo replicativo del SARS-CoV-2***

Los pasos iniciales de la infección por coronavirus implican la unión específica de la proteína S del coronavirus a los receptores de entrada celular, que en el caso de SARS-CoV-2 es la enzima convertidora de angiotensina II (ACE-2). Este es un paso crítico, en el cual la glicoproteína S utiliza sus dos subunidades funcionales para lograrlo. Es decir, la subunidad S1, la cual es responsable de la unión con el receptor de la célula blanco y la subunidad S2, responsable de la fusión del virus con las membranas celulares. Cuando la glicoproteína S se une al receptor ECA-2, el complejo resultante es degradado proteolíticamente por la proteasa de serina transmembrana tipo 2 (TMPRSS2, por sus siglas en inglés), lo que trae como consecuencia la escisión de la ECA-2 y la activación de la glicoproteína S (Hoffmann et al., 2020). Una vez completada la unión del virus a la membrana celular, se inicia la fusión del mismo. Posteriormente el ARN viral se libera en el

citoplasma y se desnuda para permitir la formación de las poliproteínas (pp) 1a y 1ab, la transcripción de los ARNs subgenómicos y la replicación del genoma viral. Posteriormente, las glicoproteínas de la envoltura recién formadas se insertan en el retículo endoplásmico rugoso o en las membranas del aparato de Golgi. Seguidamente, el ARN mensajero y las proteínas de la nucleocápside se combinan para formar los viriones. Las partículas virales recién formadas entonces brotan dentro del compartimento intermedio Retículo Endoplásmico-Golgi (ERGIC, por sus siglas en inglés). De este compartimento, las vesículas que contienen los viriones emergen y migran hacia la membrana plasmática celular. Las partículas virales son liberadas por la célula y proceden a infectar nuevas células, en un ciclo repetitivo que culmina con la recuperación o con la muerte del paciente (V'kovski et al., 2021). Figura 2.

**Figura 2**

*Ciclo replicativo del SARS-CoV-2*



Nota: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.81#MOESM6>

### **1.2.2 Características epidemiológicas del SARS-CoV-2 y de la COVID-19**

En las 2 últimas décadas 3 nuevos Coronavirus humanos de origen animal (zoonóticos) han sido descritos, a saber:

#### **A) Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo (SARS)**

Este virus causó graves enfermedades respiratorias humanas en China en 2002-2003. Aproximadamente 8000 personas se vieron afectadas por la enfermedad en ese momento, con una tasa de letalidad de alrededor del 9,5%. Estudios posteriores en animales salvajes mostraron que los CoV relacionados con el SARS se encuentran en murciélagos y gatos de algalia, por lo que se asumió que el virus se propagó del gato de algalia a los humanos, seguido de la propagación de humano a humano. (Salzberger et al., 2021).

#### **B) Coronavirus del síndrome respiratorio de oriente medio (MERS-CoV)**

El MERS-CoV se aisló por primera vez de un paciente que fue hospitalizado con neumonía aguda en Arabia Saudita. Para 2019, se habían reportado alrededor de 2500 infecciones por MERS-CoV en humanos, con una tasa de letalidad de aproximadamente el 30%. La principal zona de riesgo de infecciones por MERS-CoV es la Península Arábiga. Se informó que las infecciones se producían tanto por transmisión de persona a persona como por contacto con dromedarios (camellos). Estos animales parecen representar un reservorio de MERS-CoV. (Salzberger et al., 2021).

#### **C) Coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-COV-2)**

A fines de diciembre del año 2019, China informó sobre la creciente incidencia de neumonía en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei. En enero de 2020, se identificó como causa un nuevo  $\beta$ -CoV. Cuando el virus se aisló por primera vez de casos de neumonía en Wuhan, China, en diciembre de 2019, se denominó nuevo coronavirus de 2019 (nCoV-2019). A medida que se dispuso

de más información y análisis genéticos, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus le dio al virus el nombre oficial de SARS-CoV-2, mientras que la OMS nombró la enfermedad causada por el virus, COVID-19. (Salzberger et al., 2021).

El SARS-CoV 2 se replica principalmente en el tracto respiratorio superior e inferior. También se ha detectado replicación en el tracto gastrointestinal, el ARN viral puede estar presente en sangre periférica en pacientes gravemente enfermos. La transmisión del virus se produce principalmente a través de la aspiración de gotitas respiratorias y aerosoles provenientes de personas infectadas al toser o estornudar (Kang et al., 2020).

La mayoría de las infecciones no presentan complicaciones y entre el 5 al 15% de los pacientes son hospitalizados, principalmente debido a neumonía con inflamación grave. Las complicaciones suelen ser insuficiencia respiratoria y multiorgánica. La susceptibilidad a la COVID-19 está asociada a diversos factores dentro de los cuales destacan, la edad, el sexo biológico y la presencia de comorbilidades como la hipertensión arterial, diabetes, enfermedades cardiovasculares, cáncer, entre otras (Salzberger et al., 2021).

El primer caso de COVID-19 en Ecuador fue anunciado el 29 de marzo del año 2020 en la ciudad costera de Guayaquil, a este informe pronto le siguió una rápida diseminación de la enfermedad en todo el país. En la actualidad Ecuador aún está siendo fuertemente afectado por la pandemia, con más de 487.598 casos confirmados y 31.364 muertes reportadas al 01 de agosto de 2021 (Ministerio de salud de Ecuador). Las característica epidemiológica de los Coronavirus se detalla en la Tabla 1.

Tabla 1

*Características Epidemiológicas de los Coronavirus zoonóticos*

	SARS (2002)	MERS (2013)	SARS CoV2
<b>Género</b>	Beta CoV	Beta CoV	Beta CoV
<b>Origen</b>	Guangdong China	Arabia Saudí	Wuhan China
<b>Reservorio</b>	Murciélago	Murciélago	¿Murciélago?
<b>Hospedero Intermedio</b>	Civeta de Palma	Dromedario	?
<b>Período de Incubación</b>	2 a 10 días	2 a 14 días	2 a 14 días
<b>Nº básico reproducción (R0)</b>	2.2 – 3.7	<1	1.4 – 4.9
<b>Transmisión Asintomática</b>	No	Si	Si
<b>Transmisión nosocomial</b>	58%	70%	Si
<b>Países Afectados</b>	29	27	109
<b>Cuadro Clínico</b>	Neumonía	Neumonía	Neumonía
<b>Nº de Infectados</b>	8096	2494	<b>&gt;120.709.483</b>
<b>Nº de Muertes</b>	<b>774</b>	<b>858</b>	<b>&gt;4.000.000</b>
<b>T. Letalidad</b>	<b>29</b>	<b>34%</b>	<b>7.04%</b>
<b>Región afectada</b>	Global	Regional	Global
<b>Receptor dominante</b>	ECA-2	DPP 4	ECA-2
<b>Susceptibilidad Celular principal</b>	Respiratorio	Respiratorio	Respiratorio
<b>Tratamiento/ Vacuna</b>	<b>No</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>

Nota: Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

### 1.3. Características Clínicas de la COVID-19

El período de incubación para la mayoría de los casos es en promedio de 5 a 6 días, con un intervalo de 2 días a 2 semanas. Los pacientes sintomáticos típicamente presentan fiebre, malestar general, congestión nasal, disnea y tos de 4 a 7 días. Otros tipos de presentación clínica incluyen anosmia, dolor de garganta, debilidad muscular, cansancio, dolor de cabeza y diarrea (Velavan & Meyer, 2020). La neumonía viral se desarrolla desde la segunda o tercera semana, con signos radiológicos de la apariencia vidrio esmerilado, la

consolidación irregular bilateral, exudados alveolares y la participación interlobular, con hipoxemia dependiendo de la severidad clínica. En caso de agravamiento el paciente puede desarrollar síndrome respiratorio agudo severo, falla multiorgánica, coagulación intravascular diseminada (CID) y si no logra hacer frente a la enfermedad viral eventualmente el paciente muere. El curso clínico particularmente desfavorecido con alta mortalidad ocurre en el caso de la tormenta de citocinas, en la que la respuesta inmunitaria desproporcionada y sin escala emerge incontrolablemente al nivel de explosión, como consecuencia de la respuesta al SARS-CoV-2 (Boban, 2021).

#### **1.4. Diagnóstico de laboratorio de la COVID-19**

La confirmación estándar de la infección aguda por el SARS-CoV-2 se basa en la detección de secuencias virales específicas mediante pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN), como la reacción en cadena de la polimerasa por transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR). Las dianas de las pruebas de amplificación son ciertas regiones de los genes E, RdRP, N y S (Lai & Lam, 2021).

El virus puede ser detectado en las vías respiratorias superiores de 1 a 3 días antes de aparecer los síntomas. La concentración de SARS-CoV-2 en las vías respiratorias superiores alcanza su valor más alto en torno al momento de la aparición de los síntomas, después de lo cual va disminuyendo paulatinamente. Algunos estudios indican cargas virales mayores en los enfermos graves que en los enfermos leves, pero otros estudios no dan cuenta de esas diferencias (Lai & Lam, 2021).

La toma adecuada de las muestras y el diagnóstico preciso en el laboratorio de los pacientes de los que se sospecha firmemente una infección por SARS-CoV-2 son las dos prioridades que deben orientar el manejo clínico de los pacientes y las medidas de control

de infecciones. Las pruebas más sólidas de la infección viral provienen de la detección de fragmentos del virus, como proteínas o ácidos nucleicos, por medio de pruebas virológicas. Las personas infectadas pueden dar resultado positivo en la detección de ácidos nucleicos virales o proteínas virales sin tener síntomas (asintomáticos), antes de la aparición de síntomas (presintomáticos), y a lo largo del episodio de la enfermedad (sintomáticos).

#### **1.4.1. Pruebas de detección del SARS-COV-2**

##### **A) Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (AAN)**

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, el diagnóstico de laboratorio de la COVID-19 debe realizarse a través de métodos moleculares, específicamente mediante detección de secuencias únicas del ARN viral por Técnicas de Amplificación de Ácidos Nucleicos (NAAT; Nucleic Acid Amplification Techniques, sus siglas en inglés), como la Reacción en Cadena de la Polimerasa de Transcripción Reversa en Tiempo Real (en inglés, Real Time-Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) (WHO, pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus).

En el mercado existen diversos ensayos (para detectar genes específicos del SARS-CoV-2 y/o compartidos por otros coronavirus causantes de SARS; como los genes Orf1b, Orf1ab, E, N, S y RdRP); y que han sido sugeridos para su uso. El protocolo de la prueba es complejo y costoso, siendo principalmente adecuado para laboratorios de diagnóstico grandes y centralizados. Las pruebas suelen durar de 4 a 6 h, sin embargo, los requisitos logísticos relacionados con el envío de muestras clínicas implican que el tiempo de ejecución es de 24 horas o más en algunos casos.

##### **B) Pruebas de diagnóstico rápido basadas en la detección de antígenos**

Se han elaborado y comercializado pruebas de diagnóstico rápido que detectan la presencia de proteínas virales (antígenos) del SARS-CoV-2, en muestras de las vías respiratorias. La mayoría de ellas son inmunoensayos de flujo lateral (LFI), que normalmente se realizan en 30 minutos. A diferencia de las pruebas de AAN, no se amplifica el material que se pretende detectar, lo que hace que las pruebas de antígenos sean menos sensibles. Además, pueden producirse resultados falsamente positivos (que indican que una persona está infectada cuando no lo está) si los anticuerpos de la tira de prueba también reconocen antígenos de virus distintos del SARS-CoV-2, como otros coronavirus humanos (Zitek, 2020).

La sensibilidad de las distintas pruebas de diagnóstico rápido en comparación con la rRT-PCR en muestras de las vías respiratorias superiores (hisopados nasofaríngeos) parece ser muy variable. En cambio, se ha informado que la especificidad es alta. Por ahora, los datos sobre la eficacia de las pruebas de antígenos en el entorno clínico son limitados: se recomienda realizar validaciones emparejadas de pruebas de AAN y pruebas del antígeno en estudios clínicos con el fin de determinar cuáles de las pruebas de detección de antígenos que se están elaborando o que ya se han comercializado muestran resultados aceptables en estudios de campo representativos. Cuando los resultados sean aceptables (Zitek, 2020).

Se podrían incluir pruebas de diagnóstico rápido de antígenos en un algoritmo de diagnóstico con el fin de reducir el número de pruebas moleculares que es preciso realizar y para contribuir a una rápida identificación y gestión de los casos de COVID-19. La forma en que la detección de antígenos se incorporaría al algoritmo de pruebas depende de la sensibilidad y la especificidad de la prueba de antígenos y de la prevalencia de la infección por el SARS-CoV-2 en la población de prueba prevista. Las cargas virales más altas están asociadas a mejores rendimientos de la prueba de antígenos; esto permite prever que el rendimiento de la prueba será óptimo en torno a la aparición de los síntomas y en la fase

inicial de la infección por el SARS-CoV-2. Para obtener orientación específica sobre las pruebas de detección de antígenos.

#### **1.4.2. Pruebas de detección de anticuerpos**

Los ensayos serológicos que detectan los anticuerpos producidos por el organismo humano en respuesta a la infección por el SARS-CoV-2 pueden ser útiles en diversas circunstancias. Las pruebas de serología de anticuerpos IgG e IgM totales o IgG e IgM por separado anti SARS-CoV-2 en sangre total, plasma y suero, pueden detectar los anticuerpos específicos contra el virus y son útiles para determinar la seroprevalencia de la infección en una población, permitiendo no solamente detectar individuos con infección activa sino también a aquellos que ya estuvieron expuestos (Lippi et al., 2020).

Por ejemplo, los estudios de serovigilancia pueden utilizarse para apoyar la investigación de un brote en curso y para respaldar la evaluación retrospectiva de la tasa de ataque o el tamaño de un brote. Dado que el SARS-CoV-2 es un patógeno nuevo, todavía no se conocen a fondo las respuestas inmunitarias a que da lugar, de modo que las pruebas de detección de anticuerpos deben utilizarse con cautela; no deben emplearse para determinar infecciones agudas. Los ensayos no cuantitativos (por ejemplo, los ensayos de flujo lateral) no pueden detectar un aumento de los títulos de anticuerpos, a diferencia de los ensayos semicuantitativos o cuantitativos (Lu et al., 2020).

Los ensayos de detección de anticuerpos de flujo lateral (u otros ensayos no cuantitativos) no se recomiendan actualmente para el diagnóstico agudo y el tratamiento clínico, y se está estudiando su función en las encuestas epidemiológicas. Las pruebas serológicas no deben utilizarse por sí solas como medio de diagnóstico para identificar casos agudos en la atención clínica o con fines de localización de contactos. Las

interpretaciones deben ser realizadas por un experto y dependen de varios factores, entre ellos el momento de la enfermedad, la morbilidad clínica, la epidemiología y la prevalencia en el entorno, el tipo de prueba utilizada, el método de validación y la fiabilidad de los resultados (Lu et al., 2020).

### **1.5. Prácticas de bioseguridad en el laboratorio**

Los laboratorios que realicen pruebas para detectar el SARS-CoV-2 deben atenerse estrictamente a las prácticas apropiadas en materia de bioseguridad. Las pruebas en muestras clínicas que puedan contener SARS-CoV-2 deben ser realizadas en laboratorios debidamente equipados por personal adiestrado en los procedimientos técnicos y de seguridad pertinentes. Las directrices nacionales sobre bioseguridad en el laboratorio deben cumplirse en todas las circunstancias. La manipulación de muestras para pruebas moleculares mediante RT-PCR estándar requiere un nivel de bioseguridad (BSL) 2 o instalaciones equivalentes que utilicen una cámara de seguridad biológica o un dispositivo de contención primaria que esté recomendado para la manipulación de muestras antes de la inactivación.

Los procedimientos que tengan por objeto aislar el virus en cultivos celulares requieren como mínimo instalaciones de nivel de bioseguridad 3 (BSL-3). Cuando se realicen cultivos virales en muestras clínicas que puedan ser positivas para SARS-CoV-2 con otros fines, es necesario realizar una evaluación del riesgo seguida de las medidas y los procedimientos de seguridad exigidos

Determinadas consideraciones de los requisitos de bioseguridad pueden permitir la realización fuera de una cámara de seguridad biológica de ciertos ensayos en el punto de atención (POC) o en el entorno del paciente, una vez examinadas las reglamentaciones

locales, y después de proceder a una evaluación del riesgo y de haber adoptado las medidas adecuadas de mitigación del riesgo. Para conocer más detalles a este respecto.

### **1.7. Biomarcadores útiles para evaluar la progresión de COVID-19**

El papel esencial de los laboratorios clínicos en esta pandemia va más allá del diagnóstico de la COVID-19. El monitoreo bioquímico de los pacientes a través de pruebas diagnósticas es fundamental para evaluar la gravedad y progresión de la enfermedad, así como para monitorear la intervención terapéutica. Varias pruebas de diagnóstico in vitro comunes se han implicado en la progresión desfavorable de la COVID-19, proporcionando potencialmente información de pronóstico importante.

A continuación, se incluye una lista de las pruebas recomendadas basada en la literatura actual junto con las principales anomalías de laboratorio asociadas con los pacientes adultos con COVID-19 y sus posibles indicaciones clínicas

#### ***1.7.1 Marcadores hematológicos durante la COVID-19***

A todos los pacientes que acudan al Hospital por COVID-19 se les deberá realizar las siguientes pruebas al inicio del encuentro:

- Dímero-D,
- Tiempo de Protrombina (TP),
- Tiempo Parcial de Tromboplastina (TPT),
- Fibrinógeno y
- Recuento diferencial de glóbulos blancos.

En pacientes que hayan presentado una marcada elevación del Dímero-D (de momento arbitrariamente establecida a  $>1000$  ng/mL), se deberá considerar su ingreso

hospitalario aún en ausencia de síntomas severos debido a que ésta elevación representa un incremento en la generación de trombina.

Todos los pacientes ingresados al Hospital por COVID-19 deben tener las siguientes pruebas como estudio inicial y luego realizarse cada dos días: Dímero-D, TP, TPP, fibrinógeno y recuento diferencial de glóbulos blancos o enviarlas diariamente si el Dímero-D inicial o subsecuente se encuentra elevado.

#### **1.7.1.2 Dímero-D:**

Cuando la trombina se activa esta divide el fibrinógeno en fibrina. La fibrina luego es polimerizada y reticulada con el Factor XIII Cuando dicho coagulo de fibrina es generado en cualquier desorden microvascular o macrovascular, el sistema fibrinolítico es activado y la plasmina divide la fibrina reticulada en piezas más pequeñas que son los Dímeros-D. Por lo tanto, el Dímero-D refleja la producción de fibrina reticulada y también se ve afectado por la función hepática; los Dímero-D son eliminados por un hígado intacto, pero aumentan en presencia de disfunción hepática (Iba et al., 2020).

La COVID-19 parece ser un ejemplo de infección viral asociada a una respuesta inflamatoria sistémica en conjunto con la activación del sistema de la coagulación en los pacientes sintomáticos. Aun cuando la CID es mayormente reconocida como una complicación debida a infecciones bacterianas, la infección por el coronavirus también puede inducirla y provocar fenómenos trombóticos (Iba et al., 2020). Más recientemente diversos estudios clínicos han demostrado que los Dímeros-D se constituyen en un factor pronostico relevante de mortalidad, ya que niveles elevados de éstos específicamente superiores a 1000 ng/ml en conjunto con valores elevados de ferritina por encima de 500 ng/ml se han podido asociar con un riesgo 18 veces superior de mortalidad. De manera tal

que, hoy en día se incluyen en el screening de todo paciente sintomático con COVID-19 positivo (Favaloro & Thachil, 2020).

### ***1.7.2. El papel emergente de los biomarcadores procalcitonina, ferritina y proteína C reactiva en el pronóstico en pacientes con COVID-19***

No solo las pruebas de RT-PCR serán vitales para verificar el curso de la infección, así como la posible presencia y extensión de la viremia, sino que muchas otras pruebas de laboratorio pueden ayudar a evaluar la gravedad de la enfermedad, además nos ayudan prediciendo el riesgo de evolución. Se ha observado la presencia de niveles elevados de IL-6 y otras citocinas proinflamatorias en pacientes con SARS-CoV-2 grave. Esta observación, junto con otros parámetros clínicos asociados a casos graves como linfopenia e hiperferritinemia ha llevado a hipotetizar que un subgrupo de pacientes con COVID-19 puede sufrir un síndrome de liberación de citocinas.

El síndrome de tormenta de citocinas (STC), es un causado por una respuesta inflamatoria sistémica mediada por citocinas que puede desencadenarse por una variedad de factores como infecciones y algunos medicamentos. Las citocinas son proteínas solubles que actúan sobre las células del sistema inmune y que regulan la activación, proliferación y reclutamiento celular. Se produce cuando se activan grandes cantidades de leucocitos (neutrófilos, macrófagos y mastocitos) y liberan grandes cantidades de citocinas proinflamatorias (Hong et al.,2021).

El STC se describió inicialmente como un efecto adverso de terapias con anticuerpos monoclonales, y es frecuente también en las terapias con células T con receptor de antígeno quimérico. Las principales citocinas implicadas en la patogénesis del STC incluyen la interleucina 6 (IL-6), la IL-10, el interferón (IFN), la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP1) y el factor estimulante de las colonias de granulocitos-macrófagos

(GMCSF). Otras citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF), IL-1, IL-2 e IL-8 también se han descrito durante éste síndrome (Garg et al., 2021).

El STC ocurre debido a que la infección por SARS-CoV-2 desencadena una respuesta inmunitaria excesiva en casos de COVID-19 grave. Es una reacción exacerbada del sistema inmunitario caracterizada por la activación de alto nivel de las células inmunitarias y la producción excesiva de citocinas inflamatorias masivas y mediadores químicos. Se considera que es la principal causa de la gravedad de la enfermedad y de la muerte en los pacientes con COVID-19 y está relacionada con altos niveles de citocinas circulantes, linfopenia, trombosis e infiltración masiva de células mononucleares en múltiples órganos. En los pulmones particularmente se genera un cuadro hiperinflamatorio que desemboca en un síndrome de dificultad respiratoria aguda severa. (Hong et al.,2021).

Los hallazgos de laboratorio son consistentes con el síndrome hiperinflamatorio observado en el SARS-CoV-2 conocido como "tormenta de citocinas" que conduce al deterioro de los pacientes y de este modo se ha destacado las anomalías más importantes observadas en pacientes con SARS-CoV-2, principalmente:

- Aumento de los valores de proteína C reactiva (PCR),
- Aumento de lactato deshidrogenasa (LDH),
- Incremento de Ferritina Sérica,
- Eritrosedimentación (VSG), y Dímero-D,
- Junto con la disminución de la concentración de albúmina sérica.

#### **1.7.2.1 Ferritina**

La ferritina es una importante proteína de almacenamiento de hierro intracelular en todos los organismos. Se une a los iones libres del oligoelemento, neutralizando sus

propiedades tóxicas y aumentando su solubilidad. En forma soluble, el cuerpo puede gastar hierro según sea necesario, en particular para la regulación del metabolismo celular del oxígeno. Los niveles bajos de ferritina dan como resultado concentraciones más bajas de hierro y anemia por deficiencia de hierro. Los niveles elevados de ferritina, o hiperferritinemia, indican la presencia de virus y bacterias en el cuerpo. La hiperferritinemia también puede ser causada por una mutación genética.

Estudios recientes han demostrado que la ferritina puede activar los macrófagos. Estas células inmunitarias desempeñan un papel fundamental en la inmunidad innata, siendo la primera línea de defensa del cuerpo. Cuando se activan, los macrófagos comienzan a secretar citocinas, definidas como moléculas de señalización que median y regulan la inmunidad. A bajas concentraciones, son seguros para el cuerpo y ayudan a protegerlo contra virus y bacterias. A niveles altos, se desarrolla la llamada “tormenta de citoquinas”, que puede ser letal para la mitad de los pacientes, especialmente para los ancianos. Por lo tanto, la hiperferritinemia se ha asociado con una mayor gravedad de la enfermedad y resultados adversos, incluido COVID-19 (Gao et al., 2021).

#### **1.7.2.2 Proteína C reactiva**

Los niveles séricos elevados de proteína C-reativa (PCR) son frecuentes en pacientes con COVID-19, esta variable suele utilizarse para la clasificación de los enfermos y para predecir el pronóstico. La PCR es una proteína de fase aguda, sintetizada por las células hepáticas en respuesta a la acción de citocinas como la IL-1 e IL-6. La concentración plasmática de PCR aumenta rápidamente durante las infecciones agudas y en los procesos inflamatorios. La liberación de PCR comienza entre 4 y 10 horas después del inicio del evento inflamatorio y alcanza los niveles máximos a las 48 horas; su vida media en sangre es corta. Los niveles de PCR pueden aumentar antes de que aparezcan síntomas y de que ocurra el incremento del recuento de leucocitos. Este biomarcador es comúnmente utilizado con fines diagnósticos (Li et al., 2020).

### 1.7.2.3 Procalcitonina

La procalcitonina (PCT), es una glicoproteína desprovista de actividad hormonal que en circunstancias normales se produce en las células C de la glándula tiroides. En seres humanos sanos, los niveles de PCT son indetectables ( $<0,1$  ng/ml). Sin embargo, durante una infección grave con manifestaciones sistémicas, los niveles de PCT pueden superar los 100 ng/ml, producidos principalmente por tejido extratiroideo. Aunque su acción biológica se desconoce en gran medida, las homologías de secuencia entre la PCT y otras citocinas proinflamatorias, como el TNF- $\alpha$ , IL-6, entre otras, apoyan la hipótesis de que la PCT es un mediador de la inflamación. El aumento de los valores de PCT se asoció con un riesgo casi cinco veces mayor de infección grave por SARS-CoV-2 (Gao et al., 2021)

## **Capítulo Dos**

### **Marco Metodológico**

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo general**

Determinar la concentración sérica de marcadores bioquímicos en pacientes diagnosticados con COVID-19, en diferentes períodos de tiempo, con el objeto de comprender su comportamiento durante la evolución de la enfermedad.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar la concentración de Dímero-D en el suero de pacientes diagnosticados con COVID-19 durante la primera, segunda y tercera semana de evolución de la enfermedad.
- Determinar la concentración de ferritina en el suero de pacientes diagnosticados con COVID-19 durante la primera, segunda y tercera semana de evolución de la enfermedad.
- Determinar la concentración de proteína C reactiva en el suero de pacientes diagnosticados con COVID-19 durante la primera, segunda y tercera semana de evolución de la enfermedad.
- Determinar la concentración de procalcitonina en el suero de pacientes diagnosticados con COVID-19 durante la primera, segunda y tercera semana de evolución de la enfermedad.

### **2.3. Metodología**

La presente investigación es un estudio de tipo observacional descriptivo, con un diseño no experimental de corte transversal, realizado en el periodo comprendido entre el

01 de octubre del 2020 al 31 de enero de 2021. El muestreo fue de tipo intencional no probabilístico.

Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki revisada en el año 2008. El proyecto fue aprobado por la comisión de bioética del hospital y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes. A cada sujeto se le extrajo una muestra de sangre en ayunas para la determinación de los siguientes parámetros bioquímicos: Dímero-D, ferritina, proteína C reactiva y procalcitonina, en pacientes con diagnóstico de COVID-19 en el Hospital General IESS Riobamba. Para la determinación de biomarcadores analizados, se utilizó el equipo Cobas C501 (Laboratorios Roche Diagnostics; USA). El cual se basa en un método colorimétrico que utiliza un fotómetro multicanal.

Se tomaron los siguientes valores de referencia:

#### **Ferritina**

Mujer: 20-200 ng/ml

Hombre: 20-300 ng/ml

#### **Dímero-D**

0.00 – 0.50 (ug/ml)

#### **Procalcitonina**

Menor a 0.5 ng/ml

\*bajo riesgo de sepsis severa y/o choque séptico menor a 0.5 ng/ml

alto riesgo de sepsis severa y/o choque séptico mayor a 2.0 ng/ml

#### **Proteína C reactiva**

0.00 – 5.00 mg/L

### **2.3.1. Criterios de inclusión**

Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico positivo para COVID-19, mediante la prueba RT-PCR, hospitalizados en el hospital IESS de Riobamba en el período de tiempo estudiado.

### **2.3.2. Criterios de exclusión**

Se excluyen todos los pacientes menores de 18 años y que habían dado un resultado negativo a la prueba rt-PCR o que no requirieron hospitalización.

### **2.3.4 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizaron los programas InStat-3 y GraphPad Prism 6. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Para analizar las diferencias obtenidas en los marcadores bioquímicos estudiados en los diferentes períodos de tiempo, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía con post-prueba de Dunnet para establecer comparaciones intergrupales. Se consideró todo valor de  $p < 0,05$ , como estadísticamente significativo.

## Capítulo Tres

### Resultados y Discusión

En el presente estudio se evaluaron 74 pacientes hospitalizados en el Hospital IESS de Riobamba, con diagnóstico positivo para COVID-19 mediante la prueba de RT-PCR. En la Tabla 2, se puede apreciar la distribución de dichos pacientes de acuerdo al sexo, encontrándose que 63 pacientes (85%) correspondían al sexo masculino, mientras que 11 pacientes (15%) al sexo femenino, lo cual sugiere que los hombres son más susceptibles a la enfermedad que las mujeres. Al respecto, la susceptibilidad de los hombres a la COVID-19 en comparación con las mujeres, ha sido previamente descrita por otros investigadores (Gargaglioni & Marques, 2020), y se ha indicado que varios factores están involucrados en esta disparidad sexual como por ejemplo: factores hormonales y genéticos.

Según los datos de Global Health 5050, el número de casos confirmados de COVID-19 y la tasa de mortalidad por la enfermedad son más altos entre los hombres de diferentes países (Global health 50/50, 2021). Al 31 de julio de 2021, los datos globales indican que por cada 10 casos diagnosticados del sexo femenino hay 10 casos del sexo masculino. Por cada 10 hospitalizaciones del sexo femenino hay 11 del masculino. Por otra parte, por cada 10 ingresos femeninos a la unidad de cuidados intensivos hay 18 masculinos, y por cada 10 defunciones femeninas hay 13 masculinas. Estos datos indican que la incidencia de la infección es similar tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, en los hombres se observa una tendencia hacia el desarrollo de casos más severos que desembocan en una mayor mortalidad (Global health 50/50, 2021).

**Tabla 2*****Distribución de los pacientes de acuerdo al sexo***

Género	Nº de pacientes	%
Hombres	63	85,1%
Mujeres	11	14,9%
Total	74	100,0%

En éste estudio, todos los pacientes fueron sometidos a la determinación de diferentes parámetros bioquímicos y se evaluaron tres periodos de tiempo: primera semana, segunda semana y tercera semana de evolución de la enfermedad. Al comparar los resultados de dichos marcadores en los diferentes períodos se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas como puede apreciarse en la Tabla 3.

**Tabla 3*****Concentración de marcadores bioquímicos en diferentes períodos de tiempo en pacientes con COVID-19***

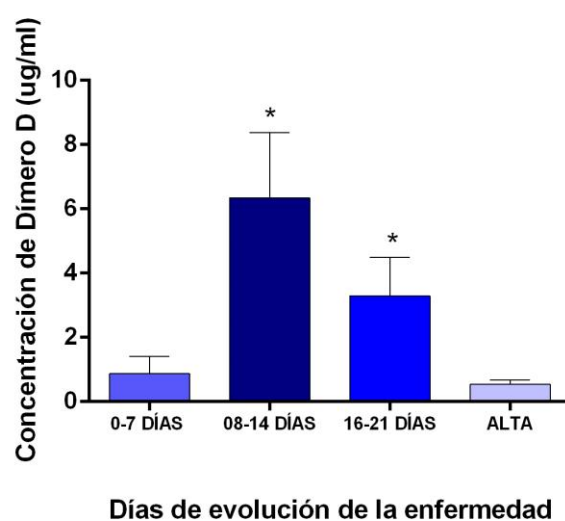
Parámetro bioquímico	Día 01 al 07 día de contagio	Día 08 al 14 día de contagio	Día 15 al 21 día de contagio	Alta	Valor de P
Dímero D (ug/ml)	0.87±0.54	6.34±2.02	3.29±1.19	0.53±0.13	*0.0001
Procalcitonina (ng/ml)	8.21±18.68	3.37±5.71	0.72±0.92	412.26±92	*0.0001
Ferritina (ng/ml)	948.52±362	2060.73±1495	1228.78±685	412.26±92	*0.0001
Proteína C Reactiva (mg/L)	238.77±128	93.48±87	52.10±35	3.36±1.42	*0.0001

Nota: Los datos están expresados como media±desviación estándar; \*p<0.05

Los biomarcadores de laboratorio utilizados para pronosticar la gravedad de la COVID-19 son de especial importancia debido a que la asignación de recursos debe planificarse cuidadosamente, especialmente en el contexto de la disponibilidad de asistencia respiratoria. En el presente estudio, se realizó la cuantificación de varios biomarcadores, incluidos PCR sérica, PCT, Dímero-D y ferritina sérica, encontrándose que dichos marcadores se incrementaron significativamente, lo cual indica que están íntimamente relacionados con la respuesta inflamatoria que se observa en los pacientes con COVID-19, tal como lo han descrito otros investigadores (Ponti et al., 2020; Henry et al., 2020). En relación a este punto, en la Figura 3, se puede observar la evolución de Dímero-D en los diferentes períodos de tiempo estudiados.

**Figura 3**

***Concentración sérica de dímero D en los diferentes períodos de tiempo***



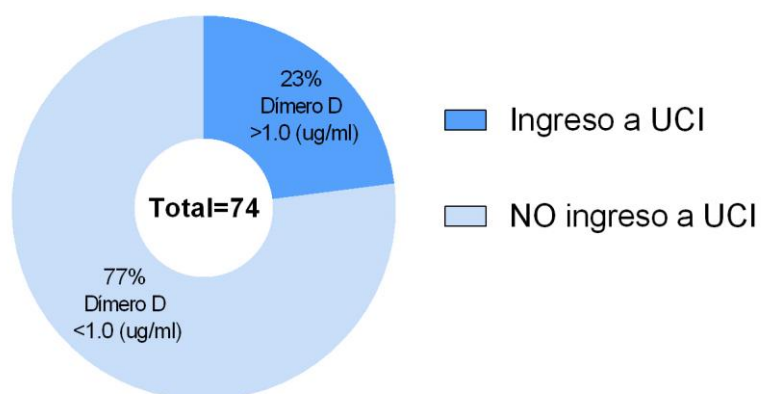
\* $p < 0.0001$  primera semana vs segunda semana; segunda semana vs tercera semana y Alta

Los valores de Dímero-D al momento del ingreso de los pacientes y durante la primera semana, estuvieron entre 0,48 y 1,45 ug/ml. Durante la segunda semana entre 4,82 y 8,65 ug/ml. A la tercera semana los valores disminuyeron en un rango de 4,20 y 2,69 ug/ml, presentando en el momento de alta valores de 0,53 y 0,55. Es importante destacar que los pacientes que presentaron niveles superiores a 1 ug/ml al momento del ingreso al

hospital, presentaron la necesidad de UCI. En los pacientes con una enfermedad grave la concentración de Dímero-D se elevó hasta tres veces en comparación con aquellos que no ingresaron a UCI. Del 100% de los pacientes estudiados, el 23% requirió el ingreso a la UCI, como puede apreciarse en la Figura 4.

**Figura 4**

***Distribución de pacientes que requirieron UCI de acuerdo a la concentración de Dímero-D***



Estos hallazgos son consistentes con los reportados por Rostami y colaboradores, quienes informaron una elevación en las concentraciones de Dímero-D y de fibrinógeno en las etapas iniciales de la COVID-19; así como, describieron que un incremento de 3 a 4 veces en los niveles de éste marcador y además su asociación con un mal pronóstico (Rostami et al., 2020).

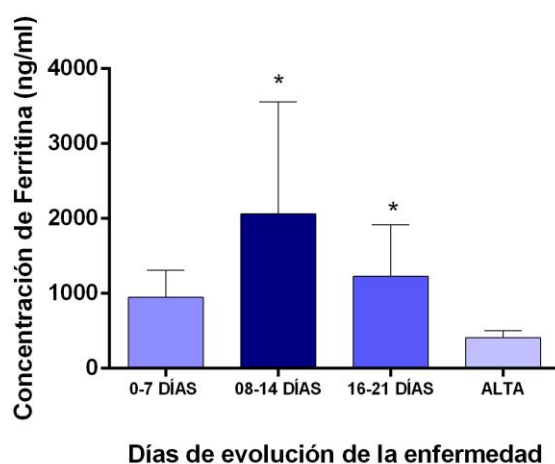
Evidencias recientes han demostrado oclusión y formación de microtrombosis en pequeños vasos pulmonares de pacientes críticamente enfermos con COVID-19. Sin embargo, la etiología del nivel elevado de Dímero-D en el suero es multifactorial y aún no se ha establecido el valor de corte óptimo de éste parámetro en pacientes con COVID-19. Está claro que la coagulopatía asociada a la COVID-19 merece un énfasis distinto y un tratamiento especial. Según la directriz de la Sociedad Internacional de Trombosis y

Hemostasia (ISTH), un nivel sérico de Dímero-D marcadamente elevado implica un aumento de la producción de trombina y se ha relacionado con un peor pronóstico (Terpos et al., 2020).

Por otra parte, al evaluar la concentración de ferritina sérica se encontró un incremento significativo el cual se hizo más evidente durante la segunda y tercera semana de evolución como puede apreciarse en la Figura 5.

**Figura 5**

***Concentración sérica de ferritina en los diferentes períodos de tiempo***



\* $p < 0.0001$  primera semana vs segunda semana; segunda semana vs tercera semana y Alta

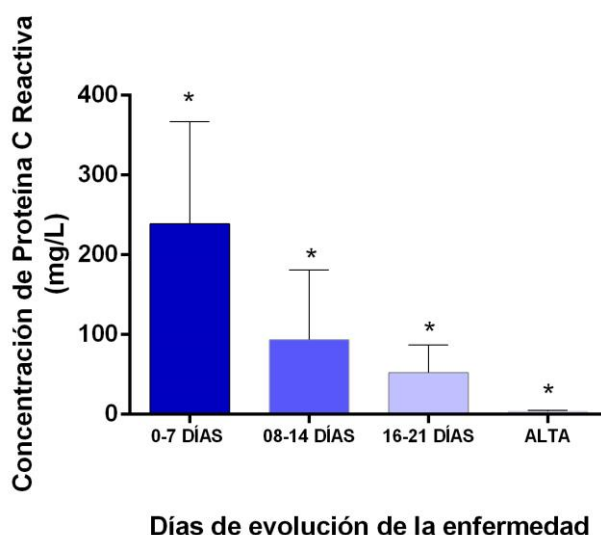
Con respecto a éste punto, Wu y colaboradores han indicado que el incremento en la concentración de ferritina se asoció con el desarrollo de síndrome respiratorio agudo severo con una significancia estadística de ( $P = 0,003$ ). Así mismo, Zhou y colaboradores, informaron una asociación entre niveles más altos de ferritina sérica y muerte (Wu et al., 2020; Zhou et al., 2020).

Otro parámetro muy sensible que permite evaluar la evolución de la COVID-19 es la proteína C reactiva. La PCR es una proteína inflamatoria de fase aguda producida por el hígado que puede estar elevada en varias afecciones, como inflamación, enfermedad cardiovascular e infección (Huang et al., 2020). En esta investigación se encontró un

incremento en la concentración sérica de PCR desde la primera semana de evolución de la enfermedad como puede observarse en la Figura 6.

**Figura 6**

***Concentración sérica de proteína C reactiva en los diferentes períodos de tiempo***



\* $p < 0.0001$  primera semana vs segunda semana; segunda semana vs tercera semana y Alta

Al respecto, estudios previos han informado que la elevación súbita de PCR se correlaciona con un COVID-19 moderado a severo, pero no necesariamente con mortalidad. Adicionalmente se ha indicado, que la concentración de PCR se eleva rápidamente durante las etapas iniciales de la enfermedad y se correlacionan con la inflamación pulmonar manifiesta en las imágenes de tomografía computarizada y rayos X (Wang, 2020), por lo cual es un parámetro muy sensible de la respuesta inflamatoria temprana.

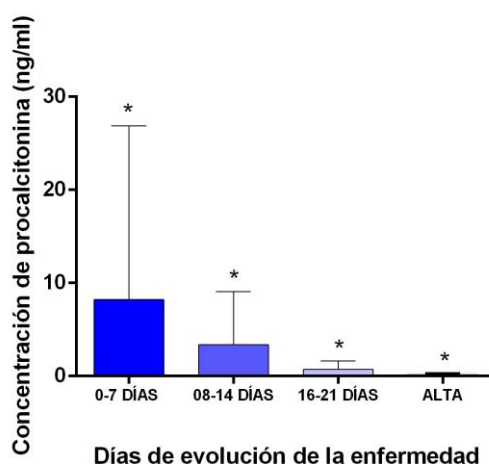
Por otro lado, un péptido precursor de la hormona calcitonina (la procalcitonina; PCT), ha sido ampliamente investigado como un biomarcador prometedor para la evaluación inicial de una infección bacteriana (Creamer et al., 2019). Una PCT sérica

elevada se encuentra a menudo en pacientes con sepsis y shock séptico. Si bien todavía es controvertido si la PCT puede distinguir con precisión la neumonía bacteriana o viral, se encontró que la terapia guiada por PCT en las infecciones respiratorias agudas reduce la exposición a los antibióticos y los efectos secundarios, y mejora la tasa de supervivencia. Las infecciones bacterianas desencadenan la síntesis extratiroidea de PCT, que se mantiene activamente mediante valores elevados de IL-6, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , mientras que las infecciones virales dificultan la producción de PCT debido al interferón- $\gamma$ . Esto explicaría por qué las concentraciones séricas de PCT permanecen normales en casos no complicados de COVID-19 y los valores elevados pueden indicar coinfección bacteriana en casos graves (Creamer et al., 2019).

En los pacientes estudiados en esta investigación, se observó un incremento significativo de PCT desde la primera semana como se aprecia en la Figura 7. Lo cual sugiere que la PCT junto con la PCR, son parámetros muy sensibles, que se elevan rápidamente durante la primera semana.

**Figura 7**

***Concentración sérica de procalcitonina en los diferentes períodos de tiempo***



\*p<0.0001 primera semana vs segunda semana; segunda semana vs tercera semana y Alta

## Conclusiones

Los pacientes con COVID-19 experimentan un incremento en la concentración sérica de procalcitonina, ferritina, proteína C reactiva y Dímero-D.

Los niveles elevados de PCR, PCT, dímero D y ferritina sérica se asociaron con un mal pronóstico, aumentando la probabilidad de mortalidad en pacientes con COVID-19.

Dentro de los marcadores descritos, la PCR y la procalcitonina experimentaron una elevación significativa durante las primeras etapas de la enfermedad. Lo cual sugiere que estos dos parámetros son más sensibles de elevarse en respuesta a procesos inflamatorios como el que ocurre en la COVID-19.

Los pacientes con COVID-19 grave con niveles de Dímero-D por encima de 1ug/ml requirieron el uso de la UCI.

## **Recomendaciones**

Luego de haber realizado el presente trabajo se puede recomendar lo siguiente:

Hacer uso adecuado de las pruebas de laboratorio clínico con el fin de poder dar una buena presunción clínica y seguimiento en pacientes diagnosticados con COVID-19.

Se recomienda concientizar al personal de salud sobre los respectivos protocolos de bioseguridad con el fin de disminuir el riesgo de contagio. Aplicar un correcto procedimiento de lavado de manos, desinfección y distanciamiento social.

Finalmente se recomienda concientizar al persona de salud sobre la administración innecesaria de antibióticos a pacientes diagnosticado con COVID-19, esto limita el tratamiento en el momento que los pacientes ingresan a las unidades de salud, a causa de la resistencia que ellos puedan generar.

## Referencias

- Boban M. (2021). Novel coronavirus disease (COVID-19) update on epidemiology, pathogenicity, clinical course and treatments. *International journal of clinical practice*, 75(4), e13868. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13868>
- Conferencia de prensa de la Organización Mundial de la Salud La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha nombrado oficialmente COVID-19 a la enfermedad causada por el nuevo coronavirus. [(consultado el 15 de julio de 2021)]; Disponible en línea: <https://www.who.int/emergencias/diseases/novel-coronavirus-2019> .
- Creamer, A. W., Kent, A. E., & Albur, M. (2019). Procalcitonin in respiratory disease: use as a biomarker for diagnosis and guiding antibiotic therapy. *Breathe (Sheffield, England)*, 15(4), 296–304. <https://doi.org/10.1183/20734735.0258-2019>
- Favaloro, E. J., & Thachil, J. (2020). Reporting of D-dimer data in COVID-19: some confusion and potential for misinformation. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 58(8), 1191–1199. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0573>
- Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1282, 1–23. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1)
- Frater, J. L., Zini, G., d'Onofrio, G., & Rogers, H. J. (2020). COVID-19 and the clinical hematology laboratory. *International journal of laboratory hematology*, 42 Suppl 1, 11–18. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13229>
- Gao, Y. D., Ding, M., Dong, X., Zhang, J. J., Kursat Azkur, A., Azkur, D., Gan, H., Sun, Y. L., Fu, W., Li, W., Liang, H. L., Cao, Y. Y., Yan, Q., Cao, C., Gao, H. Y., Brüggem, M. C., van de Veen, W., Sokolowska, M., Akdis, M., & Akdis, C. A. (2021). Risk factors for severe and critically ill COVID-19 patients: A review. *Allergy*, 76(2), 428–455. <https://doi.org/10.1111/all.14657>

- Garg, M., Sharma, A. L., & Singh, S. (2021). Advancement in biosensors for inflammatory biomarkers of SARS-CoV-2 during 2019-2020. *Biosensors & bioelectronics*, 171, 112703. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112703>
- Gargaglioni, L.H., & Marques, D.A. (2020). Let's talk about sex in the context of COVID-19. *Journal of applied physiology.*, 128(6), 1533–1538. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00335.2020>.
- Ghebreyesus TA (2020) WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19%2D%2D11-march-2020>. Accessed 25 July 2020.
- Global health 50/50. The COVID-19 Sex-Disaggregated Data Tracker. <https://globalhealth5050.org/covid19/sex-disaggregated-data-tracker/>. Consultado el 22 de marzo, 2021.
- Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman B.W. (2020). Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses—A statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*. 2020 doi: 10.1101/2020.02.07.937862.
- Hemmer, C. J., Geerdes-Fenge, H. F., & Reisinger, E. C. (2020). COVID-19: Epidemiologische und klinische Fakten [COVID-19: epidemiology and clinical facts]. *Der Radiologe*, 60(10), 893–898. <https://doi.org/10.1007/s00117-020-00741-y>
- Henry, B. M., de Oliveira, M., Benoit, S., Plebani, M., & Lippi, G. (2020). Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 58(7), 1021–1028. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0369>
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and

- Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hong, R., Zhao, H., Wang, Y., Chen, Y., Cai, H., Hu, Y., Wei, G., & Huang, H. (2021). Clinical characterization and risk factors associated with cytokine release syndrome induced by COVID-19 and chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Bone marrow transplantation*, 56(3), 570–580. <https://doi.org/10.1038/s41409-020-01060-5>
- Huang, I., Pranata, R., Lim, M. A., Oehadian, A., & Alisjahbana, B. (2020). C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis. *Therapeutic advances in respiratory disease*, 14, 1753466620937175. <https://doi.org/10.1177/1753466620937175>
- Huang, I., Pranata, R., Lim, M. A., Oehadian, A., & Alisjahbana, B. (2020). C-reactive protein, procalcitonin, D-dimer, and ferritin in severe coronavirus disease-2019: a meta-analysis. *Therapeutic advances in respiratory disease*, 14, 1753466620937175. <https://doi.org/10.1177/1753466620937175>
- Iba, T., Levy, J. H., Connors, J. M., Warkentin, T. E., Thachil, J., & Levi, M. (2020). The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Critical care (London, England)*, 24(1), 360. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03077-0>
- Jiang, F., Deng, L., Zhang, L., Cai, Y., Cheung, C. W., & Xia, Z. (2020). Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Journal of general internal medicine*, 35(5), 1545–1549. <https://doi.org/10.1007/s11606-020-05762-w>
- Kang, M., Wei, J., Yuan, J., Guo, J., Zhang, Y., Hang, J., Qu, Y., Qian, H., Zhuang, Y., Chen, X., Peng, X., Shi, T., Wang, J., Wu, J., Song, T., He, J., Li, Y., & Zhong, N. (2020). Probable Evidence of Fecal Aerosol Transmission of SARS-CoV-2 in a High-Rise Building. *Annals of internal medicine*, 173(12), 974–980. <https://doi.org/10.7326/M20-0928>
- Khan, M., Adil, S. F., Alkhatlan, H. Z., Tahir, M. N., Saif, S., Khan, M., & Khan, S. T. (2020). COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So

- Far. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(1), 39.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26010039>
- Lai, C., & Lam, W. (2021). Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. *Biochemical and biophysical research communications*, 538, 226–230.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.069>
- Li, L. Q., Huang, T., Wang, Y. Q., Wang, Z. P., Liang, Y., Huang, T. B., Zhang, H. Y., Sun, W., & Wang, Y. (2020). COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. *Journal of medical virology*, 92(6), 577–583.  
<https://doi.org/10.1002/jmv.25757>
- Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K., Lau, E., Wong, J. Y., Xing, X., Xiang, N., Wu, Y., Li, C., Chen, Q., Li, D., Liu, T., Zhao, J., Liu, M., Tu, W., ... Feng, Z. (2020). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *The New England journal of medicine*, 382(13), 1199–1207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
- Lippi, G., Mattiuzzi, C., Bovo, C., & Plebani, M. (2020). Current laboratory diagnostics of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Acta bio-medica : Atenei Parmensis*, 91(2), 137–145. <https://doi.org/10.23750/abm.v91i2.9548>
- Lu, H., Stratton, C. W., & Tang, Y. W. (2020). An evolving approach to the laboratory assessment of COVID-19. *Journal of medical virology*, 92(10), 1812–1817.  
<https://doi.org/10.1002/jmv.25954>
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet (London, England)*, 395(10224), 565–574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
- Malik Y. A. (2020). Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *The Malaysian journal of pathology*, 42(1), 3–11.

- Masters P. S. (2019). Coronavirus genomic RNA packaging. *Virology*, 537, 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.08.031>
- Ministerio de Salud de Ecuador. Base de datos CoVID-19. Disponible en [https://public.tableau.com/profile/direcci.n.nacional.de.vigilancia.epidemiol.gica.msp#!/vizhome/COVID19ecu\\_MSP\\_DNVE/COVID-19MSP](https://public.tableau.com/profile/direcci.n.nacional.de.vigilancia.epidemiol.gica.msp#!/vizhome/COVID19ecu_MSP_DNVE/COVID-19MSP). Consultado el 01 de agosto de 2021
- Mohamadian, M., Chiti, H., Shoghli, A., Biglari, S., Parsamanesh, N., & Esmaeilzadeh, A. (2021). COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *The journal of gene medicine*, 23(2), e3303. <https://doi.org/10.1002/jgm.3303>
- Ponti, G., Maccaferri, M., Ruini, C., Tomasi, A., & Ozben, T. (2020). Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 57(6), 389–399. <https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1770685>
- Rostami, M., & Mansouritorghabeh, H. (2020). D-dimer level in COVID-19 infection: a systematic review. *Expert review of hematology*, 13(11), 1265–1275. <https://doi.org/10.1080/17474086.2020.1831383>
- Salzberger, B., Buder, F., Lampl, B., Ehrenstein, B., Hitzentbichler, F., Holzmann, T., Schmidt, B., & Hanses, F. (2021). Epidemiology of SARS-CoV-2. *Infection*, 49(2), 233–239. <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01531-3>
- Terpos, E., Ntanasis-Stathopoulos, I., Elalamy, I., Kastritis, E., Sergentanis, T. N., Politou, M., Psaltopoulou, T., Gerotziapas, G., & Dimopoulos, M. A. (2020). Hematological findings and complications of COVID-19. *American journal of hematology*, 95(7), 834–847. <https://doi.org/10.1002/ajh.25829>
- Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, 25(3), 278–280. <https://doi.org/10.1111/tmi.13383>
- V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., & Thiel, V. (2021). Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nature reviews. Microbiology*, 19(3), 155–170. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>

- Wang L. (2020). C-reactive protein levels in the early stage of COVID-19. *Medecine et maladies infectieuses*, 50(4), 332–334. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.03.007>
- WHO. Pruebas de laboratorio para el nuevo coronavirus de 2019 (2019-nCoV), en casos sospechosos de infección en humanos. Orientaciones provisionales. WHO [página web en Internet]. 17 enero 2020 [Citado 11 de marzo de 2020] Disponible en: [apps.who.int › iris › handle](https://apps.who.int/iris/handle/)
- Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Xia, J., Zhou, X., Xu, S., Huang, H., Zhang, L., Zhou, X., Du, C., Zhang, Y., Song, J., Wang, S., Chao, Y., Yang, Z., Xu, J., Zhou, X., Chen, D., Xiong, W., Xu, L., ... Song, Y. (2020). Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA internal medicine*, 180(7), 934–943. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395(10229), 1054–1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., Zhao, X., Huang, B., Shi, W., Lu, R., Niu, P., Zhan, F., Ma, X., Wang, D., Xu, W., Wu, G., Gao, G. F., Tan, W., & China Novel Coronavirus Investigating and Research Team (2020). A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England journal of medicine*, 382(8), 727–733. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
- Zitek T. (2020). The Appropriate Use of Testing for COVID-19. *The western journal of emergency medicine*, 21(3), 470–472. <https://doi.org/10.5811/westjem.2020.4.47370>