



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE QUERÉTARO**

**TESIS DE MAESTRÍA EN INVESTIGACIÓN MÉDICA CON LÍNEA  
TERMINAL EN SALUD PÚBLICA**

**“VOLUMEN MEDIO PLAQUETARIO COMO BIOMARCADOR DE  
RESPUESTA INFLAMATORIA Y SU UTILIDAD COMO INDICADOR  
TEMPRANO DE MORTALIDAD EN PACIENTES CON COVID-19”**

**INVESTIGADORES**

**Médico Sub Esp. En Med. Crítica Patiño Flores Jorge Luis**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DCS Sandra Margarita Hidalgo Martínez**

## I. INTRODUCCIÓN

Se ha identificado en los pacientes con COVID-19 que existe una respuesta inflamatoria muy severa asociado a la sepsis, por lo que es de interés analizar los parámetros de laboratorio que permitirían identificar oportunamente dicha respuesta inflamatoria, así como si el volumen medio plaquetario (VMP) puede ser un indicador temprano de mortalidad en dicha población a fin de realizar las intervenciones que permitan mejorar la condición del paciente.

Un porcentaje considerable de casos de pacientes con sepsis se podrían evitar mediante la aplicación de prácticas de buena higiene, lavado de manos, partos en ambientes limpios, y a través de las mejoras en el saneamiento y nutrición (especialmente entre niños menores de 5 años), la provisión de agua limpia y potable en zonas de bajos recursos, y los programas de vacunación para poblaciones en riesgo (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2009, 2015).

La incidencia y prevalencia de la sepsis dependen de las definiciones y registros que se utilicen. En México, el estudio de Carrillo, et al en el 2009 describió el comportamiento de la sepsis en nuestro país en el que incluyeron 135 unidades de cuidados intensivos (UCI) públicas y privadas de 24 estados de la República Mexicana; de los 49 957 internamientos anuales se presentaron 11 183 casos de sepsis (27.3 %), la mortalidad por esta causa fue de 30.4% (Carrillo R et al., 2009, 2015). Las causas más frecuentes fueron: abdominal 47%, pulmonar 33%, tejidos blandos 8%, vías urinarias 7% y misceláneas 5% (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2009).

Desde luego la mortalidad total depende de la incidencia de choque séptico, que es alrededor de 35 a 45% de los pacientes con dicho diagnóstico (Carrillo R et al., 2009). La mortalidad total por hospital para la sepsis es de cerca de 40%, lo que significa cerca de 215 000 muertes anuales en EU y sitúa a este síndrome en el décimo lugar entre las causas de muerte en ese país (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2009; Sánchez A et al., 2016).

En un estudio reciente, Vélez, et al realizado del 1 de enero de 2011 al 31 de diciembre de 2017, hubo 1544 ingresos a la UCI de su hospital y 42.81%

tuvieron entre sus diagnósticos sepsis, infección severa (según la definición previa) y choque séptico, con una media de 9.64 días de estancia —casi el doble de la estancia promedio actual de la UCI—; también se observa que 33.28% fallecieron (Vélez J et al., 2017). Si se estima el costo real por día de estancia en la UCI en un hospital de tercer nivel con el tabulador del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de 2019, que es de \$34,232 pesos por día, entonces se calculan \$218 127 673.28 pesos en dicho periodo de tiempo, \$36 354 612.21 pesos anuales en una UCI de apenas nueve camas (Vélez J et al., 2017).

En la actualidad existen una serie de marcadores biológicos de sepsis ampliamente descritos, sin embargo, su susceptibilidad es variable, siendo algunos como la interleucina 6 (IL-6) capaces de señalar en general la magnitud del proceso inflamatorio, independientemente si hay o no infección, mientras que otros (como la detección de endotoxinas o proteínas que ligan lipoproteínas), marcan la presencia de infección, pero no la respuesta del enfermo infectado (Sánchez A et al., 2016).

Un biomarcador anatómico poco utilizado, pero reportado en los hemogramas rutinarios, es el volumen medio plaquetario (VMP), que ha demostrado su utilidad en el pronóstico de estados inflamatorios-trombóticos-metabólicos como eventos isquémicos cerebrales y cardiacos (Velez J, 2018; Vardon-Bounes F et al., 2019; Wu C et al., 2017). En el pasado su uso se limitaba al diagnóstico de alteraciones plaquetarias inusuales, sin embargo, en la actualidad ha adquirido gran importancia en patología clínica (Velez J, 2018; Dewitte A et al., 2017; Schmitt F et al., 2019).

La detección temprana de sepsis progresiva sería útil como estratificación del riesgo, monitoréando la progresión de la enfermedad y monitoreando la eficacia terapéutica (Oh Ho Geun et al., 2017). Aunque los estudios recientes han intentado identificar biomarcadores prometedores que pueden predecir severidad y mortalidad en las primeras etapas de la sepsis, no hay actualmente ningún factor pronóstico que puede predecir severidad y mortalidad en las etapas tempranas de la sepsis (Oh Ho Geun et al., 2017).

## II. ANTECEDENTES

La sepsis es una de las enfermedades mortales más comunes. Se define como una disfunción orgánica causada por una respuesta disregulada del huésped a un proceso infeccioso determinado (Singer M et al., 2016). Es una de las pocas condiciones médicas que ataca por igual y con gran ferocidad tanto a poblaciones en zonas de escasos recursos cómo a las del mundo de altos ingresos (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2009). A nivel mundial se estima que entre 20 y 30 millones de pacientes son afectados por esta grave entidad (Carrillo R et al., 2009, 2015). Cada hora, aproximadamente 1000 personas y cada día alrededor de 24,000 pacientes mueren a causa de la sepsis en todo el mundo (Carrillo R et al., 2009, 2015). En la población con ingresos medios bajos, la sepsis es responsable de más de 100,000 casos de muertes maternas cada año y, en algunos países, es la mayor amenaza durante el embarazo (Carrillo R et al., 2009, 2015).

Las enfermedades crónicas ó inmunosupresoras se encuentran entre las comorbilidades de mayor prevalencia, incluidas las siguientes: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), insuficiencia cardiaca congestiva (ICC), enfermedades oncológicas y diabetes mellitus (DM) (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2009, 2015). También se ha visto que pacientes con enfermedades crónicas tienen mayor riesgo de adquirir sepsis comparado con los pacientes sin comorbilidades (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2009; Sánchez A et al., 2016).

Los síntomas y signos específicos de sepsis son inespecíficos, además que el diagnóstico microbiológico tarda algunos días (Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016). Cabe resaltar que la detección temprana de la sepsis se ha asociado a disminución de la mortalidad (Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016).

La mortalidad por sepsis se puede reducir considerablemente mediante la adopción de programas para la detección oportuna y temprana, así como la implementación del tratamiento de emergencia estandarizado (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). Sin embargo, estas intervenciones se aplican

actualmente en menos de uno de cada siete pacientes de manera oportuna (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). La sepsis con frecuencia se diagnostica de manera tardía y esto se debe a múltiples factores dentro de los que se incluyen los inherentes a los pacientes, cuidadores primarios, personal médico y paramédico, quienes no cuentan con los conocimientos suficientes para su reconocimiento (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). También, en muchas ocasiones, el cuadro clínico y las herramientas diagnósticas para su detección resultan poco específicas (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015).

Otra de las dificultades radica en la rehabilitación de los pacientes afectados por la sepsis (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). El desenlace de la sepsis se observa muy a menudo como binario (el paciente muere [fracaso] o sobrevive [éxito]) (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). En estudios centrados en la mortalidad hospitalaria y duración de la estancia hospitalaria como medida de resultados (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). Sin embargo, un número similar de pacientes que ingresan a los hospitales mueren posterior al egreso hospitalario en ambos extremos de la disponibilidad de recursos (mundo de altos ingresos vs. el de medianos y bajos ingresos) (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). Además, el conocimiento y entendimiento es escaso sobre los efectos a largo plazo de la sepsis, y el acceso a la rehabilitación de los sobrevivientes es deficiente, a pesar de existir pruebas de que al menos 1 de cada 5 pacientes tienen problemas de salud física, cognitiva o mental a largo plazo (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015).

Los programas de mejora del diagnóstico de sepsis apuntan a un reconocimiento precoz de la sepsis por medio de un esfuerzo formal de detección sistemática y del tratamiento de los pacientes, una vez que se les ha identificado como sépticos (Dellinger R et al., 2016).

La gravedad de la disfunción orgánica es evaluada con sistemas de puntuación que cuantifican las anomalías según los hallazgos clínicos, de laboratorio o las intervenciones terapéuticas (Singer M et al., 2016; Carrillo R et al., 2015). Sin embargo, las diferencias en estos sistemas de puntuación también han dado lugar a inconsistencias (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016;

Dellinger R et al., 2016). El puntaje predominante en el uso actual es la evaluación secuencial de falla orgánica o SOFA por sus siglas en inglés (Sepsis Related Organ Failure Assessment) en la cual una puntuación más alta se asocia con una mayor probabilidad de mortalidad, sin embargo, su cálculo requiere múltiples variables de laboratorio lo que limita su factibilidad (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016).

Las escalas de gravedad para la evaluación de pacientes en estado crítico han sido ampliamente utilizadas en las unidades de cuidados intensivos (UCI) con el objetivo de predecir mortalidad, caracterizar la gravedad de la enfermedad y establecer el grado de disfunción orgánica (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016). Asimismo, sirven para evaluar el uso de recursos y facilitar la comunicación entre el personal de salud (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016).

La escala pronóstica SOFA se compone de la suma del puntaje obtenido de la evaluación de seis órganos (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016). Cada órgano recibe un valor que va de cero a cuatro puntos calificado según el grado de disfunción (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016). Fue desarrollado por consenso en diciembre de 1994 con el nombre de “evaluación de falla orgánica relacionada a sepsis” y posteriormente fue denominada “evaluación de fallo orgánico secuencial” (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016).

**Cuadro 1. Escala SOFA.**

	SOFA				
	0	1	2	3	4
Respiración PaO <sub>2</sub> /FIO <sub>2</sub> (torr)	> 400	≤ ≤ 400	≤ ≤ 300	≤ ≤ 200 con soporte ventilatorio	≤ ≤ 100 con soporte ventilatorio
Coagulación Plaquetas (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	> 150	≤ ≤ 150	≤ ≤ 100	≤ ≤ 50	≤ ≤ 20
Hígado Bilirrubinas (mg/dL)	< 1.2	< 1.2-1.9	2-5.9	6-11.9	< 12
Cardiovascular Hipotensión	No hipotensión	PAM < 70 mmHg	Dopamina ≤ 5 o dobutamina <sup>a</sup>	Dopamina > 5 o EP ≤ 0.1 o NE ≤ 0.1	Dopamina > 5 o EP > 0.1 o NE > 0.1
Sistema nervioso Escala de coma de Glasgow	15	13-14	10-12	6-9	< 6
Renal Creatinina (mg/dL) o uresis	< 1.2	1.2-1.9	2-3.4	3.5-4.9 o < 500 mL/día	> 5.0 o < 200 mL/día

Abreviaturas: PAM = Presión arterial media. EP = Epinefrina. NE = Norepinefrina. <sup>a</sup> = Unidades en gamas.

Cuadro que resume las variables empleadas en el modelo de SOFA para estadificación en pacientes críticos y su asociación con la mortalidad (Dellinger R et al., 2016).

La disfunción orgánica se identifica como un cambio agudo en la puntuación SOFA total  $\geq 2$  puntos como consecuencia de la infección (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016). Se puede suponer que la puntuación SOFA de referencia es cero en pacientes que no se sabe que tengan disfunción orgánica preexistente (Singer M et al., 2016; Sánchez A et al., 2016; Dellinger R et al., 2016).

Una puntuación SOFA  $\geq 2$  refleja un riesgo de mortalidad general de aproximadamente el 10% en una población de un hospital general con sospecha de infección (Singer M et al., 2016). Incluso los pacientes que presentan una disfunción moderada pueden deteriorarse aún más, lo que enfatiza la gravedad de esta afección y la necesidad de una intervención rápida y adecuada (Carrillo R et al., 2015).

Un modelo clínico desarrollado con regresión logística multivariable identificó que 2 de 3 variables clínicas (puntuación de la escala de coma de Glasgow de 13 o menos, presión arterial sistólica de 100 mm Hg o menos, y frecuencia respiratoria de 22 por min o más) ofrecieron validez predictiva similar a la de la puntuación SOFA (Singer M et al., 2016). Este concepto definido como qSOFA (quick SOFA, por sus siglas en inglés) fue descrito en el 2016 en el tercer consenso internacional para la sepsis y el shock séptico donde determinaron que

puede servir para considerar una posible infección en pacientes en quienes no se ha diagnosticado infección previamente, no requiere pruebas de laboratorio, se puede realizar de manera rápida y se puede utilizar para el tamizaje de pacientes en quienes se sospecha un cuadro de sepsis probable (Singer M et al., 2016). Se sugiere que los criterios qSOFA (mayor o igual a 2) pueden ser utilizados de manera inmediata por los clínicos para evaluar la disfunción de órganos, para iniciar o intensificar la terapia en su caso, y para considerar la derivación a la atención crítica o aumentar la frecuencia de seguimiento, si aún no han llevado a cabo este tipo de acciones (Singer M et al., 2016).

Con la intención de mejorar pronóstico, se requiere de experiencia clínica (Cohen J et al., 2015). Con la intención de facilitar su identificación temprana se ha buscado de herramientas que han incluido una serie de criterios clínicos y de laboratorio así como escalas de tamizaje de pacientes en quienes se sospecha un cuadro de sepsis (Cohen J et al., 2015). Sin embargo actualmente no existe un estándar de oro para diagnosticar la sepsis (Cohen J et al., 2015).

El CURB-65 es un índice del grado de severidad para las neumonías adquiridas en la comunidad, y va asociado a la necesidad de tratamiento (Carrillo R et al., 2015; Cohen J et al., 2015). La ventaja de el uso de esta escala es que provee un mayor rango de sensibilidad y especificidad, permitiendo así que los pacientes estén estratificados según su riesgo. Se recomienda tratamiento ambulatorio para el bajo riesgo, ingreso o seguimiento cercano para el riesgo moderado, considerar el ingreso en UCI para el riesgo considerado severo, e ingreso inmediato en UCI para el riesgo alto (Carrillo R et al., 2015; Cohen J et al., 2015). Esta herramienta tiene una sensibilidad validada del 68% y una especificidad del 86% según los estudios realizados por Lim et al (Carrillo R et al., 2015; Cohen J et al., 2015).

**Cuadro 2. Escala CURB-65.**

CURB-65	Característica clínica	Puntaje
C	Confusión	1
U	Urea >7 mmol/l	1
R (Respiraciones)	Frecuencia respiratoria >30 rr/min	1
B (Blood pressure)	Presión arterial sistólica <90 mmHg Presión arterial diastólica <60 mmHg	1
65	Edad >65 años	1

SCORE	Grupo	Opciones de tratamiento
0-1	Grupo 1; baja mortalidad (1.5%)	Bajo riesgo, considerar tratamiento ambulatorio.
2	Grupo 2; mortalidad intermedia (9.2%)	Considerar tratamiento supervisado en el hospital (ya sea hospitalización de corta estancia o tratamiento ambulatorio supervisado por el hospital).
≥3	Grupo 3; alta mortalidad (22%)	Manejar en el hospital como neumonía severa; considere la admisión a la UCI, especialmente con un puntaje CURB-65 de 4 o 5.

Cuadro que resume las variables empleadas en el modelo de SOFA para estadificación en pacientes críticos y su asociación con la mortalidad (Carrillo R et al., 2015; Cohen J et al., 2015).

Los biomarcadores pueden ser la clave para la medicina personalizada en la sepsis; un biomarcador debe ayudar rápidamente a los médicos que se enfrentan con un paciente enfermo en su decisión sobre el mejor tratamiento posible (Engelen T et al., 2018).

COVID-19 es una enfermedad viral emergente, primero identificada en China Wuhan en Diciembre del 2019, los primeros casos fueron identificados como neumonía de causa desconocida y en Febrero del 2020 la organización mundial de salud la describió como COVID-19 (Coronavirus disease 2019) (José Javier Elizalde González et al., 2020). La enfermedad fue declarada emergencia internacional el 30 de enero del 2020 (José Javier Elizalde González et al., 2020). Inicialmente el virus fue llamado 2019 nCoV y posteriormente renombrada como SARS-CoV-2 ya que el virus es muy similar al causante de SARS (José Javier Elizalde González et al., 2020). Se trata de un virus de cadena simple de RNA con apariencia de corona en microscopía electrónica por presencia de glucoproteínas en su envoltura (José Javier Elizalde González et al., 2020). La subfamilia Orthocoronavirinae clasifica a los coronavirus en 4 géneros: Alfacoronavirus

(alphaCoV), Betacoronavirus (betaCoV), Deltacoronavirus (deltaCoV), y Gammacoronavirus (gammaCoV) (José Javier Elizalde González et al., 2020).

Los coronavirus pueden causar enfermedad en animales como camellos, gatos, murciélagos (José Javier Elizalde González et al., 2020). Existen 7 coronavirus humanos (José Javier Elizalde González et al., 2020):

1) (HCoVs) que pueden infectar humanos HCoV-OC43, HCoV-HKU1 (betaCoVs); HCoV-229E, HCoV-NL63 (alphaCoVs) , que pueden ser responsables de 5% de enfermedades respiratorias con 2% de la población como portador sano (José Javier Elizalde González et al., 2020).

2) SARS-CoV, MERS-CoV y SARS-CoV-2 (betaCoVs) (José Javier Elizalde González et al., 2020).

El virus es termosensible y es inactivado por solventes lipídicos (José Javier Elizalde González et al., 2020); puede ser transmitido por gotas y por aerosoles, con un periodo de incubación de 3 días a 2 semanas (José Javier Elizalde González et al., 2020). También se ha propuesto la transmisión por contacto (José Javier Elizalde González et al., 2020).

La manifestación clínica de COVID 19 puede ser variada, desde casos asintomáticos o leves hasta situaciones tan graves como la insuficiencia respiratoria aguda mediada con datos consistentes de neumonía (José Javier Elizalde González et al., 2020).

Existen escalas de evaluación pronóstica como la escala CURB-65 que tiene una sensibilidad de 68%, especificidad del 86% con AUC 0.78 (José Javier Elizalde González et al., 2020).

Reportes de la literatura internacional han identificado varios factores de riesgo de muerte en adultos hospitalizados; en particular la edad avanzada, los niveles de dímero D superiores a 1000 ng/ml y una puntuación de SOFA elevada desde su ingreso (José Javier Elizalde González et al., 2020).

Los criterios de gravedad relacionados con la enfermedad COVID-19 se analizan desde el punto de vista demográfico y hallazgos de laboratorio (José Javier Elizalde González et al., 2020). La edad avanzada es un criterio de gravedad (>60 años); así como comorbilidades, siendo la hipertensión arterial la

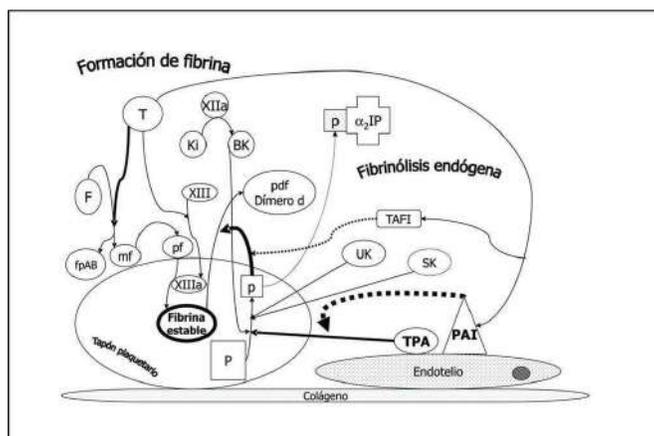
más común, seguida de diabetes mellitus y enfermedad coronaria (José Javier Elizalde González et al., 2020). En cuanto a los hallazgos de laboratorio, niveles elevados de: leucocitos, ALT, DHL, troponina I ultrasensible, CPK, Dímero D, Ferritina sérica, IL-6, prolongación del tiempo de protrombina, aumento de creatinina y procalcitonina; así como linfopenia (José Javier Elizalde González et al., 2020).

El VMP se refiere a la medición geométrica del tamaño de las plaquetas y tiene una relación inversa con el número de éstas; Es además un indicador de la activación plaquetaria (Gutiérrez A et al., 2013; Wu C et al., 2017).

Las plaquetas son los más pequeños y extremadamente reactivos componentes mórficos de la sangre (Gutiérrez A et al., 2013; Wu C et al., 2017). Están involucrados en primer lugar en los procesos de fibrosis y mantenimiento de la hemostasia (Gutiérrez A et al., 2013; Dewitte A et al., 2017; Schmitt F et al., 2019). Los trombocitos están presentes en la sangre durante 8 a 12 días (Gutiérrez A et al., 2013; Schmitt F et al., 2019). El plasma de individuos sanos muestra el recuento de plaquetas de aproximadamente 140,000-350,000/ $\mu$ l (Gutiérrez A et al., 2013; Dewitte A et al., 2017).

El VMP es un marcador de inflamación, trombosis y disfunción endotelial que ha adquirido importancia en relación a su significado en enfermedades que tienen como sustrato un componente inmunoinflamatorio y protrombótico (Gutiérrez A et al., 2013). Su implementación en la evaluación clínica cotidiana de enfermos con factores de riesgo, es una maniobra costo-efectiva que orienta al médico a la toma de decisiones y en el seguimiento de la conducta terapéutica (Gutiérrez A et al., 2013; Dewitte A et al., 2017; Schmitt F et al., 2019).

En la figura 1 se muestra el proceso de fibrinólisis endógena.



**Figura 1. Fibrinólisis endógena (A. López Rodríguez, 2005).**

El fibrinógeno (F) por acción de la trombina (T) forma monómeros de fibrina (mf) liberando fibrinopéptidos A y B con capacidad procoagulante (A. López Rodríguez, 2005). Los mf se polimerizan (pf) y éstos por acción del factor XIIIa (activado por acción de la T) constituyen la fibrina estable con sus fibras entrecruzadas (A. López Rodríguez, 2005). El plasminógeno (P) embebido en el coágulo de plaquetas y fibrina estable se transforma en plasmina (p) por la acción de: 1. la bradikinina (BK) generada a partir del kininógeno de alto peso molecular (Ki) por acción del factor XIIa; 2. el activador del plasminógeno urinario (UK) que actúa sobre todo en el plasminógeno circulante, y 3. el activador del plasminógeno tisular (tPA), activador fisiológico primario (A. López Rodríguez, 2005). La estreptokinasa (SK) producida por el estreptococo actúa de un modo similar (A. López Rodríguez, 2005). La p transforma la fibrina estable en productos de degradación como el dímero D, y la que escapa a la circulación queda ligada y neutralizada por el alfa 2 plasmina inhibidor (alfa2IP) (A. López Rodríguez, 2005). Dos inhibidores endógenos de la fibrinólisis, bajo control de la trombina, el inhibidor endotelial del activador tisular (PAI) y el inhibidor de la fibrinólisis activable por trombina (TAFI) actúan inhibiendo la acción del tPA y de la formación de p, respectivamente (A. López Rodríguez, 2005).

La participación de las plaquetas sanguíneas en una respuesta inflamatoria se asocia con la liberación de citoquinas que atraen leucocitos y facilitan la adhesión al endotelio en el sitio del daño (Gutiérrez A et al., 2013; Wu C et al., 2017; Dewitte A et al., 2017). Durante el proceso inflamatorio, las plaquetas pueden interactuar con los leucocitos formando agregados plaquetas-leucocitos (Gutiérrez A et al., 2013; Schmitt F et al., 2019). Por otra parte, las plaquetas apoyan los leucocitos contra las infecciones bacterianas a través del contacto

directo, la encapsulación de bacterias y la liberación de especies reactivas de oxígeno (Kornilik A et al., 2019; Vardon-Bounes F et al., 2019; Wu C et al., 2017).

En pacientes con inflamación activa, la concentración y elevación de citoquinas proinflamatorias, principalmente IL-6, puede conllevar a liberación de plaquetas (Kornilik A et al., 2019). Esto está asociado con estimulación y generación de trombopoyetina por la IL-6 y con el efecto directo de esta citoquina en los megacariocitos (Kornilik A et al., 2019). La IL-6 causa un incremento en la ploidía del núcleo del megacariocito y un incremento en el volumen citoplasmático, que en consecuencia conlleva a la producción de un número de plaquetas de gran tamaño (Kornilik A et al., 2019; Wu C et al., 2017; Dewitte A et al., 2017).

Las plaquetas son las primeras en acumularse en el sitio de daño, donde cambian de forma y muestra la formación de pseudópodos, liberando así de manera local contenido granular citoplasmático y factores de agregación, cuando es activada por los agonistas clásicos, como ADP, TXA<sub>2</sub>, PAF, y citoquinas inflamatorias, por ejemplo, IL-1, IL-6 y TNF alfa indicando así el procesos de fibrosis e inflamación (Kornilik A et al., 2019; Vardon-Bounes F et al., 2019; Dewitte A et al., 2017).

La morfología plaquetaria básica se evalúa durante una prueba sanguínea de rutina que proporciona información valiosa sobre el recuento de plaquetas, el volumen medio plaquetario, el ancho de distribución de plaquetas (PDW) y el nivel de plaquetas (Kornilik A et al., 2019; Vardon-Bounes F et al., 2019).

Los analizadores hematológicos modernos permiten la evaluación de VMP en una biometría hemática (Kornilik A et al., 2019). No se cuenta con un punto de corte establecido porque los valores son cambiantes y varían según la población, la técnica utilizada para medirlo y el tiempo de realización de la prueba; sin embargo, está establecido que los valores superiores a 9,5 femtolitros (fl), se asocia con enfermedades que tienen como sustrato la inflamación, disfunción endotelial y un estado protrombótico (Gutiérrez A et al., 2013; Dewitte et al., 2017).

Se considera plaquetas grandes aquellas con VMP mayor a 15 fl y plaquetas gigantes con VMP mayor a 20 fl (Kornilik A et al., 2019).

Debido a su relación con procesos inflamatorios no es sorprendente que el recuento de plaquetas y tendencias de sus respectivos componentes en éstas se asocien con el pronóstico en pacientes críticos y/o sépticos a raíz de lo cual se han realizado diversas investigaciones buscando evidenciar su relación (Kornilik A et al., 2019; Vardon-Bounes F et al., 2019).

En el 2012 investigadores de la Klinikum St. Georg realizaron un estudio con 191 pacientes con sepsis documentada (Keller D, 2012). Evaluaron el VMP al ingreso, en el momento del diagnóstico de sepsis, y durante el curso de la enfermedad comparando estos datos con un grupo control con diagnóstico de sangrado de tubo digestivo (Keller D, 2012). Los resultados mostraron que el VMP en la admisión y al inicio de los síntomas se asoció fuertemente con mortalidad como desenlace (Keller D, 2012). De los 183 pacientes con sepsis, el 21,5% de los que murieron, tenían el VMP mayor al de los supervivientes (9,6 vs 9,19 fl, respectivamente) (Keller D, 2012).

En el 2015 Chan, et al., determinaron que si bien el VMP no predijo el shock y la mortalidad a los 28 días en pacientes con sepsis grave, la relación de VMP / plaquetas en el momento de la admisión a la sala de urgencias y en el día 1 es un marcador de pronóstico prometedor para la mortalidad a los 28 días en pacientes con sepsis grave (Ho C et al., 2015).

En el 2016 Sánchez et al, evaluaron a 202 pacientes divididos en 2 grupos, (sepsis y no sepsis) de 101 pacientes cada uno, documentaron que los pacientes con sepsis durante siete días presentaron incremento del VMP persistente y significativo ( $p < 0.001$ ), además la elevación permaneció constante durante la evolución de la sepsis y por arriba de 7.4 fL (Sánchez A et al., 2016). Demostrando así la asociación de infección bacteriana con incremento del VPM a su ingreso y durante la presencia de sepsis (Sánchez A et al., 2016).

En el 2017 Vélez, et al., determinaron que el volumen medio plaquetario igual o mayor a 8,7 fL se asoció con un incremento en la mortalidad en los pacientes con sepsis (Vélez J et al., 2017).

El volumen medio plaquetario refleja la activación plaquetaria y a su producción en la médula ósea (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Un incremento en el

volumen plaquetario se ha observado en pacientes con sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Algunos estudios sugieren que el incremento en el VMP es un marcador de predicción en individuos con sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Una relación inversa entre el conteo plaquetario y el volumen medio plaquetario es normalmente visto en condiciones fisiológicas y algunas condiciones patológicas tales como la sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020).

Un estudio previo realizado por Oh Ho Geun, et al en el 2017 encontro que la división VMP/Conteo de plaquetas es un mejor marcador pronóstico de mortalidad a los 28 días en pacientes con sepsis severa que el VMP ó el conteo plaquetario por sí solos (Kim Jun Hyoung et al., 2020; Oh Ho Geun et al., 2017). Por lo tanto se plantea investigar si el índice VMP/Conteo de plaquetas, así como el VMP incrementados se asocia con la presencia de sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020).

Aunque la evaluación de rutina de los parámetros plaquetarios ha estado disponible desde hace muchos años, su importancia clínica no se ha aclarado por completo y su uso diagnóstico ha sido limitado, el volumen medio plaquetario como indicador temprano de infección de origen bacteriano de fácil acceso y bajo costo ha representado durante los últimos años una posible herramienta alternativa coadyuvante para el diagnóstico de sepsis mejorando así su pronóstico (Vélez J et al., 2020).

Se plantea que en los estudios realizados por el seguimiento de los pacientes realizados principalmente por el Instituto Klinikum St. Georg en el 2012, Chan et al. en el 2015, Sánchez et al. en el 2016, Vélez et al. en el 2017; que dieron seguimiento del recuento plaquetario en sus respectivos estudios, descubrieron que los picos de cambio en el VMP se realizan comparativamente respecto a su fecha de ingreso al día 3 (explicado por el curso de la enfermedad) y en el día 7 (máximo pico de cambio en el tamaño en sus respectivos estudios).

El estudio realizado por Manrique en el 2019, propone la puntuación SOFA (Sequential Organ Failure Assessment, por sus siglas en inglés), que incluye una serie de criterios clínicos, de laboratorio y de manejo sea utilizado para el estudio de los pacientes en su protocolo (Manrique F et al., 2019). Se asume

que la puntuación SOFA basal es CERO (0), en pacientes sin disfunción orgánica pre-existente, mientras que, para definir los criterios clínicos que identifican los pacientes infectados con sepsis, el grupo de trabajo recomienda emplear un cambio en la puntuación SOFA inicial de 2 puntos o más para representar la disfunción orgánica (Manrique F et al., 2019). Vale la pena mencionar que solamente los valores de laboratorio que actualmente cuentan hacia el diagnóstico de sepsis, son el lactato y los incluidos en la escala de SOFA, incluyendo plaquetas, bilirrubina y creatinina (Fung A et al., 2017).

La trombocitopenia es un fenómeno común en pacientes con sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Esto es conocido por ser causado por una falta de producción y un consumo excesivo del consumo plaquetario, pero el mecanismo exacto es desconocido (Kim Jun Hyoung et al., 2020). El VMP es un indicador del tamaño promedio de las plaquetas, que es inversamente relacionado al conteo plaquetario (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Esta relación es asociada con los efectos de mantener homeostasis y preservación de una masa plaquetaria constante (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Muchos estudios sugieren que el VMP se incrementa bajo condiciones sépticas (Kim Jun Hyoung et al., 2020).

Becchi et al en el 2006 sugirieron que la coagulación y la activación plaquetaria puede ocurrir en las etapas tempranas de la sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020). Las plaquetas cambian su forma durante la activación, que podría incrementar el VMP en las fases tempranas de la sepsis (Kim Jun Hyoung et al., 2020). En un estudio el conteo plaquetario en pacientes con sepsis disminuyó hasta el tercer día tras la admisión y se mantuvo estable a partir de ese día (Kim Jun Hyoung et al., 2020). En este estudio, los scores fueron basados en los resultados de estudios de laboratorio realizados en la admisión, así que el conteo plaquetario usado puede no haber sido el más bajo conteo plaquetario (Kim Jun Hyoung et al., 2020).

El conteo plaquetario juega un rol pivote en procesos tromboembólicos, inflamación e inmunomodulador; aproximadamente 40% de los pacientes con sepsis tienen conteo plaquetario  $<80,000/\text{mm}^3$  (Oh Ho Geun et al., 2017).

La trombocitopenia significativa debido a consumo plaquetario y la depleción de factores de la coagulación durante la sepsis ha sido reportado en no supervivientes (Oh Ho Geun et al., 2017). Aunque el volumen medio plaquetario está inversamente asociado con el conteo plaquetario en pacientes saludables, las implicaciones clínicas para asociaciones entre el VMP y el conteo plaquetario no han sido determinados en el choque séptico (Oh Ho Geun et al., 2017).

El VMP es una medida adecuada del tamaño plaquetario y refleja la reactividad de las plaquetas (Oh Ho Geun et al., 2017). Las plaquetas con un VMP elevado están más activos y grandes, volviéndose más protrombóticos y que conlleva a una adhesión plaquetaria y la agregación (Oh Ho Geun et al., 2017). Un VMP elevado usualmente refleja una producción compensadora en la médula ósea después de una destrucción plaquetaria inducida por el estrés, tal como ocurre durante la sepsis (Oh Ho Geun et al., 2017). Muchos estudios sugieren que los cambios en el VMP están observados durante la infección, sepsis, la enfermedad arterial coronaria, enfermedades cerebrovasculares, trombosis venosa y arterial, desórdenes inflamatorios crónicos (Oh Ho Geun et al., 2017). Estudios previos revelan la superioridad de el VMP/Conteo plaquetario y el VMP como predictores de severidad en pacientes con sepsis (Oh Ho Geun et al., 2017). En estudios previos se determina el VMP/Conteo plaquetario usando la fórmula  $((\frac{\text{Volumen medio plaquetario}}{\text{conteo plaquetario}} \times 100) / 1000)$  (Oh Ho Geun et al., 2017). Se propone que un resultado  $>5 \text{ fl/mm}^3$  se asocia con estados proinflamatorios, tales como la sepsis (Oh Ho Geun et al., 2017).

En este estudio se buscó encontrar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y máxima eficiencia diagnóstica de la elevación del volumen medio plaquetario en los pacientes con diagnóstico de sepsis secundario a neumonía por COVID-19. Los niveles nos indicaron que el VMP elevado, disponible en las biometrías hemáticas, puede fungir como un biomarcador para identificar a los pacientes con sospecha de sepsis. Estos resultados abrirán el camino para otros estudios para establecer el diagnóstico y tratamiento oportunos y con ello disminuir la mortalidad de los pacientes que cursan con esta enfermedad.

La sensibilidad es la proporción de individuos enfermos que poseen una prueba positiva (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Nos indica la capacidad de nuestro estimador para dar como casos positivos los casos realmente enfermos; proporción de enfermos correctamente identificados (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Es decir, la sensibilidad caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la enfermedad en sujetos enfermos (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017).

La especificidad nos indica la capacidad de nuestro estimador para dar como casos negativos los casos realmente sanos; proporción de sanos correctamente identificados (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Es decir, la especificidad caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la ausencia de la enfermedad en sujetos sanos (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017).

Los valores predictivos (positivo y negativo) miden la eficacia real de una prueba diagnóstica (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Son probabilidades del resultado, es decir, dan la probabilidad de padecer o no una enfermedad una vez conocido el resultado de la prueba diagnóstica (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Se trata de valores post-test y dependen de la prevalencia de una enfermedad, es decir, del porcentaje de una población que está afectada por esa determinada patología (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Son índices que evalúan el comportamiento de la prueba diagnóstica en una población con una determinada proporción de enfermos por lo que sirven para medir la relevancia de la sensibilidad y especificidad en una determinada población (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). El valor predictivo positivo se define como la probabilidad de tener la enfermedad si el resultado de la prueba diagnóstica es positivo (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). El valor predictivo negativo se define como la probabilidad de no tener la enfermedad si el resultado de la prueba diagnóstica es negativo (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017).

Debido a la dependencia de dichos valores respecto a la prevalencia, se ha propuesto estandarizar la prevalencia del  $P(E/T+)$  a un 50% (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Es necesario tener en cuenta que el uso de dichos valores, tanto positivo como negativo [ $P(E/T+)$  y  $P(E-/T-)$ ], debería realizarse cuando la prevalencia es coherente con el grupo de pacientes analizados (Gilberto J.

Vizcaíno-Salazar, 2017). Si la prevalencia de una población no se mantiene en una muestra concreta, es más apropiado utilizar los valores predictivos independientes de dicho valor (VP+ y VP-) (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017).

Cuando un individuo presenta una probabilidad pre-test (probabilidad de presentar una enfermedad antes del diagnóstico) diferente a la de la muestra utilizada para calcular los valores predictivos, se debería aislar un grupo de individuos con dicha probabilidad para establecer valores predictivos exclusivos de esa muestra (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017).

La máxima eficiencia diagnóstica es la proporción global de los verdaderos del tests, tanto verdaderos positivos como negativos (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017). Su utilidad es que sirve para comparar, en general, 2 pruebas diagnósticas (Gilberto J. Vizcaíno-Salazar, 2017).

### **III. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

Cada año de 20 a 30 millones de personas a nivel global enferman de sepsis y a pesar de los avances tecnológicos y terapéuticos, se ha presentado a nivel mundial un incremento de la incidencia y la prevalencia de la sepsis, cuyos alcances son epidémicos; su base fisiopatológica está claramente descrita en la bibliografía como un proceso proinflamatorio y si bien hasta el momento no existe un estándar de oro para su diagnóstico en los últimos años ha desarrollado particular interés en marcadores biológicos que lo faciliten.

En pacientes que cursan con un proceso inflamatorio, el aumento en la concentración de citoquinas proinflamatorias puede conducir a la liberación de plaquetas, activación plaquetas/leucocitos, lo que conlleva posteriormente a una disminución en el número de plaquetas (asociado a severidad del proceso infeccioso) e inversamente cambio en la morfología plaquetaria (aumentando así su tamaño a valores variables de VMP).

Está demostrado que el incremento del volumen medio plaquetario se correlaciona con enfermedades que tienen como sustrato la inflamación, por lo que en la literatura existe evidencia de su utilidad como un marcador de inflamación, trombosis y disfunción endotelial; que en los últimos años ha

adquirido importancia, en relación a su significado en enfermedades que tienen como sustrato un componente inmunoinflamatorio y protrombótico, como lo es la sepsis.

Implementar la medición del volumen medio plaquetario como parte de la evaluación clínica cotidiana de enfermos con sospecha de sepsis podría servir como biomarcador que, por su bajo costo y disponibilidad, oriente al médico respecto a la toma de decisiones y en el seguimiento de la conducta terapéutica.

A su vez, esto podría permitir disminución en costos hospitalarios y el acceso a herramientas diagnósticas de rápida disponibilidad y sin necesidad de equipos médicos de alta tecnología que no son accesibles en todos los hospitales alrededor del país, pudiendo determinar de manera oportuna y económica manejos y decisiones oportunas en pacientes con esta enfermedad, algo que al momento es necesario para optimizar la atención en los pacientes con COVID-19.

Se ha identificado en los pacientes con COVID-19 que existe una respuesta inflamatoria muy severa, por lo que es de interés analizar los parámetros de laboratorio que permitirían identificar oportunamente dicha respuesta inflamatoria, así como si el VMP puede ser un indicador temprano de mortalidad en dicha población a fin de realizar las intervenciones que permitan mejorar la condición del paciente.

Por otro lado, el diagnóstico definitivo de sepsis requiere de experiencia clínica; con la intención de facilitar su identificación temprana se han buscado de herramientas que incluyen criterios clínicos y de laboratorio así como escalas de tamizaje de pacientes en quienes se sospecha un cuadro de sepsis, pese a lo cual aun en la actualidad no existe un estándar de oro para diagnosticar la sepsis (Singer M et al., 2016).

Aunque desarrollos sustanciales se han realizado en el entendimiento de patogénesis básicas en la sepsis y en la correlación compleja con el huésped, el patógeno y el ambiente que afectan la incidencia y el curso de la enfermedad, la sepsis se ha resistido tercamente en todos los esfuerzos para exitosamente desarrollar y desplazar nuevos y mejorados tratamientos (Cohen J et al., 2016).

Recientemente se ha explorado el valor diagnóstico de los marcadores de inflamación que podrían ayudar a diferenciar procesos infecciosos de los que no lo son, así como definir pronóstico, predecir la gravedad, permitiendo iniciar un plan terapéutico adecuado y medir el grado de respuesta (Engelen T et al., 2018).

En la actualidad existen una serie de marcadores biológicos de sepsis ampliamente descritos sin embargo muchos de ellos se encuentran limitados por los costos y disponibilidad en la gran parte de las unidades hospitalarias lo que resulta en una escasa utilidad clínica en el escenario clínico actual (Carrillo R et al., 2009, 2015).

La búsqueda intencionada de nuevas herramientas que faciliten el diagnóstico u orienten respecto al pronóstico del enfermo nos han conducido a mirar de nuevo hacia los paraclínicos básicos disponibles en toda unidad hospitalaria (Ho C et al., 2015).

El volumen medio plaquetario reportado en los hemogramas rutinarios, se ha asociado a estados inflamatorios-trombóticos-metabólicos (Gutiérrez A et al., 2013).

Hasta el momento se desconoce la utilidad del volumen plaquetario medio como un marcador alternativo para el diagnóstico de sepsis.

El volumen medio plaquetario mayor de 7.4 femtolitros (fl) y el VMP/Conteo plaquetario  $>5 \text{ fl/mm}^3$  son marcadores biológicos de inflamación de los procesos infecciosos bacterianos.

#### IV. HIPOTESIS

**Pregunta de investigación:** ¿El VMP es útil como biomarcador de la respuesta inflamatoria en pacientes con covid-19 y como indicador temprano de mortalidad en los pacientes con COVID-19?

##### **Hipótesis estadística:**

- **Ho.** El volumen medio plaquetario con un tamaño de 7.4 fl no es útil como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19.
- **Ha.** El volumen medio plaquetario con un tamaño menor de 7.4 fl es útil como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19.

**H1.** La sensibilidad del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19 es de 80%.

**H0.** La sensibilidad del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es igual o menor de 80%

**H2.** La especificidad del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es del 60%.

**H0.** La especificidad del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es igual o menor de 60%.

**H3.** El factor predictivo positivo del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es del 40%.

**H0.** El factor predictivo positivo del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es menor o igual al 40%.

**H4.** El factor predictivo negativo del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es del 60%.

**H0.** El factor predictivo negativo del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es de igual o menor de 60%.

**H5.** El factor de máxima verosimilitud del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es del 70% (mayor a 1.5).

**H0.** El factor de máxima verosimilitud del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19 es de igual o menor de 70% (menor a 1.5).

## **V. OBJETIVOS**

### **V.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la utilidad del VMP como marcador de la respuesta inflamatoria e indicador temprano de mortalidad en pacientes con COVID-19.

### **V.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la sensibilidad del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID -19.
- Determinar la especificidad del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19.
- Determinar el factor predictivo positivo del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19.
- Determinar el factor predictivo negativo del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19.
- Determinar el factor de máxima verosimilitud del volumen medio plaquetario como marcador temprano de respuesta inflamatoria e indicador de mortalidad en paciente con COVID-19.

## **VI. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **VI.1 Tipo del estudio**

Se realizó un estudio de cohorte, observacional, prospectivo, comparativo y longitudinal.

### **VI.2 Población**

**Universo:** Pacientes mayores de 18 años que ingresan a la UCI y que requirieron atención en esta unidad con diagnóstico o sospecha de COVID-19.

**Población:** Pacientes ingresados a la UCI del HGR- 1 del IMSS del estado de Querétaro o población de referencia de otros Estados.

**Tiempo y lugar:** Se consideró un año para su realización. Se realizó en el HGR-1 del IMSS Delegación Querétaro.

### **VI.3 Muestra y Técnica muestral**

**Muestra secuencial:** Pacientes ingresados a la UCI del HGR-1. La selección se realizó por casos consecutivos hasta que se completó la muestra.

#### **Grupos de comparación:**

**Grupo I:** Pacientes con diagnóstico de sospecha o confirmación por PCR para SARS-COV2 y con qSOFA mayor o igual a 2 puntos y que cuenten con sepsis por clínica y laboratorio.

**Grupo II:** Pacientes con diagnóstico de sospecha o confirmación por PCR para SARS-COV2 con qSOFA menor a 2 que no tengan sepsis. Se realizó pareamiento por edad y sexo.

### Tamaño de la muestra.

Se utiliza la fórmula para tamaño de muestra para dos proporciones.

$$n = \frac{(p_1q_1 + p_2q_2)(K)}{(p_1 - p_2)^2}$$

$p_1 = 80\%$

$q_1 = 20\%$

$p_2 = 50\%$

$q_2 = 50\%$

$K = 6.2$

Nivel de confianza: 95%

Poder de la prueba: 80

$$n = \frac{(0.8)(0.2) + (0.50)(0.50)(6.2)}{(0.8 - 0.5)^2} =$$
$$\frac{(0.16) + (0.25)(6.2)}{(0.3)^2} = \frac{(0.41)(6.2)}{0.09} = \frac{2.542}{0.09} = 28.24$$

Se determinó por cada grupo 30 pacientes mínimo para su realización.

### VI.3.1 Criterios de selección

#### Criterios de inclusión

- Enfermos ingresados a la UCI sin diagnóstico o sospecha de infección con diagnóstico de sospecha o confirmación para SARS-COV2.
- Pacientes mayores de 18 años.
- Autorización por parte del paciente, familiares o persona responsable en caso de que el paciente se encuentre incapaz de firmar el consentimiento informado.

**Criterios de exclusión.**

- Pacientes con sospecha diagnóstica de Sepsis con un qSOFA >2 puntos pero con patología hematológica que altere la medición del VMP.
- Pacientes con diagnóstico de enfermedad hematológica previa (cáncer, leucemia o alteraciones en la coagulación).
- Pacientes con diagnóstico de enfermedad isquémica cardíaca o cerebrovascular.

**Criterios de eliminación.**

- Pacientes que durante el transcurso del estudio decidan no continuar en el mismo.
- Pacientes que durante el transcurso del estudio se demuestre diagnóstico de alteración hematológica como trombocitopenia autoinmune, leucemia o cáncer

### VI.3.2 Variables estudiadas

#### Definición de las variables

Variable dependiente - VMP, VMP/Conteo plaquetario, qSOFA, hemocultivo, CURB-65.

Variable independiente - PCR para SARS-COV2.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Edad	Tiempo transcurrido desde la fecha de nacimiento del individuo al momento del estudio	Se le preguntará al adulto mayor cuántos años cumplidos tiene y se corroborará con el carnet de citas.	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Condición orgánica que distingue entre hombres y mujeres	Según el fenotipo del participante.	Cualitativa nominal	1. Femenino 2. Masculino
Escolaridad	Se consideran los grados de estudios aprobados, en cualquiera de los sistemas de enseñanza	Nivel escolar referido por el (la) paciente.	Cualitativa ordinal	1. Analfabeta 2. Sabe leer y escribir 3. Primaria 4. Secundaria 5. Preparatoria 6. Licenciatura 7. Postgrado

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Volumen medio plaquetario	Es un parámetro de la sangre que viene a determinar el tamaño medio de las plaquetas. El VPM suele estar aumentado cuando tanto la creación y destrucción de plaquetas es elevada	Medición geométrica del tamaño de las plaquetas expresada en femtolitros (fl). Se medirá al día 3 y 7 .	Cuantitativa continua	1. Mayor ó igual a 7.4 2. Menor ó igual a 7.3
Volumen medio plaquetario/ Conteo plaquetario	Es un índice que estima la alteración del tamaño plaquetario y lo asocia con la trombocitopenia significativa debido a consumo plaquetario y la depleción de factores de la coagulación vistos durante la sepsis	Cálculo $\frac{\text{Volumen medio plaquetario}}{\frac{\text{conteo plaquetario}}{1000}} \times 100$ ) / estimado 1000 y se expresa en fl/mm <sup>3</sup> Se medirá a los días 3 y 7.	Cuantitativa continua	1. Mayor ó igual a 5 fl/mm <sup>3</sup> 2. Menor ó igual a 5 fl/mm <sup>3</sup>

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
qSOFA:	<p>Se trata de un modelo para evaluar la posibilidad de un riesgo alto en pacientes con sospecha de sepsis con escasos parámetros, dejando ya a un lado los criterios del SIRS. Emplea solamente el estado mental alterado, la presión arterial sistólica menor ó igual a 100 mmHg y la frecuencia respiratoria mayor ó igual a 22</p>	<p>Evaluación rápida secuencial de falla orgánica en valores mayor o menor a 2 puntos</p>	<p>Cuantitativa dicotómica</p>	<p>1.- Mayor ó igual a 2 puntos 2.- Menor ó igual a 1 punto</p>
CURB-65	<p>Es un índice del grado de severidad para las Neumonías adquiridas en la Comunidad, y va asociado a la necesidad de tratamiento</p>	<p>Variables: Confusión 1 punto Urea &gt;42 mg/dl al ingreso 1 punto Frecuencia respiratoria &gt;30 1 punto Presión arterial sistólica &lt;90 mmHg ó diastólica &lt;60 mmHg 1 punto Edad &gt;65 años 1 punto Riesgo grave: 3 ó 4 puntos Riesgo moderado 1 ó 2 puntos Riesgo bajo 0 puntos</p>	<p>Cuantitativa dicotómica</p>	<p>1. Riesgo bajo 2. Riesgo moderado 3. Riesgo grave</p>

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR
Set de Hemocultivo	Es un examen de laboratorio para verificar si hay bacterias u otros microbios en una muestra de sangre. se utilizan para detectar infecciones por bacterias o por hongos en la sangre, para identificar los microorganismos presentes y poder así realizar un tratamiento adecuado.	Con aislamiento de un patógeno confirmando así el diagnóstico de sepsis o que se reporte sin crecimiento descartando así el diagnóstico de sepsis. El set comprende urocultivo, cultivo de aspirado bronquial y hemocultivo.	Cualitativa nominal	1.- Positivo 2.- Negativo
Comorbilidades	La presencia de uno o más trastornos (o enfermedades) además de la enfermedad o trastorno primario. El efecto de estos trastornos o enfermedades adicionales	Cualquier enfermedad de base no relacionado con el diagnóstico de sepsis que tenga el paciente al ingreso a la unidad de cuidados intensivos	Cualitativa ordinal	1.- Diabetes mellitus 2.- Hipertensión arterial sistémica 3.- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica 4.- Otras
PCR para SARS-COV2	Prueba más comúnmente utilizada y confiable para el diagnóstico de COVID-19 realizada utilizando hisopado nasofaríngeos u otras muestras del tracto respiratorio superior, incluyendo hisopados de garganta o, más recientemente, saliva.	Prueba que identifica la presencia del virus SARS-COV2, virus causal de la enfermedad COVID-19	Cualitativa nominal	1.- Positivo 2.- Negativo

#### **VI.4 Técnicas e instrumentos**

Cuando se contó con la aprobación por parte del Comité Local de Investigación y el Comité de Ética del HGR-1 se acudió a la UCI donde:

Al ingreso de todo paciente a la UCI sospechoso o confirmado de COVID-19, se calculó qSOFA y se solicitó biometría hemática.

Aquellos con qSOFA  $>2$  y sospecha clínica de infección ingresaron al grupo 1, y se corroboró una vez se contó con un hemocultivo o urocultivo, y aquellos con qSOFA  $<2$  y sin sospecha de sepsis ingresaron al grupo 2. A ambos grupos se les solicitó biometría hemática diariamente, donde se tomaron el valor de VMP y se siguió durante su estancia en la UCI a fin de identificar la evolución del VMP y su relación con la respuesta inflamatoria y mortalidad, además de aplicar la escala de CURB 65.

#### **VI.5 Procedimientos**

Las muestras fueron tomadas del catéter venoso central por personal del servicio de enfermería como parte de los paraclínicos solicitados rutinariamente en la unidad, por lo que no se generó un costo extra para los pacientes involucrados ni para la institución. Se tomó 1 tubo (morado para procesar la biometría hemática) y se llevo al laboratorio central del HGR-1IMSS donde con el equipo Coulter LH 788 analyzer, se procesaron las biometrías hemáticas con un resultado disponible en sistema de los 30 minutos a las 2 horas aproximadamente.

El principio Coulter es un método electrónico para el recuento y medición de partículas (Romero RT, 2010). Está basado en que las células, las cuales son malas conductoras de electricidad, van a interrumpir el flujo de corriente (Romero RT, 2010).

El electrodo interno está encerrado en una cubierta de cristal no conductivo, el cual tiene una pequeña apertura (Romero RT, 2010). Cada impulso es amplificado y comparado con los canales de voltaje de referencia internos (Romero RT, 2010). Estos canales se hallan delimitados por discriminadores de

tamaño calibrados, que aceptan únicamente impulsos con una determinada amplitud (Romero RT, 2010). Así pues, los impulsos son clasificados en los distintos canales medidores del tamaño, según su amplitud (Romero RT, 2010). Dichos impulsos pueden mostrarse en la pantalla de un oscilógrafo (Romero RT, 2010).

La finalidad de establecer estos umbrales diferentes del oscilógrafo es la de excluir las partículas no deseadas, tales como restos celulares o basura de algún otro tipo, clasificar a las células por su tamaño y distinguir a los eritrocitos de las plaquetas, así como el volumen medio plaquetario (Romero RT, 2010). Cada equipo tiene especificados sus umbrales de contaje, los cuales deben disponer de un umbral inferior capaz de distinguir eritrocitos microcíticos de las plaquetas grandes y uno superior para evitar que los leucocitos sean incluidos en el contaje de eritrocitos así como distinguir la media del volumen medio plaquetario (Romero RT, 2010).

La recolección de los datos fue realizado por el investigador a través de la plataforma electrónica en la que se reportan los resultados en el período ya mencionado. En caso de que una muestra no se reportara en el sistema, el investigador principal acudió personalmente al área de laboratorio específica para observar los resultados y registrarlo en dicha base de datos.

#### **VI.5.1 Análisis estadístico**

Todos los datos fueron analizados utilizando los *softwares* Prism® (GraphPad®, Estados Unidos), versión 8, para Windows® y SPSS® (IBM®, Estados Unidos), versión 22, para Windows®. Se utilizó estadística descriptiva para las características clínicas y sociodemográficas recabadas.

Las variables cuantitativas con distribución normal se reportaron en media y desviación estándar, mientras que las variables cuantitativas con distribución no normal fueron mostradas en mediana y rango intercuartílico (RIC). Para determinar la normalidad en la distribución de las frecuencias se ejecutó una prueba Kolmogorov-Smirnov en los grupos con más de 50 observaciones y una prueba de Shapiro-Wilk en aquellos con menos de 50.

Las variables cualitativas o categóricas se describieron en porcentajes. Se empleó estadística bayesiana para el cálculo del intervalo de credibilidad en estas variables. La comparación de las características clínicas y sociodemográficas se realizó con la prueba t de Student para analizar la diferencia de medias para dos muestras independientes, para las medianas se empleó la U de Mann Whitney y para las variables cualitativas la  $\chi^2$  o la prueba exacta de Fisher. Los datos de medición del VMP en los seguimientos en múltiples puntos de tiempo se procesaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA). Se utilizó la prueba de esfericidad de Geisser-Greenhouse para evaluar la correlación de los datos de medición repetidos. La diferencia menos significativa (LSD) se empleó para la comparación por pares y se consideró la corrección de Sidak cuando fue apropiado.

Para calcular el valor de corte teórico del VMP y de la relación VMP/CP, se empleó la ecuación de la regresión logística, el cálculo de la curva característica operativa del receptor (ROC) y el índice de Youden, por el método de Wilson Brown. Asimismo, se obtuvieron sensibilidad, especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, la razón de verosimilitud positiva y los valores de OR e intervalo de confianza (IC) del 95 % para el valor predictivo calculado, por el método Baptista-Pike.

Todos los valores de p informados de estos análisis fueron de dos colas con un valor de  $p < 0.05$ .

#### **VI.5.2 Consideraciones éticas**

En el presente estudio se contempló la reglamentación ética vigente al someterse a un Comité de Investigación Local en Salud, ante el cual se presentó para su revisión, evaluación y aceptación.

El presente protocolo se realizó bajo la normatividad vigente internacional de acuerdo a la declaración de Helsinki sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, de junio de 1964, en donde se insta a los médicos a promover y velar por la salud de los pacientes, incluidos los que participan en la investigación médica, y tener como principio proteger la vida, la

salud, la integridad, y el derecho a la autodeterminación. Así como a la Norma Oficial Mexicana 012 SSA 3-2012, para la ejecución de proyectos de investigación para la salud de los seres humanos.

El estudio se llevó a cabo con confidencialidad en los datos de identificación de los pacientes, de acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, establecida en el artículo 14; refiere que la investigación que se realice en seres humanos deberá desarrollarse conforme a ciertas bases:

- Fracción I; se ajustará a los principios éticos y científicos.

- Fracción VI; deberá ser realizada por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia.

- Fracción VII; contará con dictamen favorable de las comisiones de investigación, ética y bioseguridad.

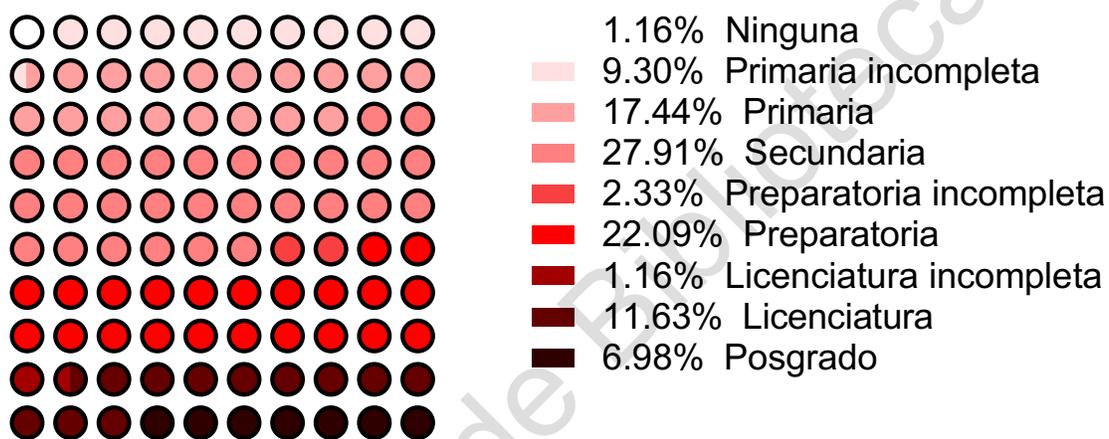
- Fracción VIII; se llevará a cabo en cuanto se tenga la autorización del titular de la institución de salud.

El protocolo y la carta de consentimiento se encuentran apegados a la Ley General de Salud y su Reglamento en Materia de Investigación; y a las Guías de la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) sobre las Buenas Prácticas Clínicas (GCP). Los pacientes ó sus familiares fueron informados de los objetivos y la confidencialidad del estudio. Así mismo se explicaron los riesgos y beneficios tanto en forma verbal como escrita. Todos los pacientes que ingresaron al estudio lo hicieron con previo consentimiento informado (cuadro de anexo 1). Los datos de los pacientes fueron codificados y sólo los investigadores tienen acceso a la información. En todo momento se mantuvo la confidencialidad de los datos. El presente estudio no confirió riesgo adicional alguno a los de la atención médica que recibieron por el padecimiento que presentaban.

## VII. RESULTADOS

Se obtuvo una muestra de 86 pacientes, de los cuales 35 (40.7 %) fueron del sexo femenino y 51 (59.3 %) del sexo masculino. La media de la edad del grupo fue de 50.1 ( $\pm$  14.2) años, siendo 50.2 ( $\pm$  15.1) años para las mujeres y 50.0 ( $\pm$  13.8) años para los hombres. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa (t de Student no pareada 0.06028,  $p = 0.9521$ ). La distribución de los seleccionados con base en su grado máximo de escolaridad se muestra en la figura 2.

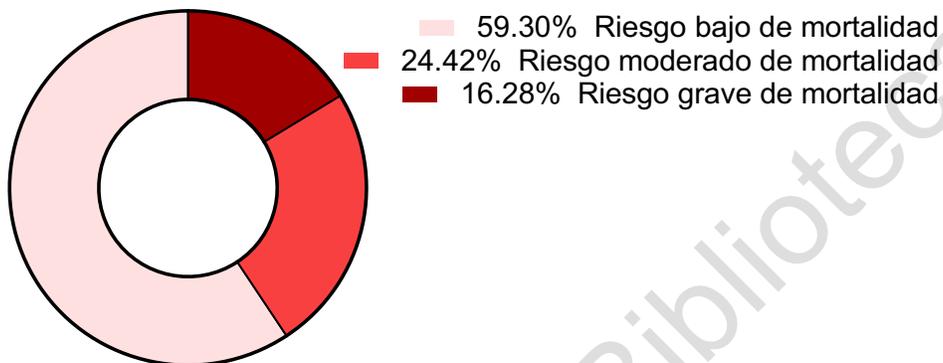
Figura 2. Distribución de los participantes de acuerdo con su grado de escolaridad



**Total = 86 participantes**

La mediana de la escala qSOFA fue de 1 (RIC 1 – 2) puntos. De la totalidad de los pacientes incluidos en el estudio, 45 (52.3 %) seleccionados tuvieron un puntaje menor de 2 y fueron clasificados como «ausencia de respuesta inflamatoria sistémica» y 41 (47.7 %) tuvieron un puntaje  $\geq 2$  y se definieron como «presencia de respuesta inflamatoria». La mediana de la escala de CURB-65 fue de 1 (RIC 1 – 2) puntos. La categorización de los participantes, de acuerdo con el riesgo de mortalidad, a partir de esta escala se muestra en la figura 3.

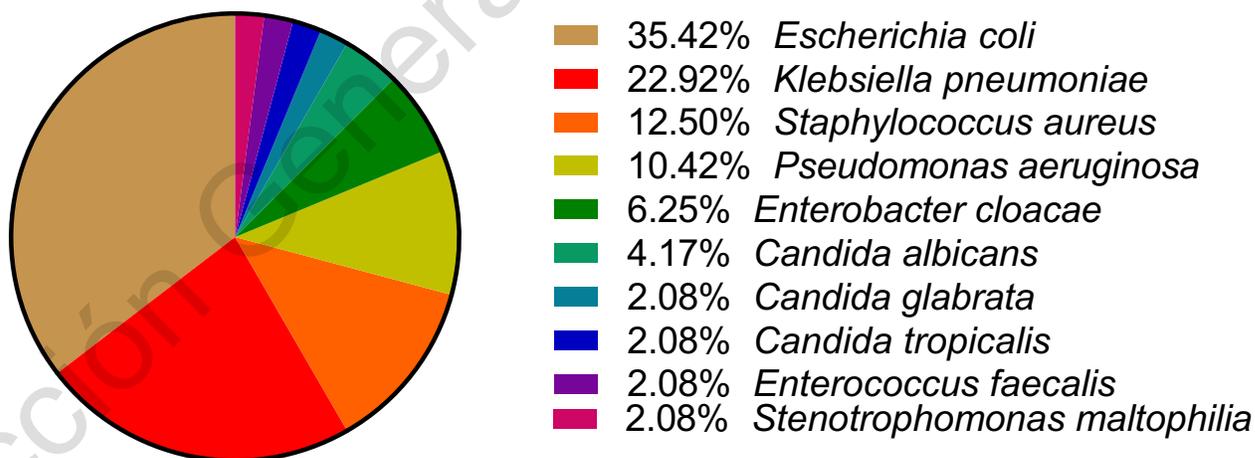
Figura 3. Riesgo de mortalidad de los participantes estimado a partir de la escala CURB-65



**Total = 86 participantes**

41 pacientes (47.7 %) presentaron un hemocultivo positivo. El tipo y la frecuencia de los microorganismos aislados se muestra en la figura 4.

Figura 4. Frecuencia de los microorganismos aislados en los pacientes con hemocultivos positivos.



**Total = 48 pacientes**

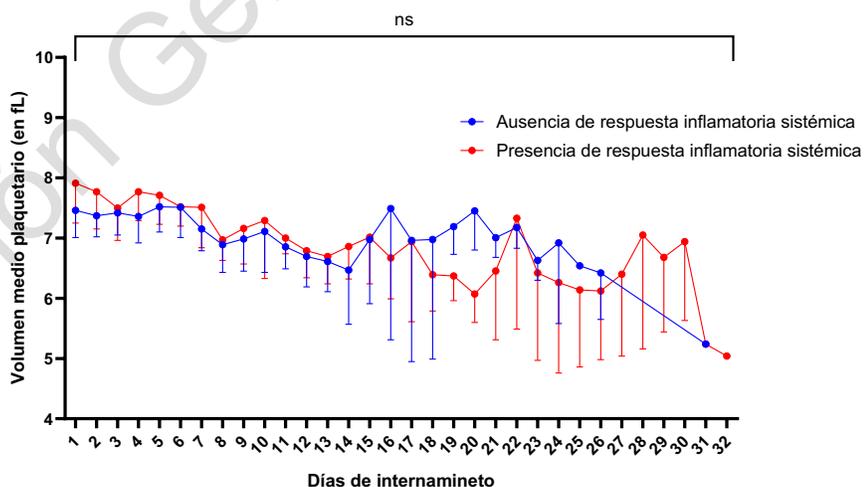
En total 51 pacientes (59.3 %) seleccionados refirieron la presencia de, al menos, una comorbilidad. De el total de la población de estudio, 24 (27.9 %) pacientes presentaron una, 20 pacientes (23.3 %) dos y 7 pacientes (8.1 %) tres comorbididades. El tipo, su frecuencia y el intervalo de credibilidad se ilustra en la tabla 1.

Tabla 1. Frecuencia de las comorbididades presentes entre los seleccionados del estudio.

Comorbilidad	Frecuencia	Intervalo de credibilidad del 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
Hipertensión arterial sistémica	27 (31.4 %)	21 %	42 %
Obesidad	26 (30.2 %)	20 %	40 %
Diabetes mellitus tipo 2	21 (24.4 %)	15 %	34 %
Sobrepeso	5 (5.8 %)	1 %	11 %
Enfermedad renal crónica	3 (3.5 %)	1 %	7 %
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	1 (1.2 %)	1 %	4 %
Hipotiroidismo	1 (1.2 %)	1 %	4 %

El contraste entre los volúmenes medios plaquetarios (VMP), en función de la ausencia o presencia de respuesta inflamatoria sistémica ( $qSOFA \geq 2$ ) se muestra en la figura 5. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tiempo de evolución ( $F = 1.246$ ,  $dF = 58$ ,  $p = 0.1072$ ) o el contraste de la condición experimental ( $LSD p > 0.999$ ). Para el primer día de internamiento, el VMP no mostró una asociación significativa con la presencia de respuesta inflamatoria (área bajo la curva [AUC] 0.5984,  $p = 0.1166$ ) y un  $VMP \geq 7.4$  fL no predijo un mayor riesgo de esta condición (prueba exacta de Fisher  $p = 0.519$ ).

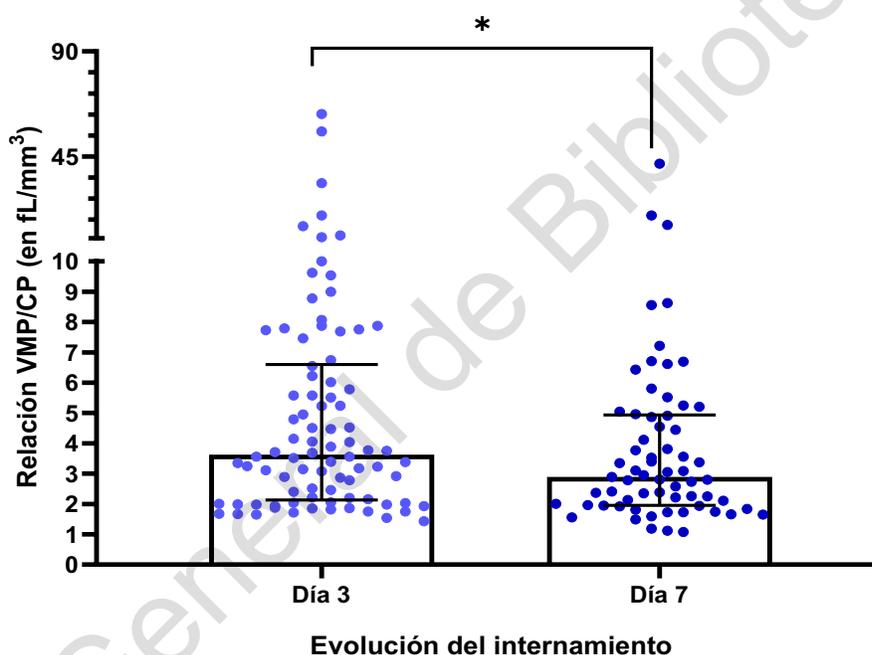
Figura 5. Mediana del volumen medio plaquetario de los participantes por cada día de internamiento y su contraste de acuerdo con la ausencia o presencia de respuesta inflamatoria sistémica.



Los puntos representan la mediana y la dispersión el error estándar. Ns, ANOVA de un factor  $p > 0.05$ .

La mediana de la relación VMP/conteo plaquetario (CP) en el tercer día de internamiento fue de 3.63 (RIC 2.14 – 6.60) y en el séptimo día fue de 2.89 fL/mm<sup>3</sup> (RIC 1.96 – 4.94). Esta diferencia fue estadísticamente significativa (U de Mann Whitney 2,245, p = 0.0386; figura 6). No obstante, esta relación no se asoció significativamente con la presencia de respuesta inflamatoria sistémica, tanto en el tercer día (AUC 0.5133, p = 0.8322) como en el séptimo (AUC 0.5193, p = 0.7876). En ambos casos, una VMP/CP ≥ 5 fL/mm<sup>3</sup> no predijo un mayor riesgo de la presencia de respuesta inflamatoria sistémica (prueba exacta de Fisher p > 0.999 y 0.387, respectivamente).

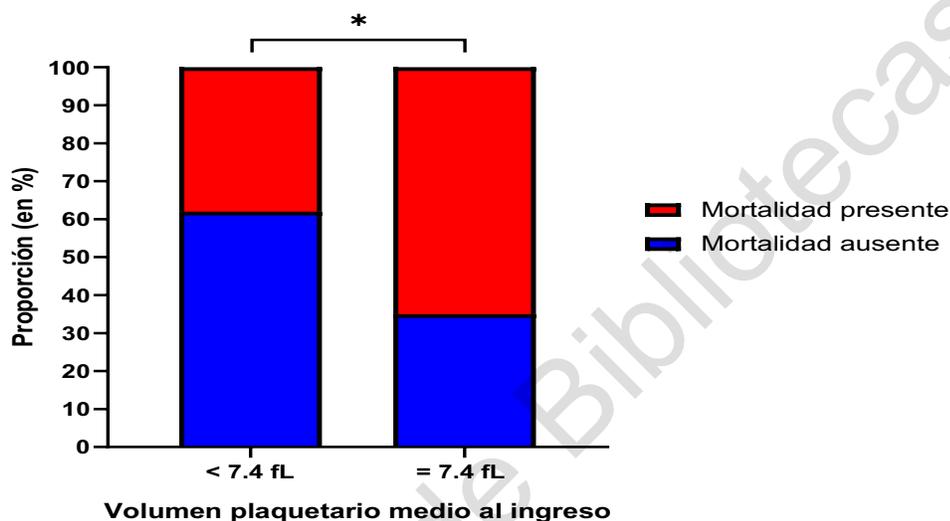
Figura 6. Contraste entre la mediana de la relación volumen medio plaquetario/ conteo plaquetario en función del tiempo de internamiento en la UCI de los participantes.



Cada punto representa la medición por participante. Las columnas representan la mediana y la dispersión el rango intercuartílico. \*, prueba de Mann Whitney p < 0.05.

De el universo de estudio, 40 pacientes (46.3 %) participantes egresaron de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) por mejoría y 46 (53.5 %) por defunción. Para el primer día de internamiento, el VMP no mostró una asociación significativa con la presencia de respuesta inflamatoria (área bajo la curva [AUC] 0.6011,  $p = 0.1073$ ). Sin embargo, un  $VMP \geq 7.4$  fL aumentó 3.1 veces la mortalidad entre los seleccionados (IC del 95 % 1.3 – 7.5,  $p = 0.016$ ; figura 7).

Figura 7. Proporción de pacientes que presentaron mortalidad de acuerdo con un volumen plaquetario medio  $\geq 7.4$  fL.



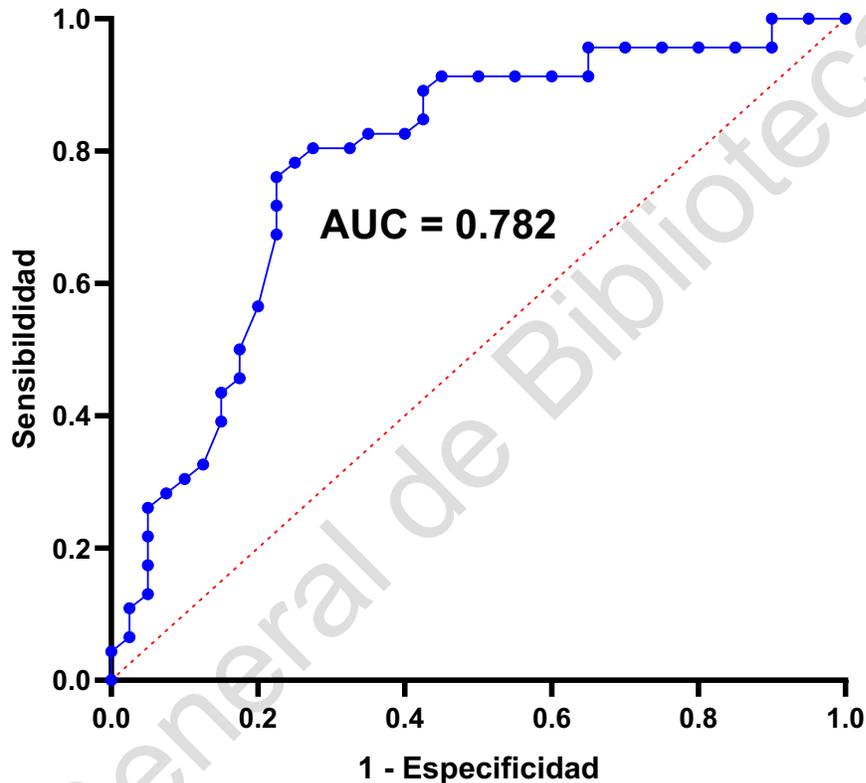
\*, prueba exacta de Fisher  $p < 0.05$ .

Este valor tuvo una sensibilidad de 62.2% (IC del 95 % 46.1 – 75.9), una especificidad de 69.6% (IC del 95 % 55.2 – 80.9), un valor predictivo positivo (VPP) de 57.5% (IC del 95 % 42.2 – 71.5), un valor predictivo negativo (VPN) de 69.6% (IC del 95 % 55.2 – 80.9) y una razón de verosimilitud positiva (RVP) de 1.79.

Respecto a la relación VMP/CP, este valor no se asoció con la mortalidad de los pacientes de manera significativa tanto en el tercer día (AUC 0.5823,  $p = 0.1896$ ), como en el séptimo día (AUC 0.6405,  $p = 0.0523$ ) del internamiento. De igual manera, una  $VMP/CP \geq 5$  fL/mm<sup>3</sup> no predijo un mayor riesgo de mortalidad entre los participantes del estudio (prueba exacta de Fisher  $p > 0.497$  y  $0.387$  para el tercer y séptimo día, respectivamente).

La mortalidad de los participantes fue independiente del sexo (prueba exacta de Fisher  $p = 0.513$ ), de su escolaridad ( $\chi^2$  de Pearson 13.085,  $p = 0.108$ ), de la presencia de un hemocultivo positivo (prueba exacta de Fisher  $p = 0.829$ ) o de la presencia de comorbilidades (prueba exacta de Fisher  $p = 0.126$ ). Una mayor edad se asoció con una mayor proporción de mortalidad de manera significativa (AUC = 0.7815, IC del 95 % 0.6801 – 0.8830,  $p < 0.0001$ ; figura 8).

Figura 8. Curva ROC de la asociación entre la edad y la presencia de mortalidad entre los participantes del estudio.



La línea de identidad está representada por la recta discontinua en rojo.

Para este estudio, se comprobaron las hipótesis planteadas dentro de los rangos especificados, con una sensibilidad menor al 80%.

## VIII. DISCUSIÓN

La COVID-19 se comporta como una infección compleja que puede involucrar diversos órganos, aparatos o sistemas en su anfitrión (Anurag A et al., 2020). Asimismo, diversos estudios sugieren que los perfiles hematológicos cambian durante el curso de la enfermedad del SARS-CoV-2 (Terpos E et al., 2020).

En este contexto, además de las funciones en la hemostasia, los trombocitos o plaquetas desempeñan un papel fundamental en la respuesta inflamatoria y su número y volumen puede variar en paralelo con la gravedad de la presencia de infecciones sistémicas (Kitazawa T et al., 2013). A través de una mediación cruzada con el sistema inmunológico, las plaquetas han surgido como moduladores críticos de la aterotrombosis y la inflamación vascular, y como células efectoras en el combate de la infección microbiana (Hyas AM et al., 2016).

Estudios recientes revelan que la modulación de los procesos inflamatorios por plaquetas puede ocurrir a través de la interacción con neutrófilos, de la internalización de patógenos y secreción de citocinas, de las proteínas microbicidas plaquetarias (PMP) y otros reguladores inflamatorios (Ribeiro LS et al., 2019).

El VMP suele emplearse como un marcador de la tasa de producción y activación de plaquetas en la médula ósea (Korniluk A et al., 2019). Asimismo, en pacientes con neumonía grave, el endotelio microvascular se daña por mediadores inflamatorios, hipoxia, patógenos y toxinas liberadas durante la reproducción, y las plaquetas se activan en un estado de hipercoagulabilidad, lo que resulta en un aumento significativo del consumo de plaquetas y un aumento compensatorio de las plaquetas de la médula ósea, dando como resultado que este parámetro se encuentre significativamente elevado (Ekiz F et al., 2011).

En el caso de la infección por SARS-CoV-2, Ozder, a través de un analítico, comparativo, observacional, longitudinal y prospectivo que evaluó el papel diagnóstico del VPM en pacientes adultos con diabetes mellitus, encontraron que la media de este parámetro fue significativamente mayor ( $11.21 \pm 0.61$  fL) en comparación con los resultados de las últimas visitas de rutina de los mismos individuos con diabetes previos al desarrollo de la COVID-19 ( $10.59 \pm 0.96$  fL) ( $p < 0.0001$ ) (Ozder A, 2020).

A pesar de lo anterior, en el presente estudio, las medianas de los VMP oscilaron entre 7 y 8 fL independientemente del día del internamiento o la gravedad clínica de los pacientes establecida como un qSOFA  $\geq 2$  puntos (figura 4), similar lo reportado Ozcelik et al., quienes encontraron que la media del VMP fue baja en un grupo de 43 pacientes adultos hospitalizados en una UCI por COVID-19 y significativamente menor que en el grupo de 54 pacientes ingresados por influenza ( $p < 0.027$ ) (Ozcelik N et al., 2021).

Sin embargo, se identificó que un VMP  $\geq 7.4$  fL aumentó 3.1 veces la mortalidad entre los seleccionados (IC del 95 % 1.3 – 7.5,  $p = 0.016$ ; figura 6). Este hallazgo es similar a lo reportado por Güçlü et al. quienes, por medio de un estudio analítico, observacional, longitudinal y prospectivo que investigó la relación entre la mortalidad en COVID-19 y el recuento de plaquetas, el VPM y el ancho de distribución de las plaquetas, reportaron que por cada unidad (fL) de incremento

en el VPM entre el primer y tercer día de hospitalización, la mortalidad por COVID-19 aumentó 1.76 veces de manera significativa ( $p < 0.05$ ); concluyendo que: «además de la capacidad pulmonar del paciente, el VPM se puede utilizar como prueba auxiliar para predecir la mortalidad en pacientes con COVID-19» (Güçlü E et al., 2020).

## **IX. CONCLUSIONES**

El mecanismo de cambio en los índices plaquetarios en pacientes con COVID-19 probablemente sea multifactorial (Koupenova M et al., 2017). El pronóstico adverso en pacientes con un VPM elevado puede estar asociado con un mayor riesgo de estrés oxidativo, trombosis y apoptosis en plaquetas activadas (Chu SG et al., 2010). El mayor VPM entre los no sobrevivientes de la COVID-19 podría deberse a la trombocitopenia que, como ocurre en otros coronavirus, sea consecuencia de una infección directa de la médula ósea; en segundo lugar, debido a la destrucción de plaquetas por parte del sistema inmunológico y, en tercer lugar, el consumo de plaquetas debido a la agregación en los pulmones (Chu SG et al., 2010).

En consecuencia, la producción de plaquetas aumenta a medida que disminuye el recuento de plaquetas y un mayor número de plaquetas jóvenes implica una mayor actividad que las plaquetas menos jóvenes. De esta manera, después de la destrucción de plaquetas inducida por estrés, la disminución del conteo plaquetario estimula aún más a los megacariocitos para que produzcan una gran cantidad de plaquetas, lo que conduce a un aumento del VPM (Xu P et al., 2020)

## **X. PROPUESTAS**

Considerando las conclusiones obtenidas en el presente trabajo, se puede considerar el uso de volumen medio plaquetario como parámetro económico, de fácil acceso y predictor de mortalidad en pacientes con sepsis e infección por COVID-19. Sin embargo, se necesitan más estudios que permitan aclarar estos mecanismos y su aplicación.

## XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Singer M, Deutschman C, Seymour C, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. [Internet]. 2016; 315(8):801-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26903338>
- 2.- Carrillo R, Peña C, Ojino J. Sepsis de las bases moleculares a la campaña para incrementar la supervivencia. Primera edición. Ciudad de México: Academia Nacional de Medicina; 2015. Disponible en: [https://www.anmm.org.mx/publicaciones/CAnivANM150/L31\\_ANM\\_SEPSIS.pdf](https://www.anmm.org.mx/publicaciones/CAnivANM150/L31_ANM_SEPSIS.pdf)
- 3.- Carrillo R, Carrillo JR, Carrillo LD. Estudio epidemiológico de la sepsis en unidades de terapia intensiva mexicanas. Cir Ciruj. [Internet]. 2009; 77(4):301-308. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66211210008>
- 4.- Sánchez A, Navarro J, Yunuem L, et al. Utilidad del volumen plaquetario medio para descartar sepsis. Rev Asoc Mex Med Crit. [Internet]. 2016; 30(2):87-94. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medcri/ti-2016/ti162d.pdf>
- 5.- Dellinger R, Levy M, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2016. Intensive Care Med. [Internet]. 2017; 39(2):165-228. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00134-017-4683-6>
- 6.- Cohen J, Vincen J, Adhkari N, et al. Sepsis: a roadmap for future research. The Lancet Infectious Diseases Commission. [Internet]. 2015; 15(5): 581-614. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S147330991570112X>
- 7.- Engelen T, Wiersinga W, Scicluna B, et al. Biomarkers in Sepsis. Crit Care Clin [Internet]. 2018; 34(1) 139–152. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29149935>
- 8.- Ashitha L. Vanimaya V, Ravindran S, et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. J Intensive Care. [Internet]. 2017; 51(5) 1-7. Disponible en: <https://jintensivecare.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s40560-017-0246-8>

9.- Manrique F, Mendez Y, Herrera G, et al. Uso de procalcitonina como diagnóstico de sepsis o shock séptico: revisión sistemática y metaanálisis. Infectio. [Internet]. 2019; 23(2): 133-142. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v23n2/0123-9392-inf-23-02- 00133.pdf>

10.- Fung A, Beriault D, Eleftherios P, et al. The Role of Procalcitonin in Diagnosis of Sepsis and Antibiotic Stewardship: Opportunities and Challenges. Clin Chem. [Internet] 2017; 63(9): 1436-1441. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28634222>

11.- Velez J. ¿El volumen medio plaquetario es un predictor de mortalidad en pacientes sépticos? Revisión de la literatura. Rev Med Hered. [Internet] 2018; 29(1): 116-120. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v29n2/a10v29n2.pdf>

12.- Gutierrez A, Gutierrez Y, Carillo R. Volumen Plaquetario Medio: el tamaño si importa. Med Int Mex. [Internet] 2013; 29(3): 307-310. Disponible en: <https://www.mediagraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2013/mim133k.pdf>

13.- Korniluk A, Koper O , Kamińska J. Review Article Mean Platelet Volume (MPV): New Perspectives for an Old Marker in the Course and Prognosis of Inflammatory Conditions. Mediators of Inflammation. [Internet] 2019; 22(6): 1-14. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2019/9213074/>

14. Keller D. Platelet Size Predicts Mortality in Patients with Sepsis. Medscape. [Internet] 2012; Disponible en: [https://www.medscape.com/viewarticle/767116?src=trendmd\\_pilot](https://www.medscape.com/viewarticle/767116?src=trendmd_pilot)

15- Ho C, Jun S, Jung M, et al. An Increase in Mean Platelet Volume from Baseline Is Associated with Mortality in Patients with Severe Sepsis or Septic Shock. LoS ONE. [Internet] 2015; 10(3):1-15. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4350997/pdf/pone.0119437.pdf>

16.- Vélez J, Jara A, Vélez P, et al. ¿Es el volumen medio plaquetario un predictor de mortalidad en sepsis de pacientes críticos?. Rev Fac Cien Med. [Internet] 2017; 42(1): 84-90. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/322518732\\_Es\\_el\\_volumen\\_medio\\_plaquetario\\_un\\_predictor\\_de\\_mortalidad\\_en\\_sepsis](https://www.researchgate.net/publication/322518732_Es_el_volumen_medio_plaquetario_un_predictor_de_mortalidad_en_sepsis)

17.- Vardon-Bounes F, Gratacap M-P, Groyer S, Ruiz S, Georges B, Seguin T, et al. (2019) Kinetics of mean platelet volume predicts mortality in patients with septic shock. PLoS ONE 14(10): e0223553. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223553>

18.- Wu, C. C., Lan, H. M., Han, S. T., Chaou, C. H., Yeh, C. F., Liu, S. H., Li, C. H., Blaney, G. N., 3rd, Liu, Z. Y., & Chen, K. F. (2017). Comparison of diagnostic accuracy in sepsis between presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein: a systematic review and meta-analysis. Annals of intensive care, 7(1), 91. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5585118>

19.- Dewitte, A., Lepreux, S., Villeneuve, J., Rigother, C., Combe, C., Ouattara, A., & Ripoche, J. (2017). Blood platelets and sepsis pathophysiology: A new therapeutic prospect in critically ill patients?. Annals of intensive care, 7(1), 115. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29192366>

20.- Schmitt, F., Manolov, V., Morgenstern, J., Fleming, T., Heitmeier, S., Uhle, F., Al-Saeedi, M., Hackert, T., Bruckner, T., Schöchl, H., Weigand, M. A., Hofer, S., & Brenner, T. (2019). Acute fibrinolysis shutdown occurs early in septic shock and is associated with increased morbidity and mortality: results of an observational pilot study. Annals of intensive care, 9(1), 19. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6353981/pdf/13613\\_2019\\_Article\\_499.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6353981/pdf/13613_2019_Article_499.pdf)

21.- A. López Rodríguez. (2005). Alteraciones de la coagulación en la sepsis. Medicina intensiva, 29(3):166-77. Disponible en: <https://www.medintensiva.org/es/alteraciones-coagulacion-sepsis-ar>

22.- Romero RT, et al. Manual de Técnicas y Procedimientos en Bancos de Sangre. 3a ed. México: Editorial Prado; 2010.

23.- Gilberto J. Vizcaíno-Salazar. (2017). Importancia del cálculo de la sensibilidad, la especificidad y otros parámetros estadísticos en el uso de las pruebas de diagnóstico clínico y de laboratorio. Medicina & Laboratorio, Volumen 23, Número 7-8. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/05/883697/importancia-calculo-sensibilidad-y-especificidad.pdf>

24.- Kim Jun hyoung, et al. (2020). A Modified Simple Scoring System Using the Red Blood Cell Distribution Width, Delta Neutrophil Index, and Mean Platelet Volume-to-Platelet Count to Predict 28-Day Mortality in Patients With Sepsis. Journal of intensive care medicine. Jun 9; 885066620933245. Online ahead of print. Disponible en:

[https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0885066620933245?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/0885066620933245?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed).

25.- Oh Ho Geun, et al. (2017). Mean platelet volume to platelet count ratio as a promising predictor of early mortality in severe sepsis. Shock. Volume 47, No. 3, Pp. 323-330. Disponible en:

[https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2017/03000/Mean\\_Platelet\\_Volume\\_to\\_Platelet\\_Count\\_Ratio\\_as\\_a.10.aspx](https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2017/03000/Mean_Platelet_Volume_to_Platelet_Count_Ratio_as_a.10.aspx).

26.- José Javier Elizalde González, et al. (2020). Guía para la atención del paciente crítico con infección por COVID-19. Medicina crítica. Med Crit 2020;34(1):7-42. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medcriti-2020/ti201b.pdf>.

27.- González-Castro A, et al. Cuidados intensivos durante la epidemia de coronavirus 2019. Med Intensiva. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2020.03.001>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7271070/pdf/main.pdf>.

28.- Anurag A, et al. Differential white blood cell count in the COVID-19: A cross-sectional study of 148 patients. Diabetes Metab Syndr 2020. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.10.029>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7605785/pdf/main.pdf>.

29.- Terpos E, et al. Hematological findings and complications of COVID-19. Am J Hematol 2020. <https://doi.org/10.1002/ajh.25829>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7262337/pdf/AJH-9999-na.pdf>.

30.- Kitazawa T, et al. Changes in the mean platelet volume levels after bloodstream infection have prognostic value. Intern Med 2013. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.52.9555>. Disponible en: [https://www.ijstage.ist.go.jp/article/internalmedicine/52/13/52\\_52.9555/pdf/char/en](https://www.ijstage.ist.go.jp/article/internalmedicine/52/13/52_52.9555/pdf/char/en).

- 31.- Anne-Mette Hvas. Platelet Function in Thrombosis and Hemostasis. Semin Thromb Hemost 2016. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1572329>. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-0036-1572329.pdf>.
- 32.- Lucas Secchim Ribeiro, et al. Regulation of innate immune responses by platelets. Front Immunol 2019. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01320>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6579861/pdf/fimmu-10-01320.pdf>
- 33.- Aleksandra Korniluk, et al. Mean platelet volume (MPV): New perspectives for and old marker in the course and prognosis of inflammatory conditions. Mediators Inflamm 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9213074>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6501263/pdf/MI2019-9213074.pdf>
- 34.- Fuat Ekiz, et al. Mean platelet volume as a fibrosis marker in patients with chronic hepatitis B. J Clin Lab Anal 2011. <https://doi.org/10.1002/jcla.20450>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6647557/pdf/JCLA-25-162.pdf>
- 35.- Aclan Ozder. A novel indicator predicts 2019 novel coronavirus infection in subjects with diabetes. Diabetes Res Clin Pract 2020. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2020.108294>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7332455/pdf/main.pdf>.
- 36.- Neslihan Ozcelik et al. The value of the platelet count and platelet indices in differentiation of COVID-19 and influenza pneumonia. J Med Virol 2021. <https://doi.org/10.1002/jmv.26645>. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jmv.26645>
- 37.- Ertuğrul Güçlü et al. Effect of COVID-19 on platelet count and its indices. Rev Assoc Med Bras 2020. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.66.8.1122>. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/NJ8KTYKH9F3Mxy73K3CkRJH/?lang=en&format=pdf>

38.- Milka Koupenova et al. Thrombosis and platelets: An update. Eur Heart J 2017. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw550>. Disponible en: [https://watermark.silverchair.com/ehw550.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9khhW\\_Ercy7Dm3ZL\\_9Cf3qfKAc485ysgAAAtEwggLNBgkqhkiG9w0BBwagggK-MIICuglBADCCArMGCSqGSib3DQEHATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMlzQgV0bOQXDDk8NwAgEQgIIChL\\_nb2b2EpLMN3M0b3lwu8gbzpv9NUxNND0288YfIXnQ7ySq](https://watermark.silverchair.com/ehw550.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9khhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAtEwggLNBgkqhkiG9w0BBwagggK-MIICuglBADCCArMGCSqGSib3DQEHATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMlzQgV0bOQXDDk8NwAgEQgIIChL_nb2b2EpLMN3M0b3lwu8gbzpv9NUxNND0288YfIXnQ7ySq)

39.- S G Chu et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: A systematic review and meta-analysis. J Thromb Haemost 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7936.2009.03584.x>. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1538-7836.2009.03584.x>

40.- Panyang Xu et al. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. Ann Hematol 2020. <https://doi.org/10.1007/s00277-020-04019-0>. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7156897/pdf/277\\_2020\\_Article\\_4019.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7156897/pdf/277_2020_Article_4019.pdf)

## XII. ANEXOS

### XII.1 Hoja de recolección de datos.



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**Hospital de General Regional No. 1, Querétaro**  
**Servicio: Terapia Intensiva**  
**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

**“VOLUMEN MEDIO PLAQUETARIO COMO BIOMARCADOR DE RESPUESTA INFLAMATORIA Y SU UTILIDAD COMO INDICADOR TEMPRANO DE MORTALIDAD EN PACIENTES CON COVID-19”**

<b>Folio:</b>	<b>Cama:</b>
<b>Nombre:</b>	
<b>Edad:</b>	<b>Sexo:</b> F( ) M( )
<b>Escolaridad:</b>	<b>qSOFA:</b>
<b>PCR para SARS-COV2:</b> _____	<b>CURB 65:</b>
<b>VMP/Conteo plaquetario:</b> Día 1 _____ Día 6: _____ Día 2 _____ Día 7: _____ Día 3 _____ Día 8: _____ Día 4 _____ Día 9: _____ Día 5 _____ Día 10: _____	<b>Volumen plaquetario medio:</b> Día 1 _____ Día 6: _____ Día 2 _____ Día 7: _____ Día 3 _____ Día 8: _____ Día 4 _____ Día 9: _____ Día 5 _____ Día 10: _____
<b>Set de hemocultivo:</b>  -Urocultivo: _____ _____ -Aspirado bronquial: _____ _____ -Hemocultivo: _____ _____	<b>Comorbilidades</b>  1.- DM _____ 2.- HTA _____ 3.-EPOC _____ 4.- Otras: _____ _____ _____

## XII.2 Carta de consentimiento informado

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (ADULTOS)	
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN	
Nombre del estudio:	<b>"VOLUMEN MEDIO PLAQUETARIO COMO BIOMARCADOR DE RESPUESTA INFLAMATORIA Y SU UTILIDAD COMO INDICADOR TEMPRANO DE MORTALIDAD EN PACIENTES CON COVID-19"</b>
Lugar y fecha	, Querétaro, Querétaro, México
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	<p>Acorde a la fisiopatología del COVID-19 se ha identificado una respuesta inflamatoria intensa y alta mortalidad (riesgo de muerte), por lo que es necesario identificar indicadores tempranos a fin de poder realizar intervenciones oportunas en el paciente y disminuir su riesgo de muerte.</p> <p>El objetivo del estudio es determinar la utilidad del volumen medio plaquetario (el VMP) como biomarcador de la respuesta inflamatoria e indicador temprano de mortalidad en pacientes con enfermedad por COVID-19.</p>
Posibles riesgos y molestias:	<p>NINGUNO asociado a toma de muestra para el protocolo de estudio. La toma de muestras de biometría hemática y hemocultivos es un procedimiento rutinario, no doloroso ya que se toma del catéter venoso central y no conlleva riesgos de infección ó riesgo para el ó la paciente de ninguna índole. Este procedimiento de toma de muestras es parte de la atención médica recibida y no requiere de un protocolo especial de procesamiento ó procedimiento especializado para su transporte y reporte que los ya previamente planteados para su atención cotidiana en un hospital. Estas muestras son necesarias en estudios de rutina y ya están planteadas como parte de la atención al paciente, por lo que no se verá modificado ni su atención ni implica ningún riesgo adicional al ya explicado para su atención en el hospital. Son procedimientos necesarios para orientar su atención médica y se realizan aunque no participe en el estudio.</p>
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	<p>Monitoreo hemodinámico e identificación temprana de complicaciones que podrían orientar al médico en una mejor atención para el ó la paciente. No se obtiene ningún beneficio económico, pero si puede ayudar al médico a identificar posibles complicaciones de la enfermedad y de su evolución y podría ayudar a ajustar su manejo para beneficiar al paciente, mejorando así su atención.</p>
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	<p>Se dará la información a los familiares y/ó a usted como paciente acorde a los resultados. Una vez recabados los resultados se podrá dar información en el horario planteado para los informes médicos correspondientes a cada turno respecto a la evolución del paciente, siempre entendiendo que este protocolo no cambia los tratamientos médicos ya establecidos, sólo orienta respecto a la gravedad y a la evolución del paciente.</p>
Participación o retiro:	<p>La participación o retiro del paciente del presente protocolo no repercutirá en la atención ni tratamiento que debe recibir acorde a su enfermedad y estado de salud. El estudio NO tiene costo alguno y es completamente voluntario, por lo que puede negarse de manera libre a participar en el protocolo. Cualquiera que sea su decisión no afectará su atención médica recibida por ningún personal médico encargado de su tratamiento ni seguimiento. Usted es libre de desistir participar en el protocolo en cualquier momento, sin ninguna clase de repercusión en su atención ni en su evolución conforme a su enfermedad de base.</p>
Privacidad y confidencialidad:	<p>Los datos obtenidos serán únicamente propiedad del investigador principal y no serán divulgados en ningún momento asegurando que no afecta la privacidad del participante ni revelando datos personales a ninguna instancia médica ni a ningún otro personal de salud encargado. La obtención de resultados se registrarán en hojas de cálculo en una laptop de uso particular y no serán utilizados por nadie fuera del investigador principal para su lectura, interpretación y procesamiento.</p>
En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse al Investigador:	<p>Investigador principal: Patiño Flores Jorge Luis. MAT: 98231845. Tel: 5548207903.                      Correo: <a href="mailto:jorgepf956@gmail.com">jorgepf956@gmail.com</a></p> <p>Investigador responsable: Dra. Sandra Hidalgo Martínez. Correo: <a href="mailto:sandrahidalgo@hotmail.com">sandrahidalgo@hotmail.com</a>. Tel 442 1567804</p>
En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a:	<p>Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso Bloque "B" del a Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, correo electrónico: <a href="mailto:comisión.etica@imss.gob.mx">comisión.etica@imss.gob.mx</a></p>
<p>_____</p> <p>Nombre y firma del sujeto ó del familiar responsable</p> <p>Testigo 1</p> <p>_____</p> <p>Nombre:                      Dirección:                      Relación con el paciente y firma:</p>	<p>_____</p> <p>Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento</p> <p>Testigo 2</p> <p>_____</p> <p>Nombre:                      Dirección:                      Relación con el paciente y firma:</p>
<p><b>Clave: 2810-009-013</b></p>	