



**UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA**

Faculta de Ciencias e Ingeniería

**Asociación entre sintomatología reportada y positividad de una prueba
molecular para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 en Lima,
Perú en el 2021**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

Autor

Angelica Maria Quintana Reyes

Asesor

PhD. Fiorella Del Carmen Krapp Lopez

Co-Asesor

PhD. George Edward Malaga Trillo

Lima - Perú

2024

Reporte de Turnitin

Asociación entre sintomatología reportada y positividad de una prueba molecular para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 en Lima, Perú en el 2021

ORIGINALITY REPORT

11 %	10 %	3 %	0 %
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	revistamedicinainterna.net Internet Source	1 %
2	hdl.handle.net Internet Source	<1 %
3	buscador.una.edu.ni Internet Source	<1 %
4	covid.dh.miami.edu Internet Source	<1 %
5	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
6	www.aepap.org Internet Source	<1 %
7	diu.unheval.edu.pe Internet Source	<1 %
8	imtavh.cayetano.edu.pe Internet Source	<1 %
	repositorio.puce.edu.ec	

Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
<i>Familia de los Coronavirus</i>	3
<i>Estructura del virus</i>	3
<i>Pandemia del Coronavirus</i>	5
<i>Variantes del SARS-CoV2</i>	5
<i>Panorama epidemiológico del SARS-CoV-2 en Latinoamérica</i>	9
<i>Sintomatología asociada al SARS-CoV-2</i>	9
<i>SARS-CoV-2 en el Perú</i>	11
<i>Implementación de una prueba molecular de bajo costo en el Perú</i>	12
Justificación	14
Objetivo General	15
Métodos	16
Resultados	22
Discusión	28
Conclusiones	32
Referencias Bibliográficas	33

Resumen

El virus respiratorio SARS-CoV-2 logró una rápida diseminación alrededor del mundo, logrando cobrar la vida de millones de personas. Esto despertó el interés de científicos que han hecho de este, el virus más estudiado de la última década. A pesar de la creciente experiencia clínica y las numerosas investigaciones alrededor del SARS-CoV-2, la relación entre la sintomatología asociada a un diagnóstico positivo sigue sin entenderse por completo, específicamente durante los meses posteriores al brote.

Por ello proponemos determinar el grado de asociación entre la sintomatología presente durante la toma de muestra para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 y la positividad del diagnóstico mediante RT-qPCR, en dos hospitales de tercer nivel en Lima, en el transcurso de la segunda ola de la pandemia. Para poder concretarlo realizaremos un estudio, observacional, analítico de tipo transversal, a partir de un análisis secundario de datos de la sintomatología registrada en un estudio de validación clínica de una prueba molecular de bajo costo a partir de saliva.

Con los resultados obtenidos, documentaremos el transcurso de la pandemia durante los primeros meses desde una perspectiva epidemiológica.

Palabras Clave:

Diagnóstico, SARS-CoV-2, Sintomatología, Asociación, RT-qPCR

Abstract

The SARS-CoV-2 respiratory virus spread rapidly around the world, causing millions of people. This sparked the interest of scientists who have made this the most studied virus of the last decade. Despite growing clinical experience and numerous investigations surrounding SARS-CoV-2, the relationship between the symptomatology associated with a positive diagnosis remains not fully understood, specifically during the months following the outbreak.

Therefore, we propose to determine the degree of association between the symptoms present during sample collection for diagnosis of SARS-CoV-2 infection and the positivity of the diagnosis by RT-qPCR, in two third-level hospitals in Lima, throughout the second wave of the pandemic. To achieve this, we will carry out an observational, cross-sectional analytical study, based on a secondary analysis of data on the symptoms recorded in a clinical validation study of a low-cost molecular test from saliva.

With the results obtained, we will document the course of the pandemic during the first months from an epidemiological perspective.

Keywords

Diagnostic, SARS-CoV-2, symptoms, association, RT-qPCR

Introducción

Familia de los Coronavirus

El nuevo síndrome respiratorio agudo SARS-CoV-2 fue reportado por primera vez en China en diciembre del 2019, desde entonces ha cobrado la vida de más de 6.4 millones de personas alrededor del mundo (1). Su rápida diseminación y alta tasa de mutación despertó el interés de muchos científicos que han convertido a este, en el virus más estudiado de la última década (2).

Los coronavirus pertenecen al orden de los *Nidovirales*, a la familia *Coronaviridae*, a la sub-familia *Coronavirinae*(3). Esta última está dividida en cuatro géneros: Alpha, Beta, Gamma y Delta (2). Dentro de este grupo se sabe que al menos 7 coronavirus infectan a humanos α -coronavirus (HCoV-229E y HCoV-NL63) y β -coronavirus (HCoV-OC43 y HCoV-HKU1) (4).

Los coronavirus humanos se caracterizan por su variabilidad y susceptibilidad a variaciones genéticas, así lo demuestra el análisis filogenético realizado por Birch et.al., donde las secuencias de las cepas de coronavirus humanos HCoV-229E que circulaban entre 1979 y 2004 evidenciaron variaciones en las secciones S y M del virus a modo de selección positiva; es decir, una divergencia de la secuencia genética del virus (5).

Igualmente, una investigación en torno al análisis de la secuencia genética de HCoV-OC43, de muestras que provenían de la misma región, pero con un año de diferencia entre ellas, presentaron una divergencia genética de 2.7×10^{-4} nucleótidos por sitio. Las mutaciones se presentaron en la región de los genes S, E y HE del virus, específicamente inserciones y deleciones; coincidentemente asociados a una evasión del sistema inmune (6).

Estructura del virus

El coronavirus, es un virus monocatenario positivo, de cadena simple (ácido ribonucleico) en sentido positivo; su genoma contiene aproximadamente 30 000 pares de bases. Presenta modificaciones post-translacionales, mismas que amplían

su repertorio de aminoácidos y repercute directamente en variaciones a nivel celular y sub-celular, así como su mecanismo de interacción con otras células (7).

Con respecto a su conformación estructural, los coronavirus se caracterizan principalmente por 4 estructuras (*Figura 1.*):

1. La proteína Spike, (S) encargada del reconocimiento y la unión entre el virus y las células del hospedero (8). **2.** La Membrana (M) es una glicoproteína estructural localizada en la envoltura del virus, desempeña un rol clave en el ensamblaje de nuevos virus, dado que influye en su forma y tamaño (9). **3.** La Envoltura (E) facilita el ensamblaje y liberación del virus, además participa durante el proceso de infección, morfogénesis y patogénesis (3). **4.** Finalmente, la Nucleocápside (N), es una estructura que se une directamente al ARN viral y provee estabilidad (7).

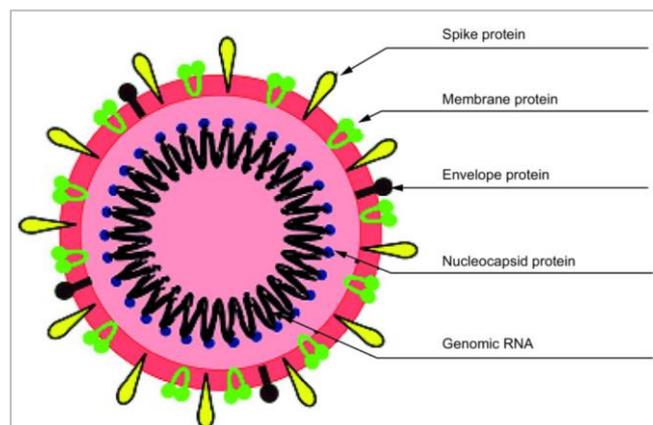


Figura 1 Proteínas estructurales de la familia Coronaviridae. Fuente: doi: [10.2217/fvl-2020-0124](https://doi.org/10.2217/fvl-2020-0124)

Durante la investigación realizada por Dimpal et.al., que buscaba determinar el rol de la presión mutacional y selección natural sobre los genes estructurales en la familia Coronavirus se encontró que el gen S presenta una alta tasa de variación (3.88), seguido por el gen E (7.29), esto lo respalda el número efectivo de codones (valor de la tasa de mutación, calculado por medio de una correlación negativa) (10). La región proteica S presenta mayores sitios de glicosilación, proceso fuertemente asociado a la evasión del sistema inmune y *protein folding* (plegamiento de proteína) (10).

Pandemia del Coronavirus

Los primeros reportes de neumonía atípica se registraron en diciembre del 2019 en Wuhan, China. Científicos aislaron y catalogaron al nuevo patógenos como 2019-nCoV, un nuevo tipo de beta coronavirus. Meses más tarde, la Organización Mundial de la Salud lo denominaría *SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus)*. Fue declarado emergencia de salud pública el 30 de enero del 2020 y el 11 de marzo del mismo año se declaró pandemia (11).

El nuevo coronavirus es el quinto evento pandémico documentado, el más reciente se dio en 1918 con reportes de patologías respiratorias atípicas (4).

Los primeros reportes epidemiológicos del SARS-CoV-2 giraron alrededor de R_0 (número básico de reproducciones), que se utiliza para describir la intensidad de transmisión de una enfermedad infecciosa, en otras palabras, es la tasa de propagación viral a partir de los reportes iniciales en Wuhan (12). Los estudios de rastreo de contactos revelaron una alta tasa de transmisión (R_0 : 2 y 4) antes de la implementación de las medidas de confinamiento adaptadas en China. Más allá del R_0 , la capacidad de contener un patógeno de manera exitosa depende de otros factores como la proporción de infecciones sintomáticas y asintomáticas (cuadro que pasa por alto durante la vigilancia epidemiológica).

Variantes del SARS-CoV2

La principal diferencia entre una mutación y una variación es que una mutación es la modificación en la secuencia de nucleótidos de un gen, específicamente a nivel de los aminoácidos; mientras que una variante es la diferencia entre individuos de la misma especie o entre especies (13).

Las variaciones, generalmente, son producidas por productos de recombinación, presión selectiva o puntos específicos de mutación. La actividad neutralizante de las vacunas y anticuerpos monoclonales reducen significativamente su eficacia; sin embargo, cada variación tiene un efecto en la transmisión del virus, efectividad del tratamiento y diagnóstico (14).

Factores como el comportamiento del huésped, cambios en la respuesta inmune a nivel comunitario y alteraciones evolutivas en la secuencia genética de los virus, tienen un impacto en su capacidad de transmisión (12). En lo que respecta al SARS-CoV-2, su variación genética en términos de mutaciones ha registrado un incremento notable que tiene un efecto considerable en la transmisión, tasa de contagio y en la data clínica.

De acuerdo a los numerosos reportes de mapeo genómico, se han reportado cinco Variantes de preocupación, VOC, por sus siglas en inglés, *Variantes of Concern*; estas son: Alpha, Beta, Gamma, Delta y Omicron con origen en Reino Unido, Sudáfrica, Brasil/Japón, e India, respectivamente (15).

Los VOC se definen por su mayor potencial de transmisión, lo que repercute directamente en la epidemiología de la COVID-19, este grupo de variantes conduce a una reducción en la eficacia de pruebas de diagnóstico, vacunas y tratamientos clínicos.

Alpha (B.1.1.7): Fue la primera variante reportada. Se registró por primera vez en Reino Unido en noviembre del 2020. Según los registros epidemiológicos esta nueva variante del SARS-CoV-2 reemplazó rápidamente a la cepa silvestre que se encontraba en circulación.

Dentro del marco clínico, las personas manifestaban dolor de garganta, fatiga, mialgias y fiebre, acompañado de una pérdida parcial o total del sentido del olfato o del gusto. El malestar gastrointestinal, dificultad para respirar y mialgias fueron síntomas similares al SARS-CoV-2 tipo silvestre (16).

Las mutaciones en la región Spike presentan sustitución en RBD y delección en NTD, además presenta mutaciones de nucleocápside, las mismas que son asociadas a una mayor tasa de transmisión del virus. Incluso algunas mutaciones RBD están relacionadas con la reinfección y una reducción en la eficacia de las vacunas (17).

Beta (B.1.351): se observó por primera vez en Sudáfrica en mayo 2020, lo que inició la segunda ola de contagios en ese país. Presenta una mayor capacidad de transmisión (50% más rápida que la cepa silvestre).

La marcada reducción en la eficiencia de las vacunas se da por una mutación en la región Spike del virus, misma que se asocia con una evasión del sistema inmune (18). Tres mutaciones en las regiones RBD y RBM en la glicoproteína Spike permiten una mayor afinidad entre el virus y las células humanas.

Gamma (P.1): los primeros reportes se dieron en noviembre del 2020 en Brasil, se sabe que las variantes anteriores, Alpha y Beta, no confieren inmunidad para esta nueva cepa; y que puede producir reinfecciones; es entre 2.5-10 veces más transmisible que el tipo silvestre (19).

La sintomatología fue similar a las dos variantes anteriores, pero con una menor intensidad. Una investigación relacionada con la tasa de transmisión, virulencia y mortalidad concluyó que esta variante desarrolla un cuadro clínico grave durante el embarazo y el posparto (20). Asimismo, durante los meses de noviembre y diciembre en Brasil, se registró un incremento en la tasa de hospitalización y mortalidad entre jóvenes.

Después de Omicrón, Gamma es la variante con mayor número de mutaciones (12 mutaciones) en Spike, mismas que le confieren una mayor tasa de transmisión.

Delta (B.1.617.2): tuvo su origen en diciembre del 2020 en India, esta es una de las variantes con mayor letalidad y patogenicidad, presenta una tasa de transmisión más rápida en comparación de las otras variantes.

La variante Delta es altamente contagiosa por distintas mutaciones; la mutación en Spike incrementa la afinidad con células del hospedero (ACE-2) y evita la unión con los anticuerpos (21), y las nuevas mutaciones en la Nucleocápside dieron como resultado una mayor carga viral (22). El cuadro clínico es el mismo que las otras variantes; los nuevos síntomas incluyen dolor de cabeza, estornudos, congestión nasal, dolor de garganta y tos persistente.

Después más de un año de circulación se convirtió en el segundo linaje más extendido en el mundo, 33% Europa, Asia 25%, África 27%, América 12% y Oceanía 3%. La población joven con comorbilidades presentes es el grupo más susceptible a enfermedades graves en contraste con otras variantes.

Omicrón (B.1.1.529): Inicialmente esta variable fue detectada en Bosnia, Sudáfrica; el 24 de noviembre del 2021, para el 7 de diciembre del mismo año ya se reportaban casos de Omicrón alrededor del mundo (23).

Esta variante presenta un mayor número de mutaciones, así lo demuestran las 32 mutaciones detectadas en la región Spike comparado con las 16 mutaciones de Delta. Otros reportes lo describen como tres veces más infeccioso que la cadena original (*SARS-CoV-2 wild type*) (14).

Omicrón presenta una ventana de contagios más alta, producto de un incremento en el tiempo de replicación del virus; una mayor capacidad de virulencia, por la mutación en la región P681H; una mejor unión a ACE2 del huésped debido a la alteración en las posiciones Q498R y N501Y y un mayor tiempo de sobrevivencia del virus sobre superficies (estabilidad ambiental) (14).

Esta variante presenta una evasión del sistema inmune humoral, eso lo demuestran las investigaciones en torno a la eficacia de la tercera dosis de vacuna contra la COVID-19, que no ha librado a muchos pacientes de una re-infección (diagnóstico positivo, luego de 90 días de una infección previa). Los datos *In Vitro* sugieren niveles más bajos de anticuerpos neutralizantes contra COVID-19 en comparación con otros linajes de SARS-CoV-2 (24).

Las mutaciones en las regiones S de la secuencia del virus tienen un impacto en la detección del virus, dejando con falsos negativo a las pruebas de diagnóstico basadas en la detección del gen S, lo que llevó a mejorar la sensibilidad y especificidad de los nuevos test de diagnóstico (25).

Panorama epidemiológico del SARS-CoV-2 en Latinoamérica

Latinoamérica es la región más afectada por la pandemia, así lo evidencia el exceso de mortalidad que se encontraba por encima del 50% de la tasa anual esperada (26), dentro del contexto epidemiológico, las condiciones de sus sistemas de salud y nivel socioeconómico en combinación con una alta prevalencia de enfermedades endémicas crónicas acrecentaron el avance de la pandemia. Así; Brasil, México, Colombia, Argentina y Perú registraron la mayor tasa de mortalidad en la región durante el primer trimestre del 2021 (27).

En países como Italia y Estados Unidos hubo una disminución en la curva de contagios, aparentemente estaba saliendo del pico de contagios de su segunda ola; mientras que India y China, mantuvieron niveles bajos de contagio, a diferencia de los países de Latinoamérica que presentaron un incremento (28).

La aparición de nuevas variantes incrementa la tasa de infección y muertes; predecir el curso que tomará la pandemia se vuelve difícil debido a la complejidad de la evolución viral, inmunidad preexistente asociada al porcentaje de personas vacunadas o infecciones preexistentes. Adicionalmente es necesario considerar las características demográficas y económicas particulares de cada país para manejar los brotes de SARS-CoV-2.

Sintomatología asociada al SARS-CoV-2

Se examinaron las principales características y síntomas reportados durante la primera y segunda ola del SARS-CoV-2. De los síntomas informados (*Tabla N°1*) la pérdida del olfato y la fiebre son los síntomas más reportados en Estados Unidos e Inglaterra. Mientras que en Latinoamérica, estos síntomas varían entre los países de la región, por ejemplo fiebre está presente en 83% en Bolivia, y 49% en Perú; y disnea, en 28.7% en México, pero solo en 4,3% en Argentina (27).

Tabla N°1: Artículos sobre la sintomatología asociada a SARS-CoV-2, aquí se resumen los síntomas con mayor porcentaje de asociación a un diagnóstico positivo de SARS-CoV-2. La data incluye los registros de infectados durante la primera y segunda ola de la pandemia.

Autor	Periodo	Sintomatología	Observaciones
Wohl DA, Barzin AH, Naprawnik S et. Al. 2021 (29)	Entre marzo - septiembre del 2020 (PRIMERA OLA)	Pérdida del olfato (84.3%)* Dolor de cabeza (64.2%) Tos (55.8%) Escalofríos (53.7%) Fiebre (49.1%) Dolor de garganta (48.8%)	Estados Unidos, sistema de salud ambulatorio.
Macedo MCF, Pinheiro IM et. Al. 2020 (30)	Marzo - julio del 2020 (PRIMERA OLA)	Cefalea (82%)* Dolor de garganta (80%)* Dificultad respiratoria* Mialgia, anosmia (56%) y ageusia (56%).	Brasil, el 44% de la población fueron mujeres entre 20-39 años.
Antonio Loza, Rosa María Wong, et.al. 2022(31)	Marzo - septiembre 2020 (PRIMERA OLA)	Dolor de cabeza (60%) Tos (55%) Fiebre (40%)	México, tasa de mortalidad más alta de la región, asociado a la alta tasa de sobrepeso y obesidad de los pacientes.
Schönfeld D, Arias S, Bossio JC, et. Al. 2021 (32)	Marzo - octubre 2020 (PRIMERA OLA)	Fiebre (58.5%)* Tos (58%) Dolor de cabeza (45.4%) Dolor de garganta (42.1%). Diarrea (9.9%) Disnea (4.3%)	Argentina
Yomayusa N, Rocío K, Acevedo C, et. Al. 2020(33)	Marzo - Mayo 2020 (PRIMERA OLA)	Sistémicos (malestar general y mialgia) 95.5% Tos 93.7% Vías respiratorias (disnea, retracción) 90.9% Gastrointestinales (nauseas) 45.5%	Colombia
Elliott J, Whitaker M, Bodinier B, et. Al. 2021 (34)	Junio del 2020 - enero 2021 (SEGUNDA OLA)	Pérdida total o parcial del olfato y el gusto, fiebre, tos persistente, escalofríos, pérdida del apetito y fatiga.	Inglaterra

Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, et. Al. 2022 (35)	Noviembre 2020 - abril 2021(SEGUNDA OLA)	Tos (69.35%), Baja saturación de oxígeno (69.46%) Fiebre (56.84%) Molestia respiratoria (59.01%) Diarrea (14.10%) Vómito (7.9%) Pérdida del gusto (10.49%) Pérdida del olfato (10.39%)	Brasil, tasa de mortalidad más alta de la región.
-----------------------------------------------------	------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------

Reportes de sintomatología gastrointestinal común entre los países de Latinoamérica fue la prevalencia de diarrea en la región; sin embargo, esta patología estuvo presente incluso antes de la pandemia (36–38).

En la primera etapa de la pandemia en Brasil los síntomas más frecuentes fueron sistémicos y con disminución de gusto y olfato. Mientras que, durante la segunda ola, fue evidente el aumento de síntomas gastrointestinales. La segunda ola de pandemia, fue más agresiva en comparación con otros países de la región, así lo evidencia su tasa de mortalidad, que incrementó un 5% respecto a la primera (30).

SARS-CoV-2 en el Perú

El 6 de marzo de 2020 se reportó el primer caso de COVID-19 en el Perú. Los primeros registros clínicos fueron similares a los casos reportados en China y EE. UU, mismos que describen una enfermedad respiratoria con una duración de 7 días. Una investigación realizada por Acosta y Escobar, et.al. señaló que la población peruana más afectada, durante los primeros meses luego de pandemia, era la masculina y el 35% de esta población tenía más de 60 años, a diferencia de los informes de China y EE. UU. que presentaron tasas similares sólo para casos graves (39).

Dentro del marco de la primera ola, el Perú ocupó el segundo lugar en número de casos en LA, después de Brasil. La curva epidemiológica de contagios presentó reducciones en su crecimiento semanal 0.15% durante los primeros 8 meses de

pandemia, pero luego incrementó a 0.17% semanalmente, del 14-20 de diciembre (40).

Los casos positivos de la COVID-19 durante las primeras semanas de la segunda ola, fueron mayormente en los adultos (entre 30 y 59 años) con una tasa de 6,96% y luego los adultos mayores (de 60 años a más) con una tasa de 6,56%. Hasta el 13 de enero del 2021, el Perú se ubicaba en el quinto país en el mundo con mayor número de defunciones después de Estados Unidos de Norteamérica, Brasil, India y México (41).

La segunda ola en el Perú empezó en enero del 2021 y terminó en junio del 2021 (42). Durante este periodo la Organización Panamericana de la Salud, informó la circulación de 3 nuevas variantes del virus SARS-CoV-2 en 14 países de Latinoamérica. La 501Y.V2 presenta una mayor tasa de contagio, así como un cuadro clínico más crítico (43).

En la primera semana de enero 2022 se anunció el inicio de la tercera ola de la pandemia del COVID-19 (44). La peculiaridad de esta ola es la predominancia de la variante Omicrón, la cual representa más del 93% de los virus circulando en el país. Esta nueva variante es de alta contagiosidad, pero de cuadro clínico de baja mortalidad.

Estudio madre: Implementación de una prueba molecular de bajo costo en el Perú

Durante el inicio de la pandemia hubo un desabastecimiento de equipos de protección, medicamentos y pruebas de diagnóstico. Esta situación agravó aún más el avance de la pandemia. En respuesta a esta problemática se propuso el diseño de una prueba molecular de bajo costo a partir de muestras de saliva (45).

El proyecto de adaptación tecnológica fusiona tecnología de amplificación isotérmica LAMP con la detección del CRISPR-Cas, logrando una nueva prueba de diagnóstico molecular con valores de sensibilidad y especificidad muy similares a la prueba *Gold estándar*, RT-qPCR.

Para la evaluación de desempeño bajo condiciones reales de campo, se planteó un estudio prospectivo, transversal y observacional. El tamaño de la muestra (351

pacientes) se determinó utilizando la fórmula de estimación de especificidad del programa PASS 11.0 (NCC, LLC. Kaysville, Utah, EEUU) con una sensibilidad y especificidad esperadas del 96% y 99% respectivamente, asumiendo un nivel de confianza del 95% y una precisión del 5% (46). En los hospitales nacionales Guillermo Almenara Yrigoyen y Edgardo Rebagliati Martins,

En base a los criterios de elegibilidad e inclusión/exclusión desarrollados a detalle en el siguiente apartado, seleccionaron 351 pacientes ambulatorios que visitaron estos hospitales para la detección del SARS-CoV-2 entre los meses de enero y febrero del 2021, sin haber sido vacunados y que reportaron sintomatología clínica tal y como irritabilidad de garganta, fiebre, cefalea, anosmia, congestión nasal, malestar general, diarrea y disgeusia u otro síntoma no considerado en la base.

Las muestras de hisopado nasofaríngeo y de saliva fueron trasladadas en medio de transporte viral (para las muestras de hisopado) y en un medio de TCEP/EDTA (para las muestras de saliva) y su análisis se realizó en paralelo, todo el proceso se realizó el mismo día. (Figura N°2)

Las muestras de saliva fueron trasladadas a los Laboratorios de Investigación y Desarrollo en la Universidad Peruana Cayetano Heredia para su procesamiento mediante esta nueva prueba, mientras que las muestras de hisopado nasofaríngeo se analizaron por RT-qPCR en los laboratorios del Hospital Nacional Guillermo Almenara Yrigoyen de acuerdo al protocolo establecido para la red nacional de EsSalud.

En la figura 2 se detallan los puntos principales del procedimiento diagnóstico de la nueva prueba molecular:

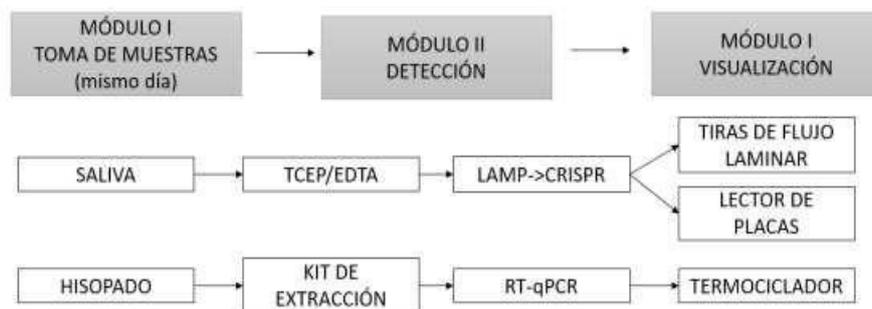


Figura N°2: Flujograma de trabajo en campo (validación clínica de la nueva prueba); Módulo I, luego de la firma del consentimiento informado se procede a la toma de muestra de hisopado nasofaríngeo bajo el protocolo de la OMS, posteriormente se toma la muestra de saliva; Módulo II, inactivar y amplificar el material genético según los protocolos establecidos para cada tipo de muestra; Módulo III, analizar y visualizar los resultados.

Justificación

Los sistemas de salud de muchos países de Latinoamérica, especialmente de las regiones con un nivel de ingresos medio-bajo, colapsaron y no se daba abasto para atender al gran número de pacientes infectados por SAR-CoV-2. (47) En nuestro país, más de la mitad del personal médico se encontraba contagiado, lo que llevó a implementar un complejo sistema de triaje, que semanas más tarde evidenció falencias en la información del cuadro clínico de la enfermedad (48).

Actualmente, la bibliografía disponible ha registrado las variaciones en el cuadro clínico de la enfermedad conforme el virus ha mutado; lo que hace mucho más complejo discriminar qué síntomas son específicos de sus variantes, o de alguna otra patología relacionada (49).

Los análisis previos, específicamente los realizados durante los primeros meses de pandemia, pasaron por alto la relación entre la sintomatología y el diagnóstico positivo a SARS-CoV-2, así como el cuadro clínico días antes del diagnóstico durante las primeras olas de la pandemia (41).

Determinar el tiempo en que se manifiestan los síntomas es relevante no solo para priorizar las pruebas de diagnóstico, sino para complementar los estudios de dinámica de transmisión e implementar a tiempo medidas de control a nivel de salud pública que permitan reducir la tasa de contagio.

La caracterización del cuadro clínico asociado con la infección por SARS-CoV-2 puede afianzar el desarrollo de herramientas de riesgo predictivo que podrían usarse para priorizar las pruebas de diagnóstico a aquellos con más probabilidades de estar infectados. La Utilidad de este tipo de investigaciones también radica en poder replicar estos estudios en futuras olas pandémicas, considerando la naturaleza de los nuevos virus, patogenicidad, mortalidad y comorbilidad de los pacientes.

Pregunta de investigación

¿Cuál es el grado de asociación entre la sintomatología reportada, durante la toma de muestra, y la positividad del test molecular, RT-qPCR para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 durante la segunda ola de pandemia en dos hospitales de tercer nivel de Lima, Perú en el 2021?

Objetivo General

Determinar el grado de asociación entre la sintomatología reportada durante la toma de muestra para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 y la positividad de RT-qPCR en dos hospitales de tercer nivel en Lima, en el transcurso de la segunda ola de la pandemia, durante los meses de enero y febrero del 2021.

Objetivos específicos:

Describir la frecuencia de diversos síntomas en pacientes que acuden para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, en dos hospitales de tercer nivel en Lima, durante la segunda ola de la pandemia.

Describir la distribución del tiempo de enfermedad en pacientes que acuden para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, en dos hospitales de tercer nivel en Lima, durante la segunda ola de la pandemia.

Estimar la frecuencia de positividad por síntoma y por concurrencia de síntomas en pacientes que acuden para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2, en dos hospitales de tercer nivel en Lima, durante la segunda ola de la pandemia.

Evaluar la asociación entre sintomatología y positividad para SARS-CoV-2, ajustada a edad, sexo y tiempo de la enfermedad.

Métodos

Diseño del estudio:

La presente investigación, corresponde a un estudio observacional, analítico de tipo transversal, que se realizó a partir de un análisis secundario de una base de datos generada del estudio “Validación clínica de RCSMS: una prueba CRISPR-Cas12a rápida y sensible para la detección molecular de SARS-CoV-2 en saliva” (SIDISI: 202099), el cual se desarrolló entre enero y febrero del 2021 (45).

Descripción breve del estudio SIDISI-202099:

La Universidad Peruana Cayetano Heredia en colaboración con entidades privadas y públicas ejecutó un proyecto de adaptación tecnológica, para la implementación de una prueba diagnóstica rápida y de bajo costo, a partir de muestras de saliva. Para la validación de la misma se cumplieron con estrictos estándares, validación analítica y clínica.

Criterios de inclusión / exclusión del estudio SIDISI-202099

En el marco de la validación clínica se reclutaron más de 351 pacientes ambulatorios de los hospitales de Lima, Edgardo Rebagliati Martins y Guillermo Almenara, durante los meses de enero y febrero del 2021. Se consideraron pacientes con sintomatología asociada a COVID (Irritación de garganta, fiebre (temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$), cefalea, anosmia, congestión, malestar, diarrea, disgeusia u otros síntomas), los mismos que no debieron recibir ninguna dosis de vacunación hasta ese momento. Fueron excluidos pacientes con xerostomía, tratamiento con anti parkinsonianos, antipsicóticos, neurolépticos y pacientes con más de tres semanas de enfermedad desde el inicio de los síntomas. Adicionalmente, se excluyeron mujeres embarazadas.

Pruebas de SARS-CoV-2

Las muestras de hisopado nasofaríngeo fueron procesadas mediante RT-qPCR. Esta prueba fue ejecutada en el laboratorio molecular del Hospital Nacional Guillermo Almenara con el kit de PCR en tiempo real de IVD (CerTest Biotec)(50), mismo que amplifica las secuencias virales de los genes Orf1ab y N, en el termociclador de tiempo real Rotor-Gene de Qiagen(51).

El umbral Ct, que permiten el diagnóstico para SARS-CoV-2, se estableció de acuerdo a las indicaciones del fabricante y normas de la OMS(50).

Población del estudio:

Criterios de inclusión y exclusión

Todos los pacientes que fueron enrolados en el estudio SIDISI-202099 se consideraron en el presente estudio, salvo un menor de edad (8años). Resultando un total de 350 participantes.

Para calcular si la población de estudio es capaz de detectar el grado de asociación, se determinó la potencia estadística del tamaño de la muestra; para eso se empleó el software: *Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health* (Figura N°3) bajo distintos supuestos. Los parámetros utilizados para el cálculo fueron: expuestos (frecuencia de pacientes con síntomas), no-expuestos (frecuencia paciente sin síntoma), prevalencia de positividad en expuestos (porcentaje de positividad a SARS-CoV-2 en aquellos con síntoma presente) y prevalencia de positividad en no-expuestos (porcentaje de pacientes positivos a SARS-CoV-2 en aquellos sin síntoma presente). Estos valores fueron tomados de una investigación de similar naturaleza ejecutada en Estados Unidos entre mayo y septiembre del 2020(52).

Se plantearon cuatro escenarios distintos utilizando la frecuencia de sintomatología más bajo y la más alta reportada, así como la prevalencia de positividad más bajo y más alta en expuestos.

Se concluye que la potencia estadística de la muestra sería adecuada, siempre y cuando la prevalencia de positividad sea cercana a 30% y el riesgo relativo sea mayor a 2 (Tabla N°2).

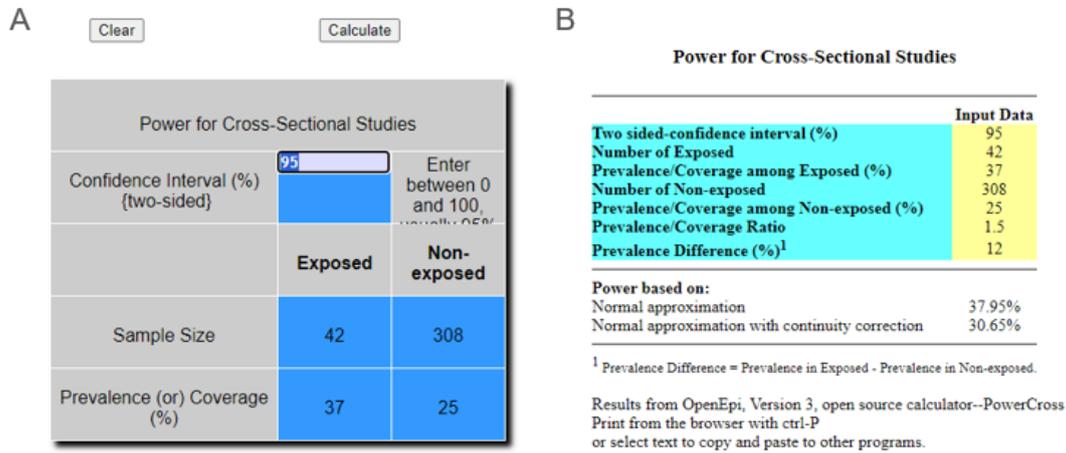


Figura N°3: Herramienta en Línea Power for cross-sectional studies. A: Tabla para introducir los datos. B. Tabla de resultados, de nuestro interés son el porcentaje de aproximación normal tabla N°2 y en el análisis posthoc.

Tabla N°2: Cálculo de la potencia estadística

Escenarios	Porcentaje de expuestos	Total expuestos (presencia de síntoma)	Total no expuestos (sin síntoma)	Prevalencia positividad en expuestos	Riesgo relativo	Potencia
Síntoma menos frecuente	12	42	308	12%	1.5	13.8
					2	30.7
					3	61.11
				37%	1.5	37.95
					2	79.51
					3	98.82
Síntoma más frecuente	55	193	157	15%	1.5	17.85
					2	39.72
					3	71.76
				37%	1.5	44.01
					2	82.9
					3	99.05

Cálculo de la potencia estadística de la muestra con el software Línea Power for cross-sectional studies.

Definición de variables

Las variables de estudio fueron analizadas y divididas en diferentes apartados, incluyendo variables epidemiológicas (Grupo etario, periodo de enfermedad) y variables clínicas (categoría de síntomas y número de síntomas) (*Tabla N°3*).

Tabla N°3: Definición de las variables de estudio.

Variable	Definición Operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Forma de Registro
<i>Resultado de RT-qPCR</i>	Detectar la presencia o ausencia del virus SARS-CoV-2 en los pacientes.	Cualitativa Dicotómica (Dependiente)	Nominal	Positivo:1 /Negativo: 0
<i>Edad</i>	Edad del individuo.	Cuantitativa Discreta (Independiente)	Continua	En años
<i>Grupo etario</i>	Edad del individuo, agrupada en tres categorías: 18-30 años, 31-60años y <61 años.	Categoría (Independiente)	Nominal	18-30 años:0 31-60años:1 >=61 años:2
<i>Sexo</i>	Sexo del individuo.	Cualitativa Dicotómica (Independiente)	Nominal	Masculino: 1 / Femenino: 0
<i>Fiebre</i>	Sintomatología del individuo al momento de la toma de muestra para descarte por COVID-19.	Cualitativa Dicotómica (Independiente de interés)	Nominal	Sí: 1 / No: 0
<i>Cefalea</i>				
<i>Anosmia</i>				
<i>Congestión</i>				
<i>Malestar</i>				
<i>Diarrea</i>				
<i>Irritación de garganta</i>				

Irritación del tracto respiratorio: Irt	Agrupación de la sintomatología del individuo. Número de días desde el inicio de algún síntoma.	Cualitativa (Independiente de interés)	Nominal Discreta	Sí: 1 / No: 0
Gastrointestinal: Gtl				
Disminución de gusto y/o olfato: Dgo				
Sistémico: St				
<i>Tiempo de enfermedad</i>	Tiempo desde el inicio de alguno de los síntomas encuestados.	Cuantitativa Continua (Independiente)	Continua	En días
<i>Periodo de enfermedad</i>	3 Periodos, en intervalos de 5 días cada uno, desde el inicio de algún síntoma.	Categoría (Independiente)	Nominal	≤5 días: 0
				6-10 días:1
				11-15 días:2
Un síntoma (n*=1)	Los síntomas fueron agrupados, según el número de síntomas	Categoría (Independiente)	Nominal	Sí: 1 / No: 0
Más de un síntoma (n*=2-7)				
Todos los síntomas (n*=8)				
Síntomas no evaluados (n*=0)				

Siendo n*: suma de síntomas reportado por paciente

Análisis estadístico

Utilizamos el paquete STATA 16.0 (53) y GraphPad Prism 8.4.3 (San Diego, CA) para el análisis estadístico de la data.

Para el análisis descriptivo de las variables numéricas se evaluó la normalidad utilizando Shapiro-Wilk, y se calculó la mediana y rango intercuartil para las variables numéricas con distribución no-normal. Para las variables categóricas se estimaron las frecuencias absolutas y relativas.

A fin de realizar el análisis de datos aplicamos U de Mann Whitney para las variables numéricas con distribución no-normal. Para las variables categóricas se

utilizó la prueba de Chi-cuadrado después de evaluar el supuesto de frecuencias esperadas.

Estimamos la asociación entre cada síntoma y la positividad del SARS-CoV-2 por RT-qPCR calculando las razones de prevalencia, con (PRa) y sin ajuste (PR), usando la distribución de Poisson con función logarítmica y estimación robusta de los errores estándares. Se usó la distribución de la familia Poisson en lugar de la binomial debido a problemas de convergencia.

La distribución de Poisson con función logarítmica fue ajustada por sexo, grupo etario y periodo de enfermedad. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Aspectos éticos

Este proyecto se presentó a la facultad y al comité de ética para su posterior aprobación y/o exoneración según lo establecido, al ser este un estudio retrospectivo que utiliza la información de un proyecto previamente aprobado.

Los participantes del proyecto SIDISI-202099, fueron inscritos y muestreados bajo el protocolo de ética aprobado por CEI de INCOR EsSalud (certificado n° 02/2021-CEI) y UPCH (SIDISI 202099). Todos los pacientes vinculados al estudio recibieron un consentimiento informado antes de la recolección de sus muestras, luego se les asignó un código para guardar la confidencialidad, de acuerdo a lo establecido en el manual de ética en la participación de humanos de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Este estudio no utilizó información identificadora de los participantes.

Resultados

Características demográficas de la población de estudio y tendencias

Las características demográficas de la población se resumen en la *Tabla N°4*. El 56.3% de la población de estudio eran mujeres, la mediana de edad fue de 47 años (rango intercuartil 21-83), y el grupo etario de 31-60 años representa el 67.1. % de la población de estudio. La mediana del tiempo de la enfermedad fue de cuatro días (rango intercuartil 1-14) y el 65.7% se encontraban dentro de los primeros cinco días de síntomas al momento de la toma de muestra.

La frecuencia de positividad para SARS-CoV-2 fue de 39.4% (138/350) por la prueba RT-qPCR.

Prevalencia de síntomas

Primero, analizamos la frecuencia y cantidad de síntomas reportados. Los síntomas informados con mayor frecuencia fueron Irritación de garganta (62.9%), seguido de cefalea (46.9%) y malestar (41.1%). Mientras que los síntomas menos reportados fueron disgeusia (10.6%) y anosmia (11.7%) (*Tabla N°4*).

Al comparar las categorías de síntomas, encontramos que Irritación del tracto respiratorio fue reportado con mayor frecuencia (71.4%), mientras que Disminución de gusto y/o olfato fue la categoría de síntomas menos frecuente (13.4%).

Las mujeres presentaron con mayor frecuencia irritación de garganta y cefalea, mientras que los hombres reportaron irritación de garganta y malestar como sus síntomas más frecuentes. Por otro lado, las personas con más de 60 años reportaron irritación de garganta y fiebre como los síntomas más comunes.

Tabla N°4: Características epidemiológicas y clínicas de la población de estudio según el resultado de la prueba RT-qPCR (positivos y negativos).

Variable	Total (N=350)	Diagnóstico negativo por RT-qPCR (n=212)	Diagnóstico positivo por RT-qPCR (n=138)	p
Sexo				<0.001
<i>Masculino</i>	153 (43.7%)	72 (34.0%)	81 (58.7%)	
<i>Femenino</i>	197 (56.3%)	140 (66.0%)	57 (41.3%)	
Edad	<i>Mediana:47 años, (Rango Intercuartil 21-83)</i>	<i>Mediana:44 años, (Rango Intercuartil 42.50-45.89)</i>	<i>Mediana:49.5 años, (Rango Intercuartil 47.78-53.11)</i>	<0.001
Grupo etario				
<i>18-30</i>	48 (13.7%)	33 (15.6%)	15 (10.9%)	
<i>31-60</i>	235 (67.2%)	157 (74.1%)	78 (56.5%)	
<i>61+</i>	67 (19.1%)	22 (10.4%)	45 (32.6%)	
Tiempo de enfermedad	<i>Mediana: 4 días, (Rango Intercuartil 1-14)</i>	<i>Mediana:3 días, (Rango Intercuartil 3.28-3.86)</i>	<i>Mediana:7 días, (Rango Intercuartil 6.2-7.4)</i>	<0.001
Periodo de enfermedad				<0.001
<i><=5</i>	230 (65.71%)	174 (82.08%)	56(40.58%)	
<i>>5</i>	120 (34.29%)	38(17.92%)	82(59.42%)	
Síntomas				
<i>Fiebre</i>	138 (39.4%)	43 (20.28%)	95 (68.8%)	<0.001
<i>Irritación de garganta</i>	220 (62.9%)	144 (67.9%)	76 (55.1%)	0.015
<i>Congestión</i>	84 (24%)	38 (17.9%)	46 (33.3%)	0.001
<i>Cefalea</i>	164 (46.9%)	80 (37.7%)	84 (60.9%)	<0.001
<i>Malestar</i>	144 (41.1%)	55 (25.9%)	89 (64.5%)	<0.001
<i>Anosmia</i>	41 (11,7%)	5 (2.4%)	36 (26.1%)	<0.001
<i>Disgeusia</i>	37 (10.6%)	2 (0.9%)	35 (25.4%)	<0.001
<i>Diarrea</i>	78 (22.3%)	31 (14.6%)	47 (34.1%)	<0.001
Número de síntomas				<0.001
<i>un síntoma</i>	121 (34.6%)	104 (49.1%)	17 (12.3%)	
<i>Más de un síntoma</i>	218 (62.3%)	102 (48.1%)	116 (84.1%)	

<i>todos los síntomas</i>	5 (1.4%)	0	5 (3.6%)	
<i>Síntomas no evaluados</i>	6 (1.7%)	6 (2.8%)	0	
<i>Categoría de síntomas</i>				
<i>Gastrointestinales</i>	78 (22.3%)	31 (15.1%)	47 (34.1%)	<0.001
<i>Irritación del tracto respiratorio</i>	250 (71.4%)	155 (75.2%)	95 (68.8%)	0.387
<i>Alteración del gusto y/o el olfato</i>	47 (13.4%)	5 (2.4%)	42 (30.4%)	<0.001
<i>Sistémicos</i>	244 (69.7%)	117 (56.8%)	127 (92.0%)	<0.001
<i>Otros síntomas</i>	6 (1.7%)	6 (2.8%)	0	0.046

Se calculó mediana y rango intercuartil para las variables numéricas. Las variables categóricas fueron evaluadas por Chi-cuadrado

Características de pacientes positivos

A continuación, analizamos la frecuencia de los síntomas informados por personas con infección confirmada por SARS-CoV-2 en comparación con personas con pruebas negativas. Se observaron diferencias significativas en las características demográficas entre los pacientes que tuvieron resultado positivo y los que tuvieron resultado negativo. En ese sentido, los pacientes positivos fueron en mayoría varones adultos (Tabla N°4), mientras que en los negativos, ser mujer fue más prevalente. Así mismo, el análisis de porcentaje de positividad a SARS-CoV-2 estratificado por sexo, mostró que 52.9% de varones fueron positivos, mientras que 28.9% de mujeres fueron positivas.

Los pacientes positivos a SARS-CoV-2 reportaron con mayor frecuencia más de un síntoma, cifra cuatro veces mayor que los que reportaron un síntoma (84.1% vs. 12.3%) (Tabla N°4). Mientras que, el 100% de todos los pacientes que habían reportado todos los síntomas dieron positivos a SARS-CoV-2.

Comparación de síntomas

El síntoma más frecuente entre los pacientes que resultaron positivos para SARS-CoV-2 fue fiebre (68.8%) y el más frecuente entre aquellos con resultado negativo fue irritación de garganta (67.9%) (Tabla N°4). Luego del análisis de porcentaje

de positividad a SARS-CoV-2 estratificado por síntomas, se identificó que el 94.6% de los pacientes que registraron disgeusia fueron positivos y el 87.8% de pacientes con anosmia fueron positivos.

La frecuencia de síntomas sistémicos fue mayor en el grupo de pacientes positivos (92%). Por otro lado, la irritación del tracto respiratorio tuvo mayor frecuencia en el grupo de pacientes negativos (75.2%) (Tabla N°4). Al analizar el porcentaje de positividad a SARS-CoV-2 estratificado por categorías de síntomas encontramos que 89.4% de los pacientes con disminución de gusto y/o olfato fueron positivos a SARS-CoV-2,

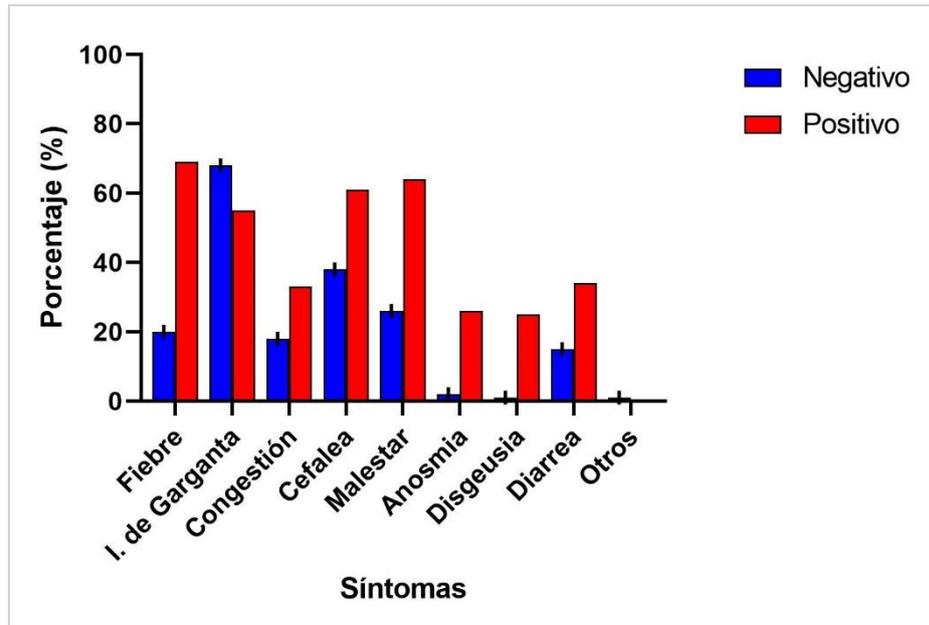


Figura N°4: Frecuencia de síntoma según resultado RT-qPCR para SARS-CoV-2.
 Porcentaje de pacientes (positivos/ negativos) con al menos algún síntoma de SARS-CoV-2.
 Rojo: Positivo a SARS-CoV-2, Azul: negativo a SARS-CoV-2.

Todos los síntomas evaluados, excepto irritación de garganta, se asociaron a positividad, siendo fiebre (PR: 3.39, IC: 2.54 – 4.53), disgeusia (PR: 2.87, IC: 2.41 – 3.43) y anosmia (PR: 2.66, IC: 2.19 – 3.23) los síntomas individuales con mayor grado de asociación y con un diagnóstico positivo. Esta asociación se mantuvo, en su mayoría, luego de ajustar por edad, sexo, grupo etario y tiempo de enfermedad, encontrando que fiebre (PRa: 2.54, IC: 1.88- 3.44), malestar (PRa:

2.03, IC: 1.55- 2.67) y disgeusia (PRa: 1.78, IC: 1.44- 2.21) (Tabla N°5) (Figura 4).

Así, la mayoría de categorías de síntomas evaluadas, se asociaron a positividad, excepto irritación del tracto respiratorio. Los síntomas sistémicos (PR: 5.02, IC: 2.83 – 8.9) y Disminución de gusto y/o olfato (PR: 2.82, IC: 2.33 – 3.42) fueron las categorías de síntomas, sin ajuste, con un mayor grado de asociación y con un diagnóstico positivo. Al igual que con los síntomas, el grado de asociación de las categorías de síntomas se mantuvo luego del ajuste de covariables, mostrando que la presencia de síntomas sistémicos tuvo la mayor asociación con un resultado de PCR positivo (PRa: 3.95, IC: 2.23 – 6.99), seguido de síntomas de disminución de gusto y/o olfato (PRa: 1.87, IC: 1.51 – 2.32 (Tabla N°5) (Figura 5).

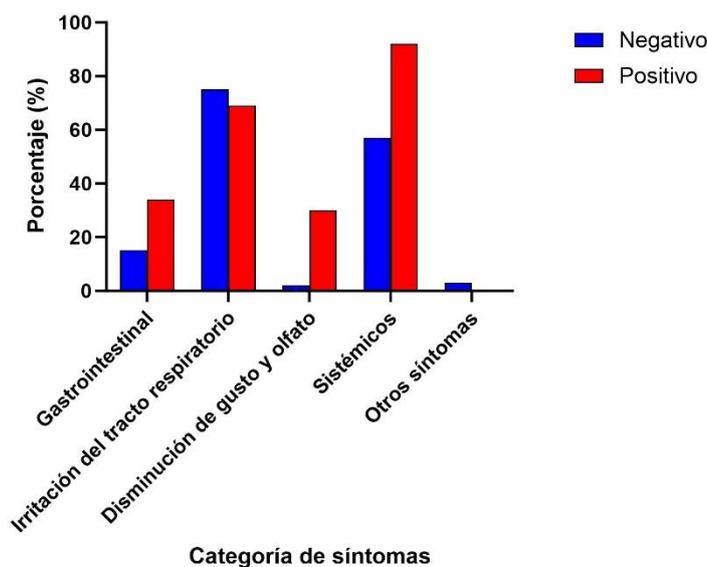


Figura N°5: Frecuencia de categoría de síntomas según resultado RT-qPCR para SARS-CoV-2. Porcentaje de pacientes (positivos/ negativos) con al menos algún síntoma de SARS-CoV-2. Rojo: Positivo a SARS-CoV-2, Azul: negativo a SARS-CoV-2. *Otros síntomas: pacientes que indicaron síntomas diferentes a los considerados en la encuesta.

Tabla N°5: Razón de prevalencia de los síntomas antes de la toma de prueba de SARS-CoV-2 por RT-qPCR

PR: razón de prevalencia. PRa: razón de prevalencia ajustado por sexo, grupo etario y periodo de enfermedad. PR fue calculado por distribución de Poisson con función logarítmica y estimación robusta de los errores estándares. IC: 95%.

Síntomas	PR	IC 95%		p	PRa	IC95%		p
Síntomas individuales								
<i>Fiebre</i>	3.39	2.54	4.54	<0.001	2.54	1.88	3.44	<0.001
<i>Irritación de garganta</i>	0.72	0.56	0.94	0.014	0.89	0.7	1.12	0.328
<i>Congestión</i>	1.58	1.23	2.04	<0.001	1.28	1.01	1.63	0.039
<i>Cefalea</i>	1.76	1.35	2.31	<0.001	1.76	1.39	2.45	<0.001
<i>Malestar</i>	2.6	1.97	3.43	<0.001	2.03	1.55	2.67	<0.001
<i>Anosmia</i>	2.66	2.19	3.24	<0.001	1.74	1.4	2.16	<0.001
<i>Disgeusia</i>	2.87	2.41	3.43	<0.001	1.78	1.44	2.21	<0.001
<i>Diarrea</i>	1.8	1.41	2.3	<0.001	1.41	1.12	1.77	0.003
Categoría de síntomas								
<i>Gastrointestinal</i>	1.8	1.41	2.3	<0.001	1.41	1.12	1.77	0.003
<i>I. tracto respiratorio</i>	0.88	0.67	1.16	0.38	0.95	0.74	1.21	0.67
<i>Disminución de gusto y olfato</i>	2.82	2.33	3.42	<0.001	1.87	1.51	2.32	<0.001
<i>Sistémicos</i>	5.02	2.83	8.9	<0.001	3.95	2.23	6.99	<0.001

Tabla N°6: Análisis *post hoc* de la potencia estadística del estudio

Escenarios	Porcentaje de expuestos	Expuesto (Con síntoma)	No expuesto (sin síntoma)	Prevalencia exp (RT-qPCR positivo)	Riesgo relativo	Potencia
<i>Fiebre</i>	39	138	212	68.8	3.39	100
<i>Irritación de garganta</i>	63	220	130	34.5	0.72	70.7
<i>Congestión</i>	24	84	266	54.8	1.58	91.14
<i>Cefalea</i>	47	164	186	51.2	1.76	98.99
<i>Malestar</i>	41	144	206	61.8	2.6	100
<i>Anosmia</i>	12	41	309	87.8	2.66	100
<i>Disgeusia</i>	11	37	313	94.6	2.87	100
<i>Diarrea</i>	22	78	272	60.3	1.8	99.11

Cálculo realizado con la calculadora en línea Power for Cross-sectional studies- OpenEpi

El tamaño de nuestra población tiene la suficiente potencia estadística para realizar los análisis, a excepción de Irritación de garganta cuya potencia estuvo por debajo del 80% (Tabla N°6).

Discusión

En esta investigación se evaluó el grado de asociación entre la sintomatología reportada durante la toma de muestra para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 y la positividad de RT-qPCR en dos de los principales Hospitales de Lima metropolitana. Se encontró que el porcentaje de pacientes positivos fue 39.4%, cifra esperada si consideramos el contexto epidemiológico de inicios de una segunda ola de la pandemia de COVID-19. Estos valores se asemejan mucho a los porcentajes de casos positivos en la región de América Latina, como Brasil (43%) y Chile (35.6%)(54).

Para el SARS-CoV-2, los varones adultos mayores presentaron mayor frecuencia de positividad. Posiblemente esto refleje el mayor riesgo que tienen los pacientes varones y adultos mayores a contagiarse y desarrollar una mayor severidad en la presentación clínica, lo cual parece estar relacionado a una predisposición genética y algunos factores sociales(55,56).

En relación al periodo de enfermedad se observó que más de la mitad de los pacientes positivos presentaron más de cinco días de síntomas. Sin embargo, este patrón no es

común, pues en teoría dentro de los cinco primeros días la prueba de RT-qPCR tiene una mayor sensibilidad, y pasando este periodo su sensibilidad decae, tal y como se reporta en estudios realizados en distintas provincias de China durante el las dos primeras olas de pandemia (57–60). Es probable que los pacientes que han tenido más de cinco días con síntomas y sin ninguna mejora aparente, puedan presentar mayor riesgo de desarrollar un cuadro clínico severo, de ahí que recién acudan al establecimiento de salud luego de cinco días.

Los síntomas más frecuentemente encontrados fueron fiebre, malestar e irritación de garganta y el menos frecuente fue disgeusia y anosmia. De manera similar en estudios de Brasil (61) y Estados Unidos (29) los más frecuentes fueron fiebre, malestar e irritación de garganta, y los menos frecuentes la alteración total o parcial del sentido del gusto y olfato (29,62). En el estudio observacional de tipo transversal del ministerio de salud de Brasil, de los 17 síntomas evaluados durante el primer año de pandemia (2020), los reportados con mayor frecuencia fueron tos (82.9%), fiebre (77.9%) y disnea (77.7%) (61). Sin embargo, los síntomas con mayor grado de asociación fueron Mialgia, pérdida del olfato y gusto (61).

Por otro lado, pese a que disgeusia y anosmia no fueron síntomas comunes, estos se encontraron fuertemente asociados con el diagnóstico del SARS-CoV-2. Los hallazgos mencionados son consistentes y se asemejan a los resultados de un estudio transversal ejecutado en Estados Unidos durante el primer año de pandemia, donde se evidenció una alteración total o parcial en los sentidos del gusto y olfato en pacientes positivos a SARS-CoV-2 (RR: 3.73) (29). Por otro lado, en algunas provincias de Italia durante el primer trimestre del 2021 se registró una frecuencia alta de pérdida de gusto y olfato en pacientes no-hospitalizados (81.3%) (63).

Estos hallazgos refuerzan la idea de considerar a estos síntomas (disgeusia y anosmia) como predictores de las primeras variantes, por su baja frecuencia, pero elevado nivel de asociación a un diagnóstico positivo.

En Estados Unidos entre mayo y septiembre del 2020, se buscó determinar los síntomas con mayor grado de asociación a un diagnóstico positivo a SARS-CoV-2, aquí se encontró que dolor de cabeza (54.6%), dolor de garganta (52.1%) y fatiga (44%), fueron

los síntomas reportados con mayor frecuencia. Sin embargo, los que presentaron mayor asociación fueron pérdida del olfato (RR:3.73), escalofríos (RR:2.29) y fiebre (2.10) (52), un patrón similar al de esta investigación(29).

En este estudio se encontró que los síntomas más frecuentes fueron fiebre, malestar e irritación de garganta. Fiebre no sólo presentó la razón de prevalencia más alta de todos los síntomas; además, se asoció con un diagnóstico positivo a SARS-CoV-2 (PR: 3.39). De manera similar en un estudio en Brasil desarrollado en el primer año de pandemia, fiebre estuvo entre los 4 síntomas más comunes asociados a un diagnóstico positivo a SARS-CoV-2 (PR: 1.45). Algunas investigaciones sobre la sintomatología en pacientes con un diagnóstico de SARS-CoV-2 positivo, hospitalizados en China, durante el primer año de pandemia respaldan este cuadro clínico, al reportar fiebre como síntoma más marcado, seguido de tos y disnea (64,65).

De acuerdo a los resultados obtenidos, los pacientes que presentaban más de un síntoma tuvieron una mayor prevalencia en comparación con los que reportaban sólo un síntoma. Adicionalmente, se encontró que tener únicamente irritación de garganta se asociaba a una menor probabilidad de ser positivo. Resultados similares se han reportado durante la primera ola en Egipto (66) y Dinamarca (67), y durante la segunda ola en Estados Unidos, con la circulación de la variante Delta. Sin embargo, la prevalencia de este síntoma ha variado considerablemente, pues se sabe que en la cuarta ola, con la circulación de Omicrón, tos, dolor de garganta, disnea y fatiga fueron síntomas dominantes; mientras que la prevalencia de disgeusia y anosmia disminuyó notablemente (68).

Nuestro estudio muestra que tener síntomas como fiebre, malestar general, disgeusia y anosmia, así como las categorías de síntomas sistémicos y con Disminución de gusto y/o olfato podría haberse utilizado como predictores de un diagnóstico positivo a SARS-CoV-2 durante la segunda ola en Perú. Estos resultados coinciden con las investigaciones realizadas a finales de la primera ola en Estados Unidos (29), inicios de la segunda ola en Brasil (62) y durante la segunda ola en Inglaterra (34).

Existen algunas limitaciones entorno a esta investigación que deben tenerse en cuenta al interpretar estos hallazgos:

1. El número de registros de participantes es limitado, tras la aplicación de los criterios de inclusión/ exclusión, se contabilizaron 350 participantes. De acuerdo a la investigación realizada por Macfarlane, el tamaño óptimo de una muestra poblacional depende de la naturaleza del objetivo primario (69). Así para la investigación inicial, SIDISI-202099 fue suficiente 351 pacientes para su validación clínica; al tratarse un estudio secundario de dicha base, hemos calculado el poder de la muestra poblacional luego de aplicar los criterios de inclusión / exclusión, esto es entre 85%-90% %, siempre que exista un margen de 15% entre los grupos que se están comparando.
2. La capacidad predictiva de los ocho síntomas podría ser limitada. Se sabe que para este tipo de investigaciones es mucho más eficiente trabajar con un grupo más amplio de síntomas (29). Sin embargo, solo un pequeño porcentaje de nuestra población de estudio reportó “otros síntomas” como adicionales.
3. Se sabe que las manifestaciones clínicas han variado conforme el virus ha mutado y se han generado nuevas variantes. Estos datos fueron registrados durante la segunda ola de pandemia, por lo que los resultados son aplicables a la variante que circulaba durante esa ola, pero no podemos asegurar que pueda ser aplicable a las que surgieron posteriormente.

Nuestro estudio tiene varias fortalezas. Se sabe que en ese momento gran parte de las investigaciones sobre la sintomatología se basaban en pacientes hospitalizados, por lo que esta información amplía el espectro clínico en personas infectadas en el entorno comunitario en el Perú. Por otro lado, hubo una identificación directa mediante un registro documentado y debidamente codificado de una prueba RT-qPCR positiva, es decir que la evaluación no se basó en un diagnóstico autoinformado o pruebas menos sensibles como las pruebas rápidas de antígeno (62).

Hay varias aplicaciones prácticas potenciales en la identificación de síntomas y características clínicas asociadas con una prueba positiva de SARS-CoV-2, como la identificación de los síntomas y las características de los pacientes ambulatorios asociados con la infección por SARS-CoV-2 puede propiciar el desarrollo de herramientas de riesgo predictivo que podrían usarse al momento del triaje, con la finalidad de priorizar las pruebas a aquellos con más probabilidades de estar infectados, especialmente cuando la demanda de pruebas supera la oferta.

Ante un nuevo evento de emergencia se podría implementar tempranamente un estudio similar a este para proporcionar datos que puedan utilizarse para elaborar una guía de evaluación en las zonas de triaje.

Conclusiones

Nuestro estudio determinó que los síntomas con mayor razón de prevalencia fueron fiebre, malestar general, disgeusia y anosmia; ajustada en función a edad, sexo y tiempo de enfermedad.

El tiempo de enfermedad de los pacientes que acudieron para el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 que se reportó con mayor frecuencia fue de 4 días. Mientras que los pacientes positivos a SARS-CoV-2 reportaron con mayor frecuencia un tiempo de enfermedad mayor a 5 cinco días. Además fue más frecuente encontrar pacientes con más de un síntoma entre los positivos que en los negativos.

Un paciente con al menos un síntoma de la categoría Sistémicos o de la categoría Disminución de gusto y/o olfato tiene una mayor prevalencia de positividad a SARS-CoV-2 por RT-qPCR, en comparación con aquellos pacientes que reporten algún síntoma de la categoría Irritación del tracto respiratorio. Esto durante el marco de la segunda ola epidemiológica en nuestro país.

Referencias Bibliográficas

1. Organization WH. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [citado el 29 de julio de 2022]. Disponible en: <https://covid19.who.int/>
2. Sharjeel M, Hamid A, Bhat SU. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information. 2020;(January).
3. Haque SKM, Ashwaq O, Sarief A, Azad John Mohamed AK. A comprehensive review about SARS-CoV-2. *Future Virol.* 2020;15(9):625–48.
4. Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt H-R, Becker S, et al. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med.* 2003;348(20):1967–76.
5. Chibo D, Birch C. Analysis of human coronavirus 229E spike and nucleoprotein genes demonstrates genetic drift between chronologically distinct strains. *J Gen Virol.* 2006;87(5):1203–8.
6. Vijgen L, Keyaerts E, Lemey P, Moës E, Li S, Vandamme AM, et al. Circulation of genetically distinct contemporary human coronavirus OC43 strains. *Virology.* 2005;337(1):85–92.
7. Mohammad Farhan Qureshi, Hania Farhan, Shoeb Qureshi. Structure, mutations and variants of Coronavirus 2 (SARS-CoV): A brief report. *GSC Adv Res Rev.* 2022;10(3):001–6.
8. Lam-Cabanillas E, León-Risco A, León-Risco K, Llamas-Hoyos G, López-Zavaleta R, Luzuriaga-Tirado E, et al. Bases moleculares de la patogénesis de Covid-19 y estudios in silico de posibles tratamientos farmacológicos. *Rev la Fac Med Humana* [Internet]. el 15 de marzo de 2021 [citado el 29 de julio de 2022];21(2):417–32. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-

05312021000200417&lng=es&nrm=iso&tlng=es

9. Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, Connelly S, et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol* [Internet]. 2011;174(1):11–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>
10. Nyayanit DA, Yadav PD, Kharde R, Cherian S. Natural selection plays an important role in shaping the codon usage of structural genes of the viruses belonging to the coronaviridae family. Vol. 13, *Viruses*. 2021.
11. Li J, He X, Zhang W, Li X, Zhang Y, Li S, et al. Meta-analysis investigating the relationship between clinical features, outcomes, and severity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pneumonia. *Am j infect Control* [Internet]. 2020;(January). Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2020.06.008>
12. Koelle K, Martin MA, Antia R, Lopman B, Dean NE. The changing epidemiology of SARS-CoV-2. *Science* (80-) [Internet]. el 11 de marzo de 2022 [citado el 4 de agosto de 2022];375(6585):1116–21. Disponible en: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abm4915>
13. Harcourt BH, Jukneliene D, Kanjanahaluethai A, Bechill J, Severson KM, Smith CM, et al. Identification of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replicase Products and Characterization of Papain-Like Protease Activity. *J Virol*. 2004;78(24):13600–12.
14. Dhawan M, Priyanka, Choudhary OP. Omicron SARS-CoV-2 variant: Reasons of emergence and lessons learnt. *Int J Surg*. 2022;97(December 2021):2021–3.
15. Organization WH. Tracking SARS-CoV-2 variants [Internet]. [citado el 29 de julio de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
16. Deb P, Molla MMA, Saif-Ur-Rahman K, Das MC, Das D. A review of epidemiology, clinical features and disease course, transmission dynamics, and neutralization efficacy of SARS-CoV-2 variants. *Egypt J Bronchol* 2021 151 [Internet]. el 6 de noviembre de 2021 [citado el 29 de julio de 2022];15(1):1–14.

Disponible en: <https://ejb.springeropen.com/articles/10.1186/s43168-021-00090-x>

17. Saberiyan M, Karimi E, Khademi Z, Movahhed P, Safi A, Mehri-Ghahfarrokhi A. SARS-CoV-2: phenotype, genotype, and characterization of different variants. *Cell Mol Biol Lett* 2022 271 [Internet]. el 17 de junio de 2022 [citado el 30 de julio de 2022];27(1):1–19. Disponible en: <https://cmbl.biomedcentral.com/articles/10.1186/s11658-022-00352-6>
18. Zhou D, Dejnirattisai W, Supasa P, Liu C, Mentzer AJ, Ginn HM, et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell* [Internet]. el 29 de abril de 2021 [citado el 30 de julio de 2022];184(9):2348–2361.e6. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33730597/>
19. Duong D. Alpha, Beta, Delta, Gamma: What’s important to know about SARS-CoV-2 variants of concern? *CMAJ* [Internet]. el 12 de julio de 2021 [citado el 2 de agosto de 2022];193(27):E1059–60. Disponible en: <https://www.cmaj.ca/content/193/27/E1059>
20. Gonçalves BMM, Franco RP V., Rodrigues AS. Maternal mortality associated with COVID-19 in Brazil in 2020 and 2021: Comparison with non-pregnant women and men. *PLoS One* [Internet]. el 1 de diciembre de 2021 [citado el 2 de agosto de 2022];16(12). Disponible en: </pmc/articles/PMC8691656/>
21. He X, He C, Hong W, Zhang K, Wei X. The challenges of COVID-19 Delta variant: Prevention and vaccine development. *MedComm* [Internet]. diciembre de 2021 [citado el 30 de julio de 2022];2(4):846. Disponible en: </pmc/articles/PMC8661803/>
22. Starr TN, Greaney AJ, Dingens AS, Bloom JD. Complete map of SARS-CoV-2 RBD mutations that escape the monoclonal antibody LY-CoV555 and its cocktail with LY-CoV016. *Cell Reports Med* [Internet]. el 4 de abril de 2021 [citado el 2 de agosto de 2022];2(4):100255. Disponible en: </pmc/articles/PMC8020059/>
23. Gao SJ, Guo H, Luo G. Omicron variant (B.1.1.529) of SARS-CoV-2, a global urgent public health alert! *J Med Virol.* 2022;94(4):1255–6.
24. Ramanathan K, Antognini D, Combes A, Paden M, Zakhary B, Ogino M, et al.

- Breakthrough infections with SARS-CoV-2 omicron despite mRNA vaccine booster dose. 2020;(January):19–21.
25. Tiecco G, Storti S, Antoni MD, Focà E, Castelli F, Quiros-Roldan E. Omicron Genetic and Clinical Peculiarities That May Overturn SARS-CoV-2 Pandemic: A Literature Review. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. 2022.
 26. Karlinsky A, Kobak D. Tracking excess mortality across countries during the covid-19 pandemic with the world mortality dataset. *Elife*. 2021;10:1–21.
 27. COVID Live - Coronavirus Statistics - Worldometer [Internet]. [citado el 15 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
 28. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 4 May 2021 [Internet]. [citado el 15 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---4-may-2021>
 29. Wohl DA, Barzin AH, Napravnik S, Davy-Mendez T, Smedberg JR, Thompson CM, et al. COVID-19 symptoms at time of testing and association with positivity among outpatients tested for SARS-CoV-2. Vol. 16, PLoS ONE. 2021.
 30. Macedo MCF, Pinheiro IM, Carvalho CJL, Fraga HCJR, Araujo IPC, Montes SS, et al. Correlation between hospitalized patients' demographics, symptoms, comorbidities, and COVID-19 pandemic in Bahia, Brazil. *PLoS One*. 2020;15(12 December):1–15.
 31. Loza A, Wong-Chew RM, Jiménez-Corona ME, Zárate S, López S, Ciria R, et al. Two-year follow-up of the COVID-19 pandemic in Mexico. *Front Public Heal*. 2023;10.
 32. Schönfeld D, Arias S, Bossio JC, Fernández H, Gozal D, Pérez-Chada D. Clinical presentation and outcomes of the first patients with COVID-19 in Argentina: Results of 207079 cases from a national database. *PLoS One*. 2021;16(2 February):1–16.
 33. Yomayusa N, Rocío K, Acevedo C, Adriana K, Avila J, Keralty R, et al. Clinical course, biomarkers, management and outcomes of patients hospitalised due to

- COVID-19 in Colombia. el 26 de agosto de 2020 [citado el 16 de agosto de 2022]; Disponible en: <https://www.researchsquare.com>
34. Elliott J, Whitaker M, Bodinier B, Eales O, Riley S, Ward H, et al. Predictive symptoms for COVID-19 in the community: REACT-1 study of over 1 million people. Vol. 18, PLoS Medicine. 2021.
 35. Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, Ramos G de O, Scherer JN, Barcellos NT, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Heal - Am.* el 1 de febrero de 2022;6:100107.
 36. Risk factors for mortality in patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Bolivia: An analysis of the first 107 confirmed cases. [Internet]. [citado el 15 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://www.epistemonikos.org/es/documents/9406ce4ab602179a31e11f7379ea79957dcfda02>
 37. Ashktorab H, Pizuorno A, Oskroch G, Fierro NA, Sherif ZA, Brim H. COVID-19 in Latin America: Symptoms, Morbidities, and Gastrointestinal Manifestations. *Gastroenterology.* el 1 de febrero de 2021;160(3):938–40.
 38. Pizuorno A, Fierro NA, Copado-Villagrana ED, Herrera-Solís ME, Oskrochi G, Brim H, et al. COVID-19 and gastrointestinal symptoms in Mexico, a systematic review: does location matter? *BMC Infect Dis* [Internet]. el 1 de diciembre de 2021 [citado el 15 de agosto de 2022];21(1):1–8. Disponible en: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-021-06252-y>
 39. Acosta G, Escobar G, Bernaola G, Alfaro J, Taype W, Marcos C, et al. Caracterización de pacientes con COVID-19 grave atendidos en un hospital de referencia nacional del Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2020 [citado el 5 de agosto de 2022];37(2):253–8. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342020000200253&lng=es&nrm=iso&tlng=en
 40. Gutiérrez-Tudela JW. La pandemia de la COVID-19 en el Perú: análisis epidemiológico de la primera ola. *Rev la Soc Peru Med Interna.* 2021;34(2):51–2.

41. Gutiérrez-Tudela JW. La pandemia de la COVID-19 en el Perú: análisis epidemiológico de la segunda ola. *Rev la Soc Peru Med Interna*. 2021;34(4):129.
42. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [citado el 13 de abril de 2023]. Disponible en: <https://covid19.who.int/>
43. MINSA. Boletín Epidemiológico del Perú 2021 /30 enero-06 febrero. Vol 30-SE 05 Sem Epidemiológica [Internet]. 2021;1(69):5–24. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/epipublic/uploads/boletin/boletin_20215.pdf
44. Vista de La tercera ola en el Perú | Revista Peruana de Investigación en Salud [Internet]. [citado el 5 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/repis/article/view/1341/1321>
45. Joaquín Abugattás Núñez del Prado¹, Angélica Quintana Reyes¹ JBLT, Renzo Gutiérrez Loli¹, Alejandro Pinzón Olejua², Elena Rocío Chamorro Chirinos³ F, Antonio Loza Mauricio⁴, Jorge L. Maguiña⁵, Julio Leon⁶ PRA y E, Trillo^{1*} M. Clinical validation of RCSMS: a rapid and sensitive CRISPR-Cas12a test for the molecular detection of SARS-CoV-2 from saliva. *medRxiv*. 2021;1(165):1–13.
46. Mayuramart O, Nimsamer P, Rattanaburi S, Chantaravisoot N, Khongnomnan K, Chansaenroj J, et al. Detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and influenza viruses based on CRISPR-Cas12a. *Exp Biol Med (Maywood)* [Internet]. el 1 de febrero de 2021 [citado el 22 de noviembre de 2021];246(4):400–5. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33153299/>
47. Schwalb A, Armyra E, Méndez-Aranda M, Ugarte-Gil C. COVID-19 in Latin America and the Caribbean: Two years of the pandemic. *J Intern Med*. 2022;292(3):409–27.
48. Department HW, (WHO) WHO. The impact of COVID-19 on health and care workers: a closer look at deaths. 2021;(September).
49. Garcia PJ, Alarcón A, Bayer A, Buss P, Guerra G, Ribeiro H, et al. COVID-19 Response in Latin America. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;103(5):1765–72.
50. Inicio - Certest Biotec - Raw Materials | Diagnostics | Pharma [Internet]. [citado el

- 27 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.certest.es/es/>
51. Rotor-Gene Q [Internet]. [citado el 27 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.qiagen.com/es-us/products/discovery-and-translational-research/epigenetics/dna-methylation/methylation-specific-pcr/rotor-gene-q>
 52. Wohl DA, Barzin AH, Napravnik S, Davy-Mendez T, Smedberg JR, Thompson CM, et al. COVID-19 symptoms at time of testing and association with positivity among outpatients tested for SARS-CoV-2. *PLoS One* [Internet]. 2021;16(12 December):1–13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0260879>
 53. Free updates to Stata 16 | Stata News [Internet]. [citado el 27 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.stata.com/stata-news/news35-1/updates-to-stata16/>
 54. Coronavirus (COVID-19) Cases - Our World in Data [Internet]. [citado el 13 de abril de 2023]. Disponible en: <https://ourworldindata.org/covid-cases>
 55. Chaturvedi R, Lui B, Aaronson JA, White RS, Samuels JD. COVID-19 complications in males and females: recent developments. *J Comp Eff Res*. 2022;11(9):689–98.
 56. Samuel RM, Majd H, Richter MN, Ghazizadeh Z, Zekavat SM, Navickas A, et al. Androgen Signaling Regulates SARS-CoV-2 Receptor Levels and Is Associated with Severe COVID-19 Symptoms in Men. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2020;27(6):876-889.e12. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.11.009>
 57. Barber RM, Sorensen RJD, Pigott DM, Bisignano C, Carter A, Amlag JO, et al. Estimating global, regional, and national daily and cumulative infections with SARS-CoV-2 through Nov 14, 2021: a statistical analysis. *Lancet* (London, England) [Internet]. junio de 2022 [citado el 5 de agosto de 2022];399(10344):2351–80. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35405084/>
 58. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1199–207.

59. Natalie Linton, Tetsuro Kobayashi, Yichi Yang KH. Incubation period and other epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus infections with right truncation: a statical analysis of publicly available case data.
60. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (CoVID-19) from publicly reported confirmed cases: Estimation and application. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):577–82.
61. Sansone NMS, Boschiero MN, Ortega MM, Ribeiro IA, Peixoto AO, Mendes RT, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome by SARS-CoV-2 Infection or Other Etiologic Agents Among Brazilian Indigenous Population: An Observational Study from the First Year of Coronavirus Disease (COVID)-19 Pandemic. *Lancet Reg Heal - Am.* 2022;8.
62. da Silva AAM, Lima-Neto LG, de Maria Pedrozo e Silva C, da Costa LMM, Brgança MLBM, Fiho AKDB, et al. Population-based seroprevalence of SARS-CoV-2 and the herd immunity threshold in Maranhão. *Rev Saude Publica.* 2020;54:1–14.
63. Bianco MR, Modica DM, Drago GD, Azzolina A, Mattina G, De Natale M, et al. Alteration of Smell and Taste in Asymptomatic and Symptomatic COVID-19 Patients in Sicily, Italy. *Ear, Nose Throat J.* 2021;100(2_suppl):182S-185S.
64. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med.* 2020;35(5):1545–9.
65. Li L quan, Huang T, Wang Y qing, Wang Z ping, Liang Y, Huang T bi, et al. COVID-19 patients' clinical characteristics, discharge rate, and fatality rate of meta-analysis. *J Med Virol.* 2020;92(6):577–83.
66. El-Anwar MW, Eesa M, Mansour W, Zake LG, Hendawy E. Analysis of ear, nose and throat manifestations in COVID-19 patients. *Int Arch Otorhinolaryngol.* 2021;25(3):E343–8.
67. Nielsen KJ, Vestergaard JM, Schlünssen V, Bonde JP, Kaspersen KA, Biering K, et al. Day-by-day symptoms following positive and negative PCR tests for SARS-

- CoV-2 in non-hospitalized healthcare workers: A 90-day follow-up study. *Int J Infect Dis.* 2021;108(January):382–90.
68. Akaishi T, Kushimoto S, Katori Y, Sugawara N, Egusa H, Igarashi K, et al. COVID-19-Related Symptoms during the SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) Variant Surge in Japan. *Tohoku J Exp Med* [Internet]. 2022;258(2):2022.J067. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/258/2/258_2022.J067/_article
69. Macfarlane S bj. Conducting a descriptive survey: 2. choosing a sampling strategy. *Trop Doct.* 1997;27(1):14–21.