



PERÚ

Sector Salud

Instituto Nacional de
Enfermedades Neoplásicas



“DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES”
“AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD”

EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍA SANITARIA

REVISIÓN RÁPIDA N°06-2020

MONITOREO LINFOCITARIO POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES CON COVID- 19

Lima, 14 setiembre de 2020

Jefatura Institucional - INEN

Unidad funcional de Evaluación de Tecnologías Sanitarias - UFETS





PERÚ

Sector Salud

Instituto Nacional de
Enfermedades Neoplásicas



“DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES”
“AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD”

Directorio:

Eduardo Payet
Jefe del Instituto Nacional de Salud

Karina Aliaga
Responsable de la Unidad Funcional de Evaluación de Tecnologías Sanitarias

Equipo Técnico:

Fradis Gil-Olivares

Fuente de financiación:

Unidad Funcional de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, en el marco del Plan Operativo Institucional del Pliego del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

Conflicto de intereses:

Los participantes en la elaboración de este documento declaran, que no existe ningún conflicto de interés invalidante de tipo financiero, intelectual, de pertenencia o familiar que afecte el desarrollo de la evaluación de la tecnología.

Citación:

Este documento deberá citarse de la siguiente manera:

UFETS-INEN. Evaluación de tecnología sanitaria revisión rápida N° 06-2020. Monitoreo linfocitario por Citometría de Flujo en pacientes con COVID-19; Lima, Setiembre de 2020.

Correspondencia:

Para enviar sus comentarios sobre esta evaluación, escriba a:

Unidad Funcional de Evaluación de Tecnologías Sanitarias UFETS
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas
Av. Angamos Este 2520, Surquillo
15038.
Lima, Perú
<http://www.inen.sld.pe>
mesadepartevirtualufets@inen.sld.pe





INDICE

Directorio:.....	1
Equipo Técnico:.....	1
Fuente de financiación:	1
Conflicto de intereses:	1
Citación:	1
Correspondencia:.....	1
I. ANTECEDENTES.....	3
II. DATOS DE LA SOLICITUD	3
III. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN	3
a. PREGUNTA CLÍNICA	3
b. RECOLECCIÓN DE LOS MANUSCRITOS A REVISAR	3
Fuentes de información:.....	3
Términos de Búsqueda.....	4
IV. INFORMACIÓN QUE SOPORTE LA RELEVANCIA PARA LA SALUD PÚBLICA	5
4.1 ANTECEDENTES	5
V. RESUMEN DE LA EVIDENCIA	6
a. METAANÁLISIS/REVISIONES SISTEMÁTICAS.....	8
b. ENSAYOS CLÍNICOS	10
VI. RESUMEN DE DISPONIBILIDAD	11
VII. RESUMEN DE LA EVIDENCIA DE COSTOS	11
VIII. RESUMEN DEL ESTATUS REGULATORIO	11
a. AGENCIAS REGULADORAS.....	11
IX. CONCLUSIONES	12





I. ANTECEDENTES

Solicitud presentada por el Servicio de Infectología del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, en relación a la utilización del monitoreo linfocitario por citometría de flujo en pacientes con COVID-19

II. DATOS DE LA SOLICITUD

Intervención solicitada:	Monitoreo linfocitario por Citometría de Flujo
Indicación específica:	Recuento de linfocitos (linfocitos T, Linfocitos “Natural Killer”, y linfocitos B) para pronosticar severidad en pacientes con COVID-19

III. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN

a. PREGUNTA CLÍNICA

En pacientes con diagnóstico de COVID-19, ¿Cuál es la utilidad del monitoreo linfocitario por citometría de flujo para pronosticar severidad de la enfermedad?

P	Pacientes con diagnóstico de COVID-19
I	Citometría de Flujo para recuento linfocitario
C	Parámetros clínicos
O	Valor pronóstico

b. RECOLECCIÓN DE LOS MANUSCRITOS A REVISAR

Tipos de estudios:

La estrategia de búsqueda sistemática de información científica para el desarrollo del presente informe se realizó siguiendo las recomendaciones de la Pirámide jerárquica de la evidencia propuesta por Haynes y se consideró los siguientes estudios:

- Sumarios y guías de práctica clínica.
- Revisiones sistemáticas y/o meta-análisis.
- Ensayos Controlados Aleatorizados (ECA)
- Estudios Observacionales (cohortes, caso y control, descriptivos)

No hubo limitaciones acerca de la fecha de publicación o el idioma para ningún estudio

Fuentes de información:

- De acceso libre
- Bases de datos: Pubmed,

Fecha de búsqueda: la búsqueda sistemática se limitó a estudios publicados en los últimos 02 años.





Términos de Búsqueda

Considerando la pregunta PICO se construyó una estrategia de búsqueda. Sin restricciones en el idioma y publicados durante el año 2019 y 2020. A continuación, se detalla la estrategia de búsqueda realizada hasta julio 2020.

Base de datos	Estrategia/Término de búsqueda	Resultado
PUBMED	<p>Arbol de búsqueda</p> <p>Población: ("COVID-19"[Supplementary Concept] OR "COVID19"[Tiab] OR "COVID-19"[Tiab] OR "nCoV"[Tiab] OR "2019-nCoV"[Tiab] OR "SARS-CoV-2"[Tiab] OR "SARS-CoV2"[Tiab] OR ("coronavirus"[Tiab] OR "corona virus") AND ("disease-19" OR "2019"[Tiab] OR "novel" OR "Wuhan"[Tiab]))</p> <p>Intervención: (((((((flow cytometry[MeSH Terms]) OR (flow cytometry[Title/Abstract])) OR (Flow Microfluorometry[Title/Abstract])) OR (Flow Microfluorimetry[Title/Abstract])) OR (Flow Cytofluorometry[Title/Abstract])) OR (Flow Cytometries[Title/Abstract])) OR (Fluorescence-Activated Cell Sorting[Title/Abstract])) OR (Fluorescence Activated Cell Sorting[Title/Abstract])) AND (((((((flow cytometry[MeSH Terms]) OR (flow cytometry[Title/Abstract])) OR (Flow Microfluorometry[Title/Abstract])) OR (Flow Microfluorimetry[Title/Abstract])) OR (Flow Cytofluorometry[Title/Abstract])) OR (Flow Cytometries[Title/Abstract])) OR (Fluorescence-Activated Cell Sorting[Title/Abstract])) OR (Fluorescence Activated Cell Sorting[Title/Abstract])) OR (((Lymphocytopenia[MeSH Terms]) OR (lymphopenia[MeSH Terms])) OR (Lymphopenia[Title/Abstract])) OR (Lymphocytopenia[Title/Abstract]))</p> <p>Búsqueda final: ((((((((flow cytometry[MeSH Terms]) OR (flow cytometry[Title/Abstract])) OR (Flow Microfluorometry[Title/Abstract])) OR (Flow Microfluorimetry[Title/Abstract])) OR (Flow Cytofluorometry[Title/Abstract])) OR (Flow Cytometries[Title/Abstract])) OR (Fluorescence-Activated Cell Sorting[Title/Abstract])) OR (Fluorescence Activated Cell Sorting[Title/Abstract])) OR (((Lymphocytopenia[MeSH Terms]) OR (lymphopenia[MeSH Terms])) OR (Lymphopenia[Title/Abstract])) OR (Lymphocytopenia[Title/Abstract])) AND (("COVID-19"[Supplementary Concept] OR "COVID19"[Tiab] OR "COVID-19"[Tiab] OR "nCoV"[Tiab] OR "2019-nCoV"[Tiab] OR "SARS-CoV-2"[Tiab] OR "SARS-CoV2"[Tiab] OR ("coronavirus"[Tiab] OR "corona virus") AND ("disease-19" OR "2019"[Tiab] OR "novel" OR "Wuhan"[Tiab])))</p> <p>Fecha de búsqueda: 12 Setiembre 2020 Resultado: 86</p>	MET/RS: 3





	Filtros: Meta-Analysis / Systematic Reviews	
--	--	--

IV. INFORMACIÓN QUE SOPORTE LA RELEVANCIA PARA LA SALUD PÚBLICA

4.1 ANTECEDENTES

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es una infección causada por el coronavirus SARS-CoV-2. Su brote se ha extendido gradualmente en todo el mundo¹.

Un tema de especial relevancia en el control de este virus es la actividad del sistema inmune. Existen elementos importantes en la relación entre el SARS-CoV-2 y la respuesta inmune como: la valoración de herramientas moleculares y celulares del sistema inmune, y cómo su cinética de activación contribuye al control de la infección; el reconocimiento de estrategias de evasión del virus a la inmunidad, especialmente en las poblaciones vulnerables como pacientes oncológicos y la identificación de biomarcadores con valor pronóstico².

El monitoreo del recuento de linfocitos T CD4+ en sangre de pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) representa una de las primeras y mejor establecidas aplicaciones clínicas de citometría de flujo³. La determinación de las subpoblaciones linfocitarias (SPL) permite el monitoreo, seguimiento y tratamiento de pacientes con alteraciones inmunológicas. Además, el monitoreo detallado tanto del sistema inmune y los efectos de los nuevos tratamientos moduladores sobre células inmunes ha llegado a ser crítico en muchas condiciones inmunes descontroladas^{4 5 6 7}.

La citometría de flujo, entre sus múltiples aplicaciones, permite realizar un recuento de subpoblaciones de linfocitos gracias a la detección inmunológica de marcadores de linfocitos T (TCD3+, TCD4+, TCD8+), linfocitos natural killer (NK) (CD16+/56+) y de linfocitos B (CD19+)⁸. Actualmente, se han establecido los Intervalos de Referencia (InR) de las SPL en sangre periférica de niños y adultos sanos^{9 10}. Además, por citometría de flujo según la

¹ Lin L, Lu L, Cao W, Li T. Hypothesis for potential pathogenesis of SARS-CoV-2 infection-a review of immune changes in patients with viral pneumonia. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):727-732

² De León J, Pareja A, Aguilar P, Enriquez Y, Quiroz C, Valencia E. SARS-CoV-2 y sistema inmune: una batalla de titanes. *Horiz Med (Lima)* 2020; 20(1): 2227-3530

³ Kestens L, Mandy F. Thirty-five years of CD4 T-cell counting in HIV infection: from flow cytometry in the lab to point-of-care testing in the field. *Cytom.*, 92 (2017), pp. 437-444

⁴ Behnam Sani K, Sawitzki B. Immune monitoring as prerequisite for transplantation tolerance trials. *Clin. Exp. Immunol.*, 189 (2017), pp. 158-170

⁵ Boyd SD, Hoh RA, Nadeau KC, Galli SJ. Immune monitoring for precision medicine in allergy and asthma. *Curr. Opin. Immunol.*, 48 (2017), pp. 82-91

⁶ Cogdill AP, Andrews MC, Wargo JA. Hallmarks of response to immune checkpoint blockade. *Br. J. Cancer*, 117 (2017), pp. 1-7

⁷ Fridman WH, Zitvogel L, Sautés-Fridman C, Kroemer G. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 14 (2017), pp. 717-734

⁸ Sales MM, Moraes-Vasconcelos D, Duarte AJ. Citometria de fluxo – Aplicacoes diagnostic. Editora Atheneu 2013

⁹ Comans-Bitter W, de Groot R, van den Beed R, Neijens H, Hop W, Groeneveld K, Hooijkaas H, van Dongen J.





“DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES”
“AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD”

expresión de los marcadores CD45RA, CD45RO, CD27 y CCR7 también podemos discriminar los estadios de diferenciación de los linfocitos T: linfocitos T vírgenes, linfocitos T de memoria central, linfocitos T de memoria periférica y linfocito T efector¹¹.

Los hallazgos sugieren, que el total de linfocitos T CD4+, CD8+, células NK y linfocitos B disminuyen en pacientes con COVID-19; los casos severos presentan niveles linfocitarios más bajos que los casos leves. La disminución de SPL, especialmente de células T CD8+y el ratio CD4/CD8 muestran una relación inversamente proporcional con el estado inflamatorio y en consecuencia con la progresión y severidad de la enfermedad en pacientes COVID-19¹².

Los linfocitos citotóxicos (linfocitos T citotóxicos y linfocitos NK) son necesarios para el control de infecciones virales, y su agotamiento funcional está correlacionado con progresión de enfermedad; correlación también observada en una investigación con el virus SARS-Cov-2 sugiriendo que la inmunidad antiviral podría colapsar en una etapa temprana de la infección¹³.

El sistema inmune equilibrado se pierde en algunos de los pacientes infectados con SARS-CoV-2, lo que contribuye a la progresión de la enfermedad ^{14 15 16}. Monitorizar los cambios inmunológicos inducidos por el virus SARS-CoV-2 podría ayudar a tomar decisiones y ofrecer opciones terapéuticas en beneficios de los pacientes oncológicos de nuestra institución.

V. RESUMEN DE LA EVIDENCIA

Se encontraron 567 referencias en Medline/PubMed publicados en los últimos 02 años; de las cuales al filtrar por revisiones sistemáticas/metaanálisis se obtuvieron 34 referencias que tras la lectura de los resúmenes se seleccionaron 03 que cumplían con nuestros criterios de inclusión. Adicionalmente, se agregó una revisión que fue extraída de la base de datos de science direct con lo cual el número final de artículos incluidos para el informe fue de 04 revisiones sistemáticas.

Nombre de la RS o MA	Resumen de la Revisión
----------------------	------------------------

Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. *J Pediatr*. 1997 130(3):388-393

¹⁰ Condor JM, Alvarez M, Cano L, Matos E, Leiva C, Paredes JA. Intervalos de referencia de subpoblaciones linfocitarias de sangre periférica en adultos sanos de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2013;30(2):235-240

¹¹ Barrena S. Tesis doctoral "Nuevas estrategias inmunofenotípicas aplicadas al diagnóstico y clasificación de Síndromes Linfoproliferativos Crónicos". Universidad de Salamanca Departamento de Medicina Servicio General de Citometría España. 2011

¹² Wang F, Nie J, Wang H, Zhao Q, Xiong Y, Deng L, Song S, Ma Z, Mo P, Zhang Y. Characteristics of peripheral lymphocyte subset alterations in COVID-19 pneumonia. *J Infect Dis*. 2020 May 11;221(11):1762-1769

¹³ Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, Xu Y, Tian Z. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020 17(5):533-535

¹⁴ Moratto D, Chiarini M, Giustini V, et al. Flow Cytometry Identifies Risk Factors and Dynamic Changes in Patients with COVID-19 [published online ahead of print, 2020 Jun 27]. *J Clin Immunol*. 2020;1-4. doi:10.1007/s10875-020-00806-6

¹⁵ Chiappelli F, Khakshooy A, Greenberg G. CoViD-19 Immunopathology and Immunotherapy. *Bioinformatics*. 2020;16(3):219-222. Published 2020 Mar 31. doi:10.6026/97320630016219

¹⁶ Cossarizza A, De Biasi S, Guaraldi G, Girardis M, Mussini C; Modena Covid-19 Working Group (MoCo19)#. SARS-CoV-2, the Virus that Causes COVID-19: Cytometry and the New Challenge for Global Health. *Cytometry A*. 2020;97(4):340-343. doi:10.1002/cyto.a.24002





<p>Lymphocyte Subset Counts in COVID-19 Patients: A Meta-Analysis, Huang, 2020¹⁷</p>	<p>El manuscrito es un metaanálisis breve en el cual se investigó la reducción de recuentos de las diferentes células linfocíticas en pacientes con COVID-19 en 20 estudios revisados por pares que cumplieran los criterios para informar los recuentos de células linfocíticas y la gravedad de la enfermedad COVID-19. Los recuentos celulares de linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8 +, linfocitos B, linfocitos NK y linfocitos totales según los estudios revisados y metanalizados mostraron una reducción estadísticamente significativa en pacientes con enfermedad COVID-19 grave/crítica en comparación con la enfermedad leve/ moderada. Las familias celulares de linfocitos T mostraron la mayor magnitud estandarizada de cambio. En algunos de los estudios incluidos en el meta análisis, el análisis multivariado ha demostrado que los recuentos de células T CD4 y/o CD8 son independientes en la predicción de los desenlaces desfavorables del paciente.</p>
<p>Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019(COVID-19) infections: A systemic review and meta-analysis, Zhao, 2020¹⁸</p>	<p>El manuscrito es un metanálisis que tuvo por objetivo explorar la asociación entre el recuento de linfocitos con la gravedad de COVID-19. Se realizó una búsqueda sistemática de diciembre 2019 a marzo 2020 en cinco bases de datos que incluyeron idioma inglés y chino. Se analizó la diferencia de medias de pacientes con COVID-19 con o sin enfermedad grave y la razón de probabilidad de linfopenia para la forma grave de la enfermedad. Se incluyó 13 series de casos con un total de 2282 pacientes. Se encontró que el recuento linfocitario fue significativamente menor en pacientes con COVID-19 grave (DM -0,31 109 / L; IC del 95%: - 0,42 a -0,19 109 / L). La presencia de linfopenia se asoció con un riesgo casi tres veces mayor de COVID-19 grave (OR = 2,99, IC del 95%: 1,31-6,82). El estudio concluye que la linfopenia es un factor importante a considerar en pacientes con COVID-19 severo y que valores de linfocitos menores a $1.5 \times 10^9/l$ podrían resultar predictores útiles en los desenlaces clínicos de severidad de la enfermedad.</p>
<p>Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis, Zhang, 2020¹⁹</p>	<p>El manuscrito es un metaanálisis que evaluó los hallazgos de laboratorio en pacientes con COVID-19. Los estudios seleccionados fueron estudios observacionales de tres bases de datos. Se realizó un cálculo de proporciones agrupadas e intervalos de confianza al 95%. Se identificó en la búsqueda 1106 artículos de los cuales 28 estudios fueron seleccionados para un análisis y síntesis cualitativa y 07 estudios fueron seleccionados para el metaanálisis. De los 4663 pacientes incluidos con respecto a los datos de interés se encontró linfopenia en 47.9% (IC 95%: 41,6 a 54,9%). En el metaanálisis de los 07 estudios que incluyeron un total de 1905 pacientes se encontró asociación entre linfopenia y casos severos con un OR: 4,5 (IC95%: 3,3-6,0). Según las conclusiones del estudio es necesario prestar mayor atención a la interpretación de los resultados de laboratorio en pacientes con COVID-19. Pacientes con linfopenia requieren un manejo más cuidadoso y de ser necesario transferirlos a las unidades de cuidados intensivos.</p>
<p>Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019</p>	<p>El manuscrito es un metaanálisis en el cual se realizó una búsqueda sistemática en las bases de datos PubMed, SCOPUS, EuropePMC, ProQuest, Cochrane Central Databases y Google Scholar. Se incluyeron estudios en los cuales la población eran pacientes diagnosticados de COVID-19 con información del conteo linfocitario y otros desenlaces de</p>

¹⁷ Huang W, Berube J, McNamara M, et al. Lymphocyte Subset Counts in COVID-19 Patients: A Meta-Analysis. *Cytometry A*. 2020;97(8):772-776. doi:10.1002/cyto.a.24172

¹⁸ Qianwen Zhao, Meng Meng, Rahul Kumar, Yinlian Wu, Jiaofeng Huang, Yunlei Deng, Zhiyuan Weng, Li Yang. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A systemic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis*. 2020 Jul; 96: 131–135. Published online 2020 May 4. doi: 10.1016/j.ijid.2020.04.086

¹⁹ Zu-Li Zhang, Yu-Lei Hou, De-Tao Li, Feng-Zeng Li Scand. Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Lab Invest*. 2020 : 1–7.. Published online 2020 May 23. doi: 10.1080/00365513.2020.1768587.





(COVID-19): systematic review and meta-analysis, Huang, 2020 ²⁰	interés como mortalidad, síndrome de distress respiratorio agudo, unidad de cuidados intensivos y severidad. Se realizó un análisis estadístico de Maentel Haenszel para caculo de variables dicotómicas y obtener razones de probabilidad junto a sus intervalos de confianza al 95% y otras pruebas estadísticas, incluidos análisis de metaregresión de efectos aleatorios para variables que podrían resultar confusoras como edad, sexo, comorbilidad cardiaca, hipertensión, diabetes mellitus, EPOC y tabaquismo. Se incluyeron 24 estudios y un total de 3099 pacientes. El metaanálisis mostró que los pacientes con desenlaces desfavorables tuvieron un conteo linfocitario más bajo (diferencia media - 361,06 μ L [-439,18, - 282,95], $p < 0,001$; I 2 84%) en comparación con aquellos pacientes con desenlaces favorables. El análisis de subgrupos mostró un recuento linfocitario más bajo en aquellos pacientes que fallecieron (diferencia media - 395,35 μ L [- 165,64, - 625,07], $p < 0,001$; I 2 87%), en aquellos pacientes que tuvieron síndrome de distress respiratorio agudo (diferencia media - 377,56 μ L [- 271,89, - 483,22], $p < 0,001$; I 2 0%), ingresaron a UCI (diferencia media - 376,53 μ L [- 682,84, - 70,22], $p = 0,02$; I 2 89%) y desarrollaron casos graves (diferencia media - 353,34 μ L [- 250,94, - 455,73], $p < 0,001$; I 2 85%). La linfopenia estuvo asociada a COVID-19 severo (OR 3,70 [2,44, 5,63], $p < 0,001$; I 2 40%). La metaregresión mostró que la asociación entre el recuento de linfocitos y el resultado desfavorable estuvo afectado por la edad ($p = 0.034$). El estudio concluye que la medición de la linfopenia durante la admisión de los pacientes estuvo asociada a casos desfavorables de pacientes con COVID-19.
--	---

a. METAANÁLISIS/REVISIONES SISTEMÁTICAS

El manuscrito publicado por Huang et al. Fue un metaanálisis breve en el cual se realizó una búsqueda sistemática hasta el 23 de mayo que evidenció 258 publicaciones sobre el tema. Se realizó la revisión de título y resumen de ellos y se encontró que 16 estudios evaluaban el conteo linfocitario por citometría de flujo en pacientes con COVID-19 y caracterizaban grados de severidad de la enfermedad en base a estos resultados. Adicionalmente, se realizó una búsqueda sistemática en el buscador de google que permitió agregar 4 estudios. Se metanalizó los datos de los 20 artículos revisados por pares. En las publicaciones se comparó los resultados del conteo linfocitario en pacientes hospitalizados con diagnóstico de neumonía por COVID-19 leve/moderado y en aquellos que tenían COVID-19 severo. La comparación de los desenlaces varió entre los estudios revisados incluyendo supervivencia o no supervivencia, estados moderados en comparación con estados severos, estados graves en comparación de estados no graves y estados críticos en comparación a estados no críticos. Para evitar confusiones con respecto a los desenlaces al momento de realizar el metaanálisis los autores decidieron volver a clasificar a los grupos encontrados en cada estudio. Así los grupos de los estudios catalogados como leves, sobrevivientes, no críticos, enfermedad no agravante fueron clasificados en el grupo leve/moderado del metaanálisis y a los grupos no sobrevivientes, fallecidos, no sobrevivientes, críticos y con enfermedad agravante se les reclasificó en el grupo severo/crítico del metaanálisis. Entre los 20 estudios que se incluyeron en el metaanálisis, se encontró un total de 3017 pacientes. Se obtuvo información para el conteo de CD4+ en 2311 pacientes (76.6% casos leves) (Ver figura 01). Además, se obtuvo información del conteo de CD8+, células B y células "Natural Killer". Con los datos obtenidos se realizó un metaanálisis para calcular la diferencia de medias e intervalos de confianza al

²⁰ Huang, I., Pranata, R. Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): systematic review and meta-analysis. *J intensive care* 8, 36 (2020). <https://doi.org/10.1186/s40560-020-00453-4>



95% entre los grupos leve/moderado y severo/crítico para el total de linfocitos, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos CD19+ y recuento de linfocitos NK CD16+, linfocitos CD56+. Basado en el promedio de las medias de conteo linfocitario de cada estudio se encontró que, en todos los parámetros, el conteo absoluto de subfamilias linfocitarias que se encontró fue significativamente menor en el grupo severo/crítico en comparación con el grupo leve/moderado (Ver figura 02). Los resultados encontrados sugieren que el conteo absoluto de subfamilias linfocitarias está vinculado a los desenlaces del paciente con COVID-19. Por otro lado, en algunas de las publicaciones del metaanálisis se encontró que los recuentos de linfocitos se midieron próximos al ingreso hospitalario y en otros casos se evaluaron en el ingreso a UCI o cercanos a la muerte del paciente, es necesario evaluar esto más a fondo ya que podría ser un factor confusor. Otro de los puntos que menciona el estudio como parte de las limitaciones del mismo es que el análisis se realizó en base a estudios llevados a cabo en China. Finalmente, el estudio también menciona que es necesario el diseño de estudios prospectivos que evalúen la utilidad de las medidas de subfamilias linfocitarias como biomarcados pronósticos de severidad de la enfermedad, mortalidad y respuesta al tratamiento en pacientes infectados con SARS-COV-2.

El metaanálisis realizado por Zhao et al abarcó una búsqueda sistemática de la literatura en bases de datos virtuales Pubmed, Web o Science, Cochrane, WanFang y CNKI (las últimas son dos bases de datos chinas) de donde se extrajeron 1596 estudios (luego de haber extraído los duplicados) y que luego de realizarse el análisis de ellos se incluyeron 13 estudios para la síntesis cualitativa. Se utilizaron análisis estadísticos para analizar la heterogeneidad de los estudios y modelamientos de efectos aleatorizados. Con respecto al conteo linfocitario y el desenlace de severidad por COVID-19 se incluyeron 12 estudios y luego del metaanálisis de la data se encontró una reducción de $0.31 \times 10^9/L$ entre el grupo severo y no severo. Con respecto al análisis de linfopenia y COVID-19 severo se incluyeron 05 estudios en el metaanálisis; se encontró un $OR=2.99$ (IC 95%: 1.31-6.82); además, se realizó una exclusión de un estudio que permitió la reducción de heterogeneidad a 48% y obteniéndose como $OR= 2.17$ (IC 95%: 1.0126-4.681). Una de las limitaciones del manuscrito es la heterogeneidad entre los estudios incluidos que fueron series de casos retrospectivos y también mencionan que aún no se disponen de datos de estudios observacionales prospectivos ni de ensayos aleatorizados. Otro dato importante es que el autor menciona que es pronto para establecer una asociación concluyente entre la linfopenia y el deterioro por COVID-19. Finalmente, se concluye que la linfopenia forma una parte importante en la severidad por COVID-19 y un conteo linfocitario menor de $1.5 \times 10^9/L$ puede ser de utilidad en la predicción de severidad de desenlaces clínicos. Sin embargo, es necesario realizar otros estudios que nos permitan explicar los cambios linfocitarios en COVID-19 y confirmar la habilidad predictiva de la linfopenia en COVID-19.

El metaanálisis realizado por Zhang et al. Incluyó un total 28 estudios para el análisis cualitativo y de 07 estudios primarios para el análisis cuantitativo luego de hacer una revisión de las bases de datos Web of Science, Pubmed y CNKI (China). Se realizó una evaluación de calidad y riesgo de sesgo por pares que incluyó pruebas estadísticas de modelamiento de efectos aleatorizados, I^2 , prueba Q, y prueba de Egger's. Los 07 estudios incluyeron un total de 1905 pacientes que fueron divididos entre casos no severos y un grupo de casos severos acorde a las condiciones del paciente. Se muestran los resultados de 03 análisis de laboratorio: PCR (73.6%, 95% CI 60.0-85.3%), linfopenia (44.0%, 95% CI 33.2-58.3%) e incremento de LDH (41.7%, 95% CI 32.4-51.4%). Se realizó también un análisis de asociación entre las 03 condiciones antes mencionadas con la severidad de los casos por





COVID-19: PCR (OR 3.0, 95% CI: 2.1–4.4), linfopenia (OR 4.5, 95% CI: 3.3–6.0) e incremento de LDH (OR 6.7, 95% CI: 2.4–18.9). Con respecto a las limitaciones de la revisión se ha encontrado que los estudios primarios incluidos fueron realizados en población china, los efectos confusores no fueron controlados en la revisión por lo cual los resultados mostrados tienen que ser interpretados con precaución, hubo un alto porcentaje de heterogeneidad entre los grupos y subgrupos. La revisión sistemática con metaanálisis concluye que los análisis de laboratorio más comunes (incremento PCR, incremento IL-6, linfopenia e incremento LDH) están presentes en pacientes con COVID-19. Estos resultados demostraron que es necesario prestar mayor atención y vigilancia en interpretar los resultados laboratoriales de pacientes con COVID-19.

El metaanálisis de Huang et al. reporta los resultados obtenidos luego de realizar una búsqueda sistemática en Pubmed, Scopus, euroPMC, ProQuest, Cochrane y google scholar en donde se encontró 132 estudios (sin duplicados). De ellos se excluyó 105 quedando 27 estudios para evaluación de su elegibilidad luego de lo cual quedó finalmente 23 artículos primarios. Se incluyeron estudios en los cuales la población eran pacientes diagnosticados de COVID-19 con información del conteo linfocitario y otros desenlaces de interés como mortalidad, síndrome de distres respiratorio agudo, unidad de cuidados intensivos y severidad. Se realizó un análisis estadístico de Maentel Haenszel para caculo de variables dicotómicas y obtener razones de probabilidad junto a sus intervalos de confianza al 95% y otras pruebas estadísticas, incluidos análisis de metaregresión de efectos aleatorios para variables que podrían resultar confusoras como edad, sexo, comorbilidad cardiaca, hipertensión, diabetes mellitus, EPOC y tabaquismo. Se incluyeron 24 estudios y un total de 3099 pacientes. El metaanálisis de la data mostró que los pacientes con desenlaces desfavorables tuvieron un conteo linfocitario más bajo (diferencia media - 361,06 μL [- 439,18, - 282,95], $p < 0,001$; I 2 84%) en comparación con aquellos pacientes con desenlaces favorables. El análisis de subgrupos mostró un recuento linfocitario más bajo en aquellos pacientes que fallecieron (diferencia media - 395,35 μL [- 165,64, - 625,07], $p < 0,001$; I 2 87%), en aquellos pacientes que tuvieron síndrome de distress respiratorio agudo (diferencia media - 377,56 μL [- 271,89, - 483,22], $p < 0,001$; I 2 0%), ingresaron a UCI (diferencia media - 376,53 μL [- 682,84, - 70,22], $p = 0,02$; I 2 89%) y desarrollaron casos graves (diferencia media - 353,34 μL [- 250,94, - 455,73], $p < 0,001$; I 2 85%). La linfopenia estuvo asociada a COVID-19 severo (OR 3,70 [2,44, 5,63], $p < 0,001$; I 2 40%). La metaregresión mostró que la asociación entre el recuento de linfocitos y el resultado desfavorable estuvo afectado por la edad ($p = 0.034$). El estudio concluye que el metanálisis de la data muestra que la medición de la linfopenia a la admisión de los pacientes estuvo asociada a casos desfavorables de pacientes con COVID-19.

b. ENSAYOS CLÍNICOS

Al encontrar revisiones sistemáticas que tenían estudios observaciones dentro del análisis se dispuso la búsqueda de ensayos clínicos aleatorizados que se hayan llevado a cabo durante los 02 últimos años en la base de datos de clinical trials (<https://clinicaltrials.gov/>). Se encontró un total de 186 protocolos que habían sido programados con respecto a este tema y de los cuales 12 ya habían completado su etapa de reclutamiento. Al revisar cada uno de los 12 se





encontró que uno tenía relación con el tema de interés del informe solicitado.²¹ Sin embargo, no se encontró información disponible del estudio sobre el análisis de la data o las conclusiones.

VI. RESUMEN DE DISPONIBILIDAD

Según lo coordinado con el equipo de infectología de INEN existe la disponibilidad de equipo biomédico para realizar el procedimiento de citometría de flujo. Si bien la citometría de flujo de conteo linfocitario se realiza en Perú y existe disponibilidad para su uso según los documentos emitidos en la normatividad peruana del Ministerio de Salud no se precisan indicaciones en pacientes con COVID-19

VII. RESUMEN DE LA EVIDENCIA DE COSTOS

Con respecto a este punto, al momento de revisar información indirecta al respecto se encontró que los precios aproximados de 150 soles en promedio por cada uno de los kits para el conteo linfocitario sin contar el material biomédico que se tenga que utilizar para la realización de las pruebas.

VIII. RESUMEN DEL ESTATUS REGULATORIO

a. AGENCIAS REGULADORAS

INTERVENCIÓN	INDICACIONES APROBADAS		
	FDA	EU	DIGEMID-MINSA

²¹ National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). Association of the Neutrophil/Lymphocyte Ratio With Clinical Complications and Mortality in COVID-19 Patients. Disponible en: Association of the Neutrophil/Lymphocyte Ratio With Clinical Complications and Mortality in COVID-19 Patients. Accedido 20 de setiembre del 2020.





Monitoreo linfocitario por Citometría de Flujo en pacientes con COVID-19	No se ha encontrado regulación aprobada al respecto.	No se ha encontrado regulación aprobada al respecto.	Con fecha 14/04/2020 en Perú se elaboró la Resolución Ministerial N° 193-2020-MINSA que aprobó el Documento Técnico: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de personas afectadas por COVID-19 en el Perú. Dicho documento ha sido modificado en el apartado de tratamiento en sus dos versiones posteriores Resolución Ministerial N° N° 240-2020-MINSA y Resolución Ministerial N° 270-2020-MINSA. En ellos documentos se menciona a la linfopenia como uno de los factores a considerar para tener en cuenta la gravedad de la enfermedad. Por otro lado, no hace referencia a la utilidad del análisis de subfamilias linfocitarias.
--	--	--	---

IX. DISCUSIÓN

La linfopenia es una característica que ha sido encontrada en los pacientes con COVID-19 severo. Ello motivo que durante la pandemia sean realizados diversos estudios buscando evaluar si la valoración de la linfopenia o la valoración de los subgrupos celulares de linfocitos al ingreso hospitalario o etapas tempranas de la enfermedad podrían pronosticar la severidad de pacientes que ingresan con diagnóstico de COVID-19.

En este informe se incluyó 04 revisiones sistemáticas las cuales habían analizado la data de estudios primarios de manera cualitativa y cuantitativa y reportaban una disminución de la cantidad media de linfocitos totales y a nivel de subfamilias linfocitarias entre pacientes que desarrollaban cuadros graves de la enfermedad en comparación con aquellos pacientes que desarrollaron cuadros leves. A su vez, algunos estudios reportaron un mayor riesgo entre los pacientes con niveles linfocitarios menores a desarrollar cuadros severos por COVID-19.

Con respecto a las limitaciones de los estudios incluidos en las revisiones y las revisiones sistemáticas se ha podido observar que toda la data analizada se basa en estudios observacionales retrospectivos, la población incluida en los estudios suele ser población asiática y que se han identificado sesgos tanto en la identificación de los pacientes y la medición de la prueba estadística I² que podría significar una heterogeneidad entre los resultados para metanalizar la data. Si bien los metaanálisis concluyen que la disminución de los linfocitos al ingreso de pacientes COVID-19 es menor en pacientes que desarrollaron casos leves que aquellos pacientes en los cuales se presentaron casos severos. A su vez, se reportó a través de pruebas de asociación que existe un mayor riesgo de desarrollar casos severos en pacientes que presentan linfopenia. Sin embargo, estos estudios concluyen también que son necesarios llevar a cabo estudios del tipo ensayos clínicos o realizar investigaciones en otros contextos sobre el tema que permitan fortalecer la evidencia disponible.

Si bien, actualmente se ha evidenciado que existen protocolos en marcha sobre el tema revisado, no se dispone de data ni publicación con respecto a los existentes según la página “clinical trials” (<https://clinicaltrials.gov/>).

X. CONCLUSIONES





- 1) Durante la pandemia se han realizado pruebas de recuento linfocitario a pacientes con COVID-19 y han sido reportados en estudios observacionales.
- 2) Dentro de la revisión realizada se identificó 567 estudios. De ellos se filtró por revisiones sistemáticas y metanálisis identificándose 34 estudios para su revisión de título y resumen. Luego de dicha revisión se identificó 04 estudios que cumplieran con los requisitos para responder a la pregunta PICO solicitada.
- 3) Con respecto al recuento linfocitario los estudios revisados han encontrado una diferencia significativa entre la disminución de células linfocitarias y la severidad de casos por COVID-19. Así mismo, se encontró asociación (OR entre 2,99 a 4.5) entre la linfopenia y la severidad por COVID-19
- 4) Dentro de las limitaciones de los estudios revisados, las 04 revisiones sistemáticas han incluido solamente estudios observacionales en su análisis, la población ha sido mayoritariamente asiática (china) y se encontró un alto porcentaje de heterogeneidad entre los estudios incluidos en las revisiones sistemáticas.
- 5) No se ha encontrado una estandarización a nivel internacional con respecto a la realización de conteo linfocitario en pacientes con COVID-19 Según la normatividad peruana, el conteo linfocitario por citometría de flujo a nivel institucional podría realizarse bajo ciertos parámetros o evaluar su implementación dentro de un contexto que nos permita obtener data institucional que pueda fortalecer los resultados reportados hasta el momento.

