



CIENCIAS BIOMÉDICAS

Artículo original de investigación

Primer brote de COVID-19 en Cuba. Factores de riesgo de morbilidad y respuesta específica de anticuerpos en convalecientes

Yaíma Zúñiga-Rosales ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9483-9971>
Beatriz Marcheco-Teruel ^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-6009-0405>
Hilda Roblejo-Balbuena ¹ <https://orcid.org/0000-0002-5895-8057>
Giselle Monzón-Benítez ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9324-0772>
Francisco Sotomayor-Lugo ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9854-8688>
Estela Morales Peralta ¹ <https://orcid.org/0000-0002-2663-4138>
Bárbara Torres-Rives ¹ <https://orcid.org/0000-0001-9729-5172>
Nayade Pereira-Roche ¹ <https://orcid.org/0000-0002-3801-5609>
Beatriz Suárez-Besil ¹ <https://orcid.org/0000-0002-6305-9179>
Maidalys Bravo-Ramírez ¹ <https://orcid.org/0000-0003-3170-7132>
Yudelmis Álvarez-Gavilán ¹ <https://orcid.org/0000-0003-4990-9023>
María de los A. González-Torres ¹ <https://orcid.org/0000-0002-7793-507X>
Teresa Collazo-Mesa ¹ <https://orcid.org/0000-0002-3984-9189>
Lilia Caridad Marín-Padrón ¹ <https://orcid.org/0000-0002-2465-7977>
Cira Virgen Rodríguez-Pelier ¹ <https://orcid.org/0000-0003-3920-0299>
Yudelkis Benítez-Cordero ¹ <https://orcid.org/0000-0002-9688-7501>
Ivette Orosa-Vázquez ² <https://orcid.org/0000-0003-3818-3271>
Tania Carmenate-Portilla ² <https://orcid.org/0000-0001-5366-0035>
Marianniz Díaz-Hernández ² <https://orcid.org/0000-0003-1177-2711>
Janoi Chang-Calderón ² <https://orcid.org/0000-0003-1561-6791>
Belinda Sánchez-Ramírez ² <https://orcid.org/0000-0003-4675-4740>
Luis Carlos Silva-Aycaguer ³ <https://orcid.org/0000-0002-0734-0054>
Enrique Javier Gómez-Cabezas ⁴ <https://orcid.org/0000-0002-9593-5532>
Anitery Travieso-Tellez ⁵ <https://orcid.org/0000-0002-1739-7070>
José Pérez-Trujillo ⁶ <https://orcid.org/0000-0002-9499-0468>
Dayana García-Gómez ⁷ <https://orcid.org/0000-0001-5760-6175>
Daniel Quintana-Hernández ⁸ <https://orcid.org/0000-0001-9838-5591>
Juan Carlos Perdomo-Arriens ⁹ <https://orcid.org/0000-0002-5063-5093>
Diana Ferriol-Dorticós ¹⁰ <https://orcid.org/0000-0003-0460-0284>
María Dolores Noa-Machado ¹¹ <https://orcid.org/0000-0001-5603-489X>
Yadira Cirera-Díaz ¹² <https://orcid.org/0000-0003-4804-7185>
Mariley Sarmientos-Fleitas ¹³ <https://orcid.org/0000-0001-7352-5375>
Elizabeth Angulo-Cebada ¹⁴ <https://orcid.org/0000-0001-9355-179X>
Nora María Orive-Rodríguez. ¹⁵ <https://orcid.org/0000-0003-1527-6395>
Elayne Esther Santana-Hernández ¹⁶ <https://orcid.org/0000-0002-0295-1390>
Iliana Vargas- Cruz ¹⁷ <https://orcid.org/0000-0002-1010-9259>
Margarita Aurora Argüellez-Arza ¹⁸ <https://orcid.org/0000-0003-3423-0077>
Ana Irsi Tissert-Tamayo ¹⁹ <https://orcid.org/0000-0002-6087-6552>
Rolando Acosta-Acea ²⁰ <https://orcid.org/0000-0003-0430-8339>
Irinia Valdivia-Alvarez ²¹ <https://orcid.org/0000-0002-1450-941X>
Aurora Delahanty-Fernández ²¹ <https://orcid.org/0000-0002-3780-215X>
Ariel Palenzuela-Díaz ²¹ <https://orcid.org/0000-0001-5930-7849>
Darién Ortega-León ²¹ <https://orcid.org/0000-0002-4711-6479>
Roberto Yaniel Romero-Carrazana ²² <https://orcid.org/0000-0001-6688-5858>

Lorenzo Somarriba-López ²² <https://orcid.org/0000-0002-9399-7238>
Ricardo Pereda-González ²² <https://orcid.org/0000-0003-4969-4085>
Roberto Rafael Sabina-Martínez ²² <https://orcid.org/0000-0002-8736-0783>
Sonia Bess-Constantén ²² <https://orcid.org/0000-0002-3280-3030>
Miguel Ángel Martínez-Morales ²² <https://orcid.org/0000-0003-0625-1321>
José Raúl de Armas-Fernández ²² <https://orcid.org/0000-0002-7351-7006>
Juliet María Enríquez-Puertas ²³ <https://orcid.org/0000-0002-8713-8875>
Dagmar García-Rivera ²⁴ <https://orcid.org/0000-0002-2099-1791>
Alina Alerm-González. ²⁵ <https://orcid.org/0000-0003-1268-0261>
Francisco Durán-García ²² <https://orcid.org/0000-0003-2228-2670>
José Ángel Portal-Miranda ²² <https://orcid.org/0000-0002-9532-4483>

¹ Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba

² Centro de Inmunología Molecular. La Habana, Cuba

³ Escuela Nacional de Salud Pública. La Habana, Cuba

⁴ Centro de Investigaciones Psicológicas y Sociológicas. La Habana, Cuba

⁵ Hospital Pediátrico Provincial Docente Pepe Portilla. Departamento Provincial de Genética. Pinar del Río

⁶ Hospital Provincial Docente Comandante Ciro Redondo. Departamento Provincial de Genética. Artemisa, Cuba

⁷ Departamento Provincial de Genética. La Habana, Cuba

⁸ Hospital Materno Infantil Comandante Manuel Piti Fajardo. Departamento de Genética. Mayabeque, Cuba

⁹ Hospital Materno Infantil Provincial José Ramón López Tabranes Departamento Provincial de Genética. Matanzas, Cuba

¹⁰ Hospital Pediátrico Universitario Paquito González Cueto. Departamento Provincial de Genética. Cienfuegos, Cuba

¹¹ Hospital Materno Mariana Grajales Coello. Departamento Provincial de Genética. Villa Clara, Cuba

¹² Hospital Provincial General Camilo Cienfuegos Gorriaran. Departamento Provincial de Genética. Sancti Spiritus, Cuba

¹³ Hospital Provincial Dr. Antonio Luaces Iraola. Departamento Provincial de Genética. Ciego de Ávila, Cuba

¹⁴ Hospital Materno Provincial Ana Betancourt de Mora. Departamento Provincial de Genética. Camagüey, Cuba

¹⁵ Hospital Pediátrico Provincial Mártires de las Tunas. Departamento Provincial de Genética. Las Tunas, Cuba

¹⁶ Hospital Pediátrico Octavio de la Concepción y la Pedraja. Departamento Provincial de Genética. Holguín, Cuba

¹⁷ Departamento Provincial de Genética. Granma, Cuba

¹⁸ Hospital Pediátrico Antonio María Béguez César. Departamento Provincial de Genética. Santiago de Cuba, Cuba

¹⁹ Hospital Pediátrico Pedro Agustín Pérez. Departamento Provincial de Genética, Guantánamo, Cuba

²⁰ Departamento Provincial de Genética. Isla de la Juventud, Cuba

²¹ Centro de Inmunoensayo. La Habana, Cuba

²² Ministerio de Salud Pública. La Habana, Cuba

²³ Laboratorio Nacional de la Defensa Civil. Mayabeque, Cuba

²⁴ Instituto Finlay de Vacunas. La Habana, Cuba

²⁵ Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba

*Autor para la correspondencia: beatriz@infomed.sld.cu

RESUMEN

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Introducción: La variabilidad en la severidad clínica entre pacientes con la COVID-19 y el desarrollo de síntomas graves, así como la evolución de los convalecientes, puede deberse a posibles modelos que combinen factores de riesgo genéticos y no genéticos. **Objetivo:** Caracterizar los factores de riesgo de morbimortalidad y la respuesta específica de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 durante la convalecencia, en relación a la severidad, en pacientes recuperados del primer brote de COVID-19 en Cuba. **Métodos:** Se realizó un estudio transversal de 1182 casos, confirmados entre el 11 de marzo y el 11 de junio de 2020. Fueron divididos en 3 grupos: asintomáticos, con síntomas leves o moderados y graves. Se determinó el grupo sanguíneo ABO, el estudio de polimorfismos de genes relacionados con la respuesta inmune, subpoblaciones linfocitarias y la respuesta de anticuerpos anti-SARS-CoV-2 en la convalecencia. Se analizaron datos de 84 fallecidos. **Resultados:** En los casos estudiados el riesgo de morir fue 12,6 veces superior en mayores de 60 años (IC 95 % 6,3; 25,2), y 2,4 veces (IC 95 % 1,4; 4,2) más en hombres que en mujeres. Padeecer de enfermedad renal crónica, *diabetes mellitus* o cáncer representó un mayor riesgo de fallecer. Se identificaron los polimorfismos -308A > G del gen TNF *alpha*, A16974C del gen IL-12 p40 y TaqI del gen del receptor de vitamina D (VDR) como posibles factores predisponentes para el desarrollo de formas sintomáticas. En los convalecientes de formas graves se encontró

un aumento de las células CD3 + CD8 + y NK. El 62,2 % de los convalecientes (IC 95 % 59,1; 65,4) tenían anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2 en suero. La seropositividad a anticuerpos totales, los títulos de IgG específicos contra el dominio de unión al receptor (RBD), su capacidad de inhibir la unión RBD-receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) y avidéz, fueron superiores en los casos con formas graves. **Conclusiones:** Las vulnerabilidades identificadas en grupos poblacionales y las características de la respuesta humoral anti-SARS-CoV-2 durante la convalecencia, constituyeron evidencia útil para la actualización de los protocolos de actuación del país, incluyendo las estrategias de inmunización. Este estudio permitió contar con referentes propios para evaluar la inmunogenicidad de los candidatos vacunales cubanos.

Palabras clave: COVID-19; Cuba; estudios epidemiológicos; polimorfismos; anticuerpos neutralizantes; respuesta inmune

First outbreak of COVID-19 in Cuba. Risk factors for morbidity and mortality and specific antibody response in convalescents

ABSTRACT

Introduction: The variability in clinical severity among patients with COVID-19 and the development of severe symptoms, as well as the evolution of convalescents, may be due to possible models that combine genetic and non-genetic risk factors. **Objective:** To characterize the risk factors for morbidity and mortality and the specific response of anti-SARS-CoV-2 antibodies during convalescence, in relation to severity, in patients recovered from the first COVID-19 outbreak in Cuba.

Methods: It was carried out a cross-sectional study of 1182 cases confirmed between March 11th and June 11th of 2020. They were divided into three groups: asymptomatic, those with mild or moderate symptoms and severely ill patients. They were determined the ABO blood group, the study of gene polymorphisms related to the immune response, lymphocyte subpopulations, and the anti-SARS-CoV-2 antibody response in convalescence. They were also analyzed data of 84 deaths by COVID-19. **Results:** The risk of death after contracting the disease was 12.6 times higher in persons over 60 years of age (95%CI 6.3;25.2), and 2.4 times higher in men than in women (95% CI 1.4;4.2). Persons with chronic kidney disease, diabetes mellitus or cancer, had a higher risk of dying. They were identified the -308A>G polymorphisms of the TNF alpha gene, A16974C of the IL-12 p40 gene, and TaqI of the VDR gene as possible predisposing factors for the development of symptomatic forms. It was found in convalescent patients with severe forms an increase in CD3 + CD8 + and NK cells. It was found total anti-SARS-CoV-2 antibodies in the serum in 62.2% of the convalescents (95% CI 59.1;65.4). Seropositivity to total anti-SARS-CoV-2 antibodies, specific IgG antibody titers against the receptor-binding domain (RBD), its ability to inhibit the RBD-angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor bond and its avidity, were higher in cases with severe forms of COVID-19. **Conclusions:** The vulnerabilities identified in population groups, as well as the characteristics of the humoral anti-SARS-CoV-2 response during convalescence, provided useful evidence for the dynamic updating of the action protocols in the country, including the immunization strategies. This study allowed us to have our own references to evaluate the immunogenicity of Cuban vaccine candidates.

Keywords: COVID-19; Cuba; epidemiological studies; polymorphisms; neutralizing antibodies; immune response

INTRODUCCIÓN

El 11 de marzo de 2020 Cuba confirmó los primeros 3 casos de infección por Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). ⁽¹⁾ El Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP), 2 semanas después, reportó el primer

evento de transmisión local. ⁽²⁾ Durante el primer brote y hasta el 11 de junio de 2020 los contagiados ascendían a 2233 y 84 casos habían fallecido. ⁽³⁾

En medio de una severa crisis económica, un grupo de trabajo gubernamental condujo la estrategia nacional centra-

da en 3 componentes: gestión epidemiológica, enfocada en la prevención y atención primaria de salud; manejo clínico de pacientes en los servicios hospitalarios e innovación, basada en evidencias. ⁽⁴⁻⁶⁾

La constitución genética individual es uno de los componentes de la compleja interacción con factores ambientales que regulan la resistencia o susceptibilidad a las infecciones. Es razonable suponer que la variabilidad en la severidad clínica entre pacientes con la COVID-19 y el desarrollo de síntomas graves, así como la evolución de los convalecientes, pueda deberse a posibles modelos que combinen factores de riesgo genéticos y no genéticos. A su vez, la mayor o menor gravedad de la enfermedad aguda tendrá repercusión en la respuesta inmune y en particular en la inmunidad específica de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 que permanece en el convaleciente.

Como parte del trabajo de la comunidad científica cubana en la caracterización de esta nueva infección, y en aras de lograr la identificación de posibles factores genéticos involucrados en la respuesta individual a la infección viral, se realizó el proyecto de investigación: Factores de riesgo genético asociados a la severidad clínica de la COVID-19 en pacientes cubanos, aprobado por el Comité de Innovación del MINSAP. Conducidos por un grupo de investigadores del Centro Nacional de Genética Médica, abarcó todas las provincias del país y el municipio especial durante el primer brote de la infección por SARS-CoV-2. Los principales resultados de este estudio de casos realizado al cierre del primer brote son mostrados en el presente trabajo, con el objetivo de caracterizar factores clínico-epidemiológicos, genéticos, las subpoblaciones linfocitarias y la respuesta específica de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 durante la convalecencia, en relación con la severidad o mortalidad de la COVID-19.

MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal analítico de casos del primer brote de COVID-19 en Cuba, que incluyó 1182 casos confirmados de infección por SARS-CoV-2 entre el 11 de marzo y el 11 de junio de 2020. Estos pacientes habían recibido el alta epidemiológica después de confirmar el aclaramiento viral para SARS-CoV-2, evaluado por 2 resultados negativos del *test* de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) en un período de 14 d posteriores al alta hospitalaria y que dieron su consentimiento escrito para participar en la investigación.

Se excluyeron los fallecidos, los extranjeros, los menores de 1 año de edad, los casos con limitaciones físicas o mentales y ausencia de 1 familiar que impidió la obtención de datos en la entrevista clínica, así como los que se encontraban fuera de su área de residencia en el momento de la investigación. Se analizaron los datos clínico-epidemiológicos de los 84 fa-

llecidos por COVID-19 durante este periodo. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes, utilizando 1 guía de análisis y se realizó 1 entrevista estructurada a los convalecientes.

La muestra se estratificó en 3 grupos de acuerdo con la gravedad de la COVID-19: asintomáticos, con síntomas leves o moderados y graves. Para ello, se consideraron las definiciones descritas en el Protocolo de Actuación Nacional para la COVID-19 en Cuba versión 1.4 y los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), vigentes en el momento de realización del estudio. ^(7,8) El trabajo de campo se realizó entre el 3 de junio y el 26 de julio de 2020. El grupo sanguíneo ABO se realizó mediante aglutinación en *látex*.

A 1 selección aleatoria simple dentro de cada grupo se le realizó estudios de polimorfismos genéticos, detección de anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2; cuantificación de IgG-específica frente al dominio de unión al receptor (RBD, del inglés receptor-binding domain), su avidéz y porcentaje de inhibición de la unión RBD-receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2).

Para el estudio de los 3 polimorfismos se realizó la extracción automática de ADN utilizando QIA symphony DNA Mini (Qiagen). ⁽⁹⁾ El estudio del polimorfismo -308^a > G del gen del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) se realizó mediante el sistema de amplificación refractaria de mutaciones e incluyó a 1028 casos. ⁽¹⁰⁾ Los cebadores se diseñaron de acuerdo con Sotomayor *et al*, los alelos de este polimorfismo se designaron como A y G. ⁽¹¹⁾

Para identificar los alelos del polimorfismo A16974C del gen interleucina 12 (IL12) se desarrolló la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) descrita por Seegers *et al* y los alelos se designaron como A y C; este estudio incluyó a 102 casos. ⁽¹²⁻¹³⁾ Para identificar los alelos del polimorfismo TaqI del gen del receptor de vitamina D (VDR) se desarrolló la técnica de PCR diseñada por Taylor *et al* y and the disease kills almost the same number of men as breast cancer does women. Relatively few risk factors are known for prostate cancer, although several lines of evidence suggest that vitamin D may be an important determinant of prostate cancer risk. A series of common polymorphisms in the vitamin D receptor gene were recently reported to be associated with bone density and risk of osteoporosis (Morrison *et al.*, Nature (Lond. los alelos se designaron como T y t; and whether this polymorphism is associated with susceptibility to Crohn's disease (CDe este estudio incluyó a 104 casos. ⁽¹⁴⁻¹⁵⁾

El inmunofenotipaje linfocitario incluyó 251 casos (67 asintomáticos, 122 con síntomas leves-moderados y 62 del grupo graves). Se empleó un grupo control constituido por familiares de primer grado del grupo de casos, que convivían y estuvieron en contacto estrecho con los mismos en el periodo en que fueron confirmados y que resultaron negativos a los PCR-RT para SARS-CoV-2, que se les realizaron durante

el seguimiento a contactos y que al momento de la toma de muestra en la investigación eran negativos para anticuerpos contra el SARS-CoV-2. ⁽¹⁶⁾

La cuantificación de las subpoblaciones linfocitarias se realizó mediante citometría de flujo (*Beckman Coulter Gallios* de 8 fotomultiplicadores para fluorescencia). La cuantificación de los linfocitos B, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, linfocitos T doble positivos CD4+ CD8+, células natural killer (NK) y natural killer T (NKT) se empleó 1 tubo policromático estandarizado en el CNGM.⁽¹⁷⁾ Se identificaron las células T de memoria CD4+ y CD8+: memoria central (MC), CD45RA-CD27+; memoria efectora (ME), CD45RA-CD27-; células T efectoras terminalmente diferenciadas (TEMRA), CD45RA+CD27- y células vírgenes (*naïve*), CD45RA+CD27+. Se obtuvieron los valores porcentuales y absolutos (células/ μ L) de cada subpoblación. ⁽¹⁶⁾

La detección de anticuerpos totales (IgG, IgA o IgM) anti-SARS-CoV-2 en suero, se realizó en el Centro de Inmunoensayo (CIE), La Habana, Cuba, mediante el UMELISA ANTI SARS-CoV-2, ensayo inmunoenzimático tipo *sándwich* de doble antígeno e incluyó 898 casos: 390 asintomáticos, 459 con síntomas leves o moderados y 49 graves. Los resultados se informaron como: positivos (presencia de anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2) o negativos (ausencia de anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2).

El título de IgG-específica contra RBD (IgG anti-RBD) fue cuantificado mediante ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA en el Centro de Inmunología Molecular, La Habana, Cuba, e incluyó 273 muestras: 79 asintomáticos, 131 con síntomas leves o moderados y 63 graves. El inverso de la máxima dilución de suero a la que se obtuvo una densidad óptica (DO) que fuera 4 veces el valor del suero control negativo, se consideró el título de IgG anti-RBD.

Para el ensayo de la avidéz de la IgG anti-RBD las placas se incubaron con 1 dilución 1:100 de suero y diluciones doble-seriadas de NH_4SCN , comenzando en 4M. El índice de avidéz se estimó como el valor de molaridad del NH_4SCN que redujo al 50 % la unión de anticuerpos. Este ensayo se realizó en 148 muestras con títulos de IgG anti-RBD > 1:100.

El ensayo de neutralización viral se realizó a una cohorte de 47 muestras para establecer la correlación entre el *test* de neutralización convencional y el molecular. Se desarrolló en el Laboratorio Nacional de la Defensa Civil, siguiendo las recomendaciones de Manenti y colaboradores con modifica-

ciones menores. ⁽¹⁸⁾ El título neutralizante 50 (NT50) se estimó como la mayor dilución del suero que mostró una densidad óptica (DO) que representa el 50 % del valor de DO de los pocillos de las células control.

Los ensayos subrogados de neutralización (porcentaje de inhibición de la unión RBD-ACE2 y título de neutralización viral molecular) se emplearon para evaluar la actividad neutralizante inducida por la infección. Para su desarrollo las placas se recubrieron con ACE2-hFc y se incubaron diluciones seriadas del suero con RBD-mFc. La capacidad de inhibición del suero se calculó y expresó en porcentaje, a través de la fórmula expuesta (1).

El máximo reconocimiento corresponde al RBD-mFc (20 ng/mL). El título de neutralización viral molecular (mVNT) fue el título necesario para lograr el 50 % de la inhibición de la unión de RBD-ACE2.

Análisis estadístico

Se calcularon las frecuencias absolutas y relativas con intervalos de confianzas del 95 % (IC 95 %) de las variables categóricas. Para las variables cuantitativas se calculó la media y desviación estándar o mediana y rango intercuartil con sus respectivos IC 95 %. Se empleó el *test* de diferencia de proporciones. El análisis multivariado para explorar los factores de riesgo relacionados con la sintomatología, severidad clínica o la mortalidad, se realizó mediante regresión logística bivariada.

Se utilizó el *chic cuadrado* para analizar las diferencias en la distribución de alelos y genotipos de los polimorfismos genéticos entre subgrupos de formas clínicas de COVID-19. Se utilizó el análisis univariante y la regresión logística multivariante para estudiar la relación entre los polimorfismos y las formas de evolución clínica de la COVID-19.

Para las variables relacionadas con las determinaciones de anticuerpos séricos contra el SARS-CoV-2 la significación estadística se determinó usando la prueba no paramétrica de comparaciones múltiples de Dunn. Los análisis y gráficos fueron realizados con IBM SPSS Statistics versión 22.0 (International Business Machines Corporation) y GraphPadPrism versión 7.00.

Consideraciones éticas

La investigación fue aprobada por el comité de ética del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM No. 18/2020) y el Comité de Innovación del MINSAP. Se obtuvo el consentimiento escrito de los participantes y de los responsables legales en el caso de los menores o personas con discapacidades cognitivas.

$$\text{Inhibición}(\%) = \left(1 - \left[\frac{A_{405nm\text{muestra}}}{A_{405nm\text{máximo}}} \text{reconocimiento}\right]\right) \times 100 \quad (1)$$

Tabla 1. SARS-CoV-2: Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2

Características	Asintomáticos (N = 488)	Con síntomas leves o moderados (N = 628)	Graves (N = 66)	Total (N = 1182)
Edad				
Mediana (IQR) – años	41 (25-54)	46 (29-57)	60 (51-71)	45 (28-57)
Subgrupos – No. (%)				
1-4	10 (2,0)	6 (1,0)	0 (0,0)	16 (1,4)
5-14	42 (8,6)	31 (4,9)	0 (0,0)	73 (6,2)
15-18	26 (5,3)	22 (3,5)	0 (0,0)	48 (4,1)
19-39	161 (33,0)	205 (32,6)	7 (10,6)	373 (31,6)
40-59	175 (35,9)	231 (36,8)	25 (37,9)	431 (36,5)
60-79	59 (12,1)	109 (17,4)	24 (36,4)	192 (16,2)
≥80	15 (3,1)	24 (3,8)	10 (15,2)	49 (4,1)
Sexo-No. (%)				
Femenino	267 (54,7)	347 (55,3)	38 (57,6)	652 (55,2)
Masculino	221 (45,3)	281 (44,7)	28 (42,4)	530 (44,8)
Color de la piel-No. (%)^(A)				
Blanco	313 (64,3)	398 (64,0)	46 (69,7)	757 (64,4)
Mestizo	118 (24,2)	143 (23,0)	13 (19,7)	274 (23,3)
Negro	56 (11,5)	81 (13,0)	7 (10,6)	144 (12,3)
Comorbilidades-No. (%)^(B)				
Ninguna	229 (46,9)	240 (38,2)	11 (16,7)	480 (40,6)
Hipertensión arterial	131 (26,8)	242 (38,5)	40 (60,6)	413 (34,9)
Diabetes Mellitus	26 (5,3)	70 (11,1)	15 (22,7)	111 (9,4)
Enfermedad Cardiovascular ^(C)	20 (4,1)	45 (7,2)	13 (19,7)	78 (6,6)
Asma Bronquial	63 (12,9)	104 (16,6)	10 (15,2)	177 (15)
Obesidad referida	25 (5,1)	39 (6,2)	6 (9,1)	70 (5,9)
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica	8 (1,6)	18 (2,9)	6 (9,1)	32 (2,7)
Enfermedades autoinmunes ^(D)	15 (3,1)	31 (4,9)	6 (9,1)	52 (4,4)
Inmunodeficiencias ^(E)	11 (2,3)	21 (3,3)	4 (6,1)	36 (3,0)
Hipercolesterolemia	14 (2,6)	22 (3,8)	3 (4,5)	39 (3,3)
Cáncer ^(F)	7 (1,4)	15 (2,4)	3 (4,5)	25 (2,1)

Tabla 1. SARS-CoV-2: Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2 (cont.)

Días de hospitalización-media (IC 95 %)	16,4 (15,8-16,8)	17,5 (16,9 – 18,1)	19,8 (17,5-22,1)	17,1 (16,7–17,5)
Días de convalecencia ^(G)				
Media (DE)	62 (16)	67 (17)	68 (14)	65 (17)
Mediana (RIC)	65 (51-74)	69 (58-79)	68 (60-78)	67 (56-77)
Antecedentes familiares de comorbilidades-No. (%)				
Hipertensión arterial	352 (72,1)	446 (71,0)	38 (57,6)	836 (70,7)
Diabetes Mellitus	193 (39,5)	322 (51,3)	26 (39,4)	541(45,8)
Enfermedad Cardiovascular	134 (27,5)	205 (32,6)	19 (28,8)	358 (30,3)
Asma Bronquial	147 (30,1)	184 (29,3)	15 (22,7)	346 (29,3)
Cáncer	109 (22,3)	177 (28,2)	23 (34,8)	309 (26,1)

Fuente: Elaboración propia. Notas: A) Color de la piel descrita por el paciente; B) Para las comorbilidades: no y desconocido se combinaron; C) Se incluyeron casos con antecedentes de cardiopatía isquémica, valvulopatías, arritmias y miocardiopatías; D) Se incluyeron casos con Lupus Eritematoso Sistémico, artritis reumatoidea, hepatitis autoinmune, colitis ulcerativa idiopática, miastenia gravis, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves-Basedow, psoriasis, esclerosis múltiple y diabetes mellitus tipo I; E) Se incluyeron casos con déficit de IgA, IgG, de células T, B y NK; inmunodeficiencia secundaria a VIH, hepatitis B y C crónica; F) Se incluyeron casos con antecedentes de leucemia, linfoma, cáncer de piel, cérvix, útero y próstata; G) Días de convalecencia: número de días desde el resultado negativo de la prueba RT-PCR para SARS-CoV-2 hasta la toma de muestra de sangre

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Participaron en el estudio 1182 cubanos, 652 mujeres y 530 hombres con edades entre 1 año y 96 años. Se estudiaron casos de todas las provincias de Cuba. Se clasificaron como asintomáticos 488 casos (41,3 %, IC 95 % [38,5; 44,1]), con síntomas leves o moderados 628 (53,1 %, IC 95 % CI [50,3; 56] y graves 66 (5,6 %, IC 95 % [4,3; 6,9]).

Del total de casos que se incluyeron, 1045 eran adultos (88,4 %) y 137 menores de 18 años (11,6 %) (ver tabla 1). La forma asintomática fue más frecuente en niños que en adultos (56,9 % vs 39,2 %). No se encontró relación entre el sexo y la presencia de formas sintomáticas o graves. La distribución según color de piel fue similar a la de la población cubana (ver tabla 1).

La ausencia de comorbilidades fue más frecuente en casos asintomáticos. El grupo de graves fue el de mayor promedio de días de hospitalización y prevalencia de todas las comorbilidades, excepto asma bronquial. No se encontraron diferencias entre los períodos de convalecencia promedio de los casos estudiados en cada grupo (ver tabla 1).

Se encontró una fuerte relación entre aumento de la edad y severidad de la enfermedad (figura 1A). Los intervalos de confianza (IC) al 95 % para la media de la edad entre los casos asintomáticos (40,4 años; IC 95 % 38,6; 42,1), con síntomas leves o moderados (44,2 años; IC 95 % 42,6; 45,7), y graves (60,3 años; IC 95 % 56,3; 64,4) no se solapan. Los pacientes con 60 años o más, tuvieron un riesgo 3,1 veces superior de presentar la forma clínica grave (OR ajustado, 3,1; 95 % CI, 1,74 a 5,53, $p = 0,000$) (ver figura 1B).

Los 84 fallecidos tenían una edad promedio de 73,6 años (ICR 62,2-84; rango 35-101; IC 95 % 70,7; 76,6), superior al de los pacientes graves que sobrevivieron (ver figura 1A). Los hombres que fallecieron eran como promedio 8 años más jóvenes (70,55 años, IC95 % 66,4; 74,7) que las mujeres fallecidas (78 años, IC95 % 74,4; 81,6).

El riesgo ajustado de morir fue superior para una edad ≥ 60 años (OR = 12,6; 95 %/CI 6,3 a 25,2), para los hombres (OR = 2,4; 95 %/CI 1,4 a 4,2) y los que padecían enfermedad renal crónica (OR = 10,7, 95 %/CI 3,7 a 30,3), cáncer (OR = 5,1, 95 %/CI 2,2 a 11,7), *diabetes mellitus* (OR = 2,9;

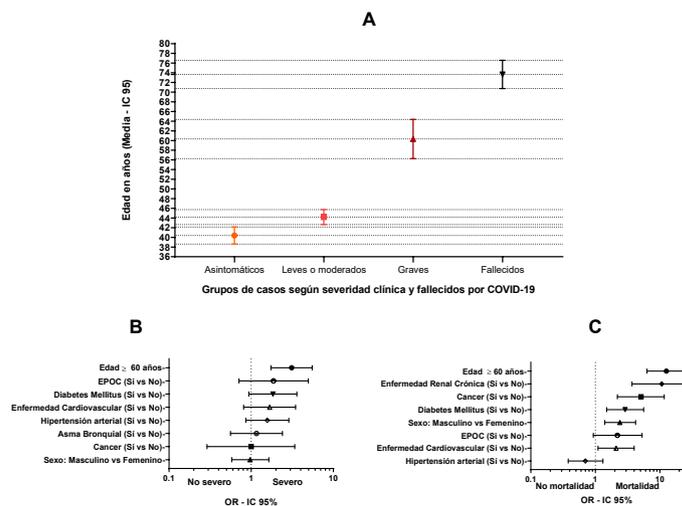


Fig. 1. Factores de riesgo de severidad y mortalidad por COVID-19 en casos del primer brote en Cuba; A) relación entre el aumento de la edad y la severidad de COVID-19. Regresión logística: factores de riesgo de severidad clínica de la COVID-19; B) y de mortalidad; C) Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) Fuente: Elaboración propia

95 %/CI 1,5 a 5,6) o enfermedad cardiovascular (OR = 2,1; 95 %/CI 1,1 a 4,0) (ver figura 1C). La combinación de piel mestiza y sexo femenino fue un factor de protección ante el riesgo de muerte (OR 0,3; CI 95 % 0,1; 1,3).

Identificación de factores de riesgo genéticos para el desarrollo de formas sintomáticas o severas de COVID-19 durante el primer brote en Cuba

En el estudio del grupo sanguíneo ABO no se encontró una disminución significativa del riesgo de presentar síntomas o formas graves de COVID-19 en los casos con grupo sanguíneo O. En los casos con grupo sanguíneo A se encontró tendencia al desarrollo más frecuente de formas sintomáticas (OR = 1,10; 95 % IC 0,86; 1,39) y graves (OR = 1,18; 95 % IC 0,7; 1,95) comparado con los individuos de grupos sanguíneos O, B y AB. En el estudio en adultos mayores, ⁽¹⁹⁾ el riesgo de padecer formas severas en pacientes con grupo sanguíneo A vs O fue de 2,75 (95 % IC 1,4-5,26).

Los análisis de frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo -308A > G del gen TNF α , según la sintomatología, mostraron que la frecuencia de homocigóticos AA del polimorfismo fue del 1,2 % y 0,8 % en sintomáticos y asintomáticos, respectivamente. La frecuencia del genotipo de los individuos portadores del alelo A fue de 7,3 % en pacientes asintomáticos, de 11,8 % en pacientes sintomáticos leves/moderados y de 1,3 % en pacientes graves. Encontramos una mayor tendencia a desarrollar síntomas leves o moderados en individuos del genotipo AG (OR = 1,26; IC 95%: 0,91-1,73) y que los portadores del genotipo GG tenían una mayor tendencia a no tener sínto-

mas (336 de 411; OR = 1,24; IC 95%: 0,91-1,70). No se encontraron diferencias en el número de días de hospitalización según la frecuencia de genotipos. Se mostró la mayor probabilidad de presentar síntomas de COVID-19 en los individuos que portaban el alelo -308.A del gen TNF α (tabla 2). No se evidenció un mayor riesgo de desarrollar formas graves de la enfermedad en portadores del alelo-308.A, excepto en la región oriental del país que el riesgo de padecer formas graves de COVID-19 fue 4,6 veces en individuos con al menos un alelo A.

La frecuencia del alelo C del polimorfismo A16974C del gen IL12p40 fue mayor en los casos sintomáticos (25 %) vs asintomáticos (17 %). La frecuencia de los genotipos AA, AC y CC en los casos sintomáticos fue de 52,43 %; 45,12 % y 2,43 % respectivamente. Para el grupo de asintomáticos el genotipo AA estuvo presente en el 65 % de los casos, mientras que el heterocigótico AC en el 35 % y no se encontró el genotipo CC en quienes padecieron formas asintomáticas de la infección.

El genotipo tt del polimorfismo TaqI del gen VDR se encontró en menor proporción en todas las formas clínicas, y aumentó con la severidad de la enfermedad: 4,3 % en los asintomáticos; en los leves-moderados 7,7 % y en los casos recuperados de formas graves 9,1 %. Se observó que quienes presentaron el genotipo tt mostraron mayor probabilidad de presentar síntomas (OR = 2,081; 95 % IC: 0,243-17,842) y de desarrollar formas graves (OR = 1,200, 95 % IC: 0,217-6,638).

El estudio del inmunofenotipo linfocitario en adultos permitió identificar un menor conteo absoluto de linfocitos totales, CD3 +, CD3 + CD4 + y CD3 + CD8 + en los convalecientes que

Tabla 2. Odds ratios crudos y ajustados para los diferentes niveles de gravedad de la infección por SARS-CoV-2 según la presencia del alelo TNF α -308.A por regiones del país

Características	Sintomáticos vs Asintomáticos		Sintomáticos severos vs sintomáticos leves o moderados	
	OR Crudo (IC 95 %)	OR Ajustado (IC 95 %) †	OR Crudo (IC 95 %)	OR Ajustado (IC 95 %) †
Cuba	1,24 (0,91-1,70)	1,22 (0,89-1,68)	0,96 (0,51-1,79)	0,93 (0,49-1,75)
Oriente	4,00 (0,86-18,66)	4,05 (0,84-19,43)	4,41 (1,14-17,05)	4,62 (1,11-19,26)
Centro	1,15 (0,68-1,93)	1,14 (0,67-1,95)	0,83 (0,27-2,57)	0,75 (0,23-2,42)
Occidente	1,29 (0,84-1,99)	1,27 (0,82-1,98)	0,65 (0,25-1,73)	0,61 (0,23-1,64)

Fuente: Elaboración propia; † Ajustado por comorbilidad (hipertensión arterial, diabetes y obesidad)

presentaron formas asintomáticas y sintomáticas leves o moderadas de la enfermedad respecto al grupo control (figura 2A).

En el grupo de casos que padeció la forma grave de COVID-19 se observó un aumento de la frecuencia relativa de células CD3 + CD8 + y NK, así como una menor frecuencia relativa y absoluta de linfocitos CD19 +, menor frecuencia relativa de CD3+CD4+ y de la razón CD4 +/CD8 + (ver figura 2A).

Se observa (ver figura 2B) que en los convalecientes de COVID-19 los fenotipos de células T de memoria CD8 + de mayor frecuencia relativa fueron las TEMRA (34 %) y memoria central (24,8 %) ($p = 0,1889$, IC 95 %: -4,4674 a 22,437). La frecuencia de las células T CD8 + vírgenes (CD45RA + CD27 +) en los convalecientes de formas graves fue menor que en los controles expuestos (9,45 % vs 11,57 %, $p = 0,0379$). La frecuencia relativa de las células TEMRA T CD4 + fue mayor en los convalecientes de formas leves o moderadas (6,94 %) en comparación con los controles (3,91 %, $p = 0,0158$), y con los convalecientes de formas graves (4,32, $p = 0,0182$) y asintomáticos (4,22, $p = 0,476$).

Mediante análisis multivariado se identificó que en los casos que padecieron formas graves de COVID-19 el riesgo de presentar aumento de la frecuencia absoluta de NK + durante la convalecencia fue 3,97 veces mayor (OR ajustado: 3,97; 95 % IC: 1,47-10,8; $p = 0,007$). El riesgo de aumento de NK fue 1,06 veces superior (OR ajustado: 1,06; 95 % IC: 1,00-1,11; $p = 0,036$) por cada día transcurrido de la enfermedad aguda. Los convalecientes que cursaron con formas graves mostraron una tendencia a presentar aumento de la frecuencia relativa de las células NK+ (OR ajustado: 2,32; 95 % IC: 0,58-9,28; $p = 0,232$) así como de la frecuencia relativa (OR ajustado:

1,49; 95 % IC: 0,37-6,08; $p = 0,579$) y absoluta (OR ajustado: 3,23; 95 % IC: 0,95-11,0; $p = 0,061$) de células CD3 + CD8 +.

El promedio de tiempo de convalecencia de los casos estudiados fue de 65 días (ICR 56-77), sin diferencias entre los 3 grupos clínicos. El 62,2 % (95 % CI 59,1; 65,4) de los convalecientes poseía anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2 en suero. Se encontró un aumento de la seropositividad en los casos con síntomas: síntomas leves o moderados (74,7 %, 95 % CI 70,8; 78,7) y graves (77,6 %, 95 % CI 65,9; 89,2) versus asintomáticos (45,6 %, 95 % CI 40,7; 50,6). (figura 3A). Los casos con convalecencia superior a 90 días, mostraron la menor proporción de seropositividad a anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2 (52 %) (figura 3A).

La respuesta de IgG anti-RBD mostró una tasa de seroconversión del 66,3 % con un amplio rango de títulos de anticuerpos (media 1:713, rango: 1:100-1:7900). No se encontró relación entre las variaciones de los títulos de anticuerpos entre los individuos y la duración de la convalecencia.

Los títulos de NT50 también fueron variables ($N = 47$, desde 0 a 1:640 o superior, media: 1:160). Solamente el 36,2 % de los casos tenía NT50 igual o mayor que 1:160. El NT50 mostró correlación positiva con los títulos IgG anti-RBD (Spearman $r = 0,60$, ver figura 3B) y con la mVNT (Spearman $r = 0,75$, figura 3C). El 78,6 % (11/14) de los sueros con mVNT $\geq 1:160$ también tenían NT5 $\geq 1:160$. Estos datos sugieren que el ensayo molecular de inhibición es capaz de detectar anticuerpos neutralizantes contra el SARS-CoV-2.

Los títulos de mVNT ($N = 224$) mostraron un rango que osciló desde valores inferiores al valor límite de detección (1:20) hasta 1:1077, y mostraron una fuerte correlación po-

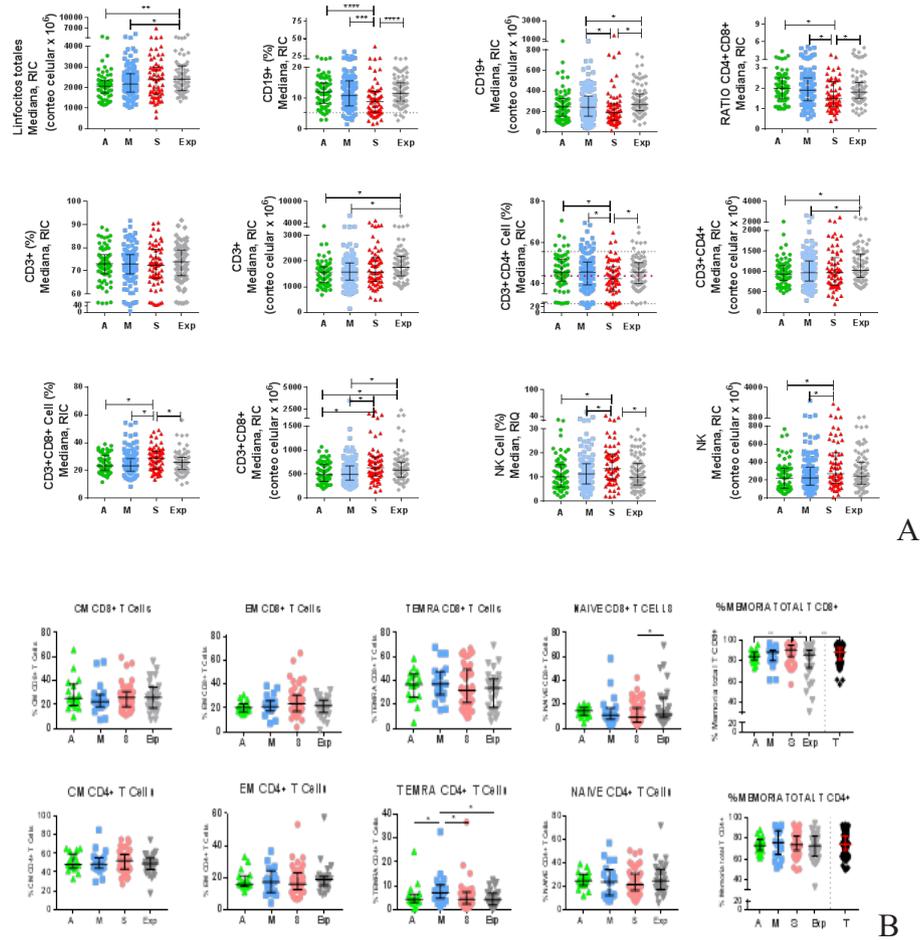


Fig. 2. Inmunofenotipo celular mediante citometría de flujo en pacientes cubanos que padecieron infección por el SARS-CoV-2 según severidad clínica y en expuestos no infectados. Se representan el análisis multiparamétrico (frecuencias relativas y absolutas) mediante citometría de flujo de las subpoblaciones celulares CD19 +, CD3 +, CD3 + CD4 +, CD3 + CD8 +, razón CD4 +/CD8 + y de las células NK. Asintomáticos (A, verdes, n = 67), con síntomas leves/moderados (M, azules, n = 122), graves (S, rojos, n = 62) y los expuestos que no enfermaron (Exp, grises, n = 88). B) Fenotipo de células T CD4+ y T CD8+ de memoria y naive: células de memoria central: MC, CD45RA-CD27+; memoria efectora: ME, CD45RA-CD27 -, células T efectoras terminalmente diferenciadas: TEMRA, CD45RA + CD27-) y las células naive (vírgenes) (CD45RA + CD27 +). Asintomático (A, verdes, n = 17), con síntomas leves/moderados (M, azules, n = 20), los graves (S, rojos, n = 48), el total de convalecientes estudiados (T, negro, n = 85) y los controles (Exp, grises, n = 29). Prueba de Mann Whitney: ****p < 0,0001, ***p < 0,001, **p < 0,01, *p < 0,05. RIQ: rango intercuartil. Fuente: Elaboración propia

sitiva (Spearman r = 0,84) con los títulos de IgG anti-RBD. El valor promedio de título de mVNT de la cohorte de validación empleada para establecer la correlación entre el test de neutralización convencional y el molecular fue superior que el de la muestra total estudiada (1:148 vs 1:109 respectivamente). Nuestros resultados sugieren que se requiere un umbral de título de IgG anti-RBD de 1:800 para lograr un título de inhibición de 1:200 y de neutralización de 1:190.

Se encontró respuesta de IgG anti-RBD en el 41 %, 78 % y 74 % de los casos asintomáticos, con síntomas leves o moderados y graves, respectivamente. Se comprobó el incremento gradual del valor medio de títulos de IgG anti-RBD con el aumento de la severidad clínica de la

COVID-19 (ver figura 3D): asintomáticos títulos medios de IgG 203 (IC 95 % 121; 285) < leves o moderados títulos medios de IgG 723 (IC 95 % 547; 900) < graves títulos medios de IgG 1330 (95 %CI 867; 1794). Los títulos de mVNT también fueron superiores en los casos graves, e incluso mayor en los casos con síntomas leves o moderados que en los asintomáticos (media mVNT 1:216, 1:103 y 1:36 respectivamente, ver figura 3E). Mientras el 58 % de los casos graves lograron títulos de inhibición por encima de 1:100, solo el 35 % de los leves o moderados y el 8 % de los asintomáticos (ver figura 3F) superaron este umbral. La avidéz de la IgG también fue significativamente mayor en el grupo de casos graves (ver figura 3G).

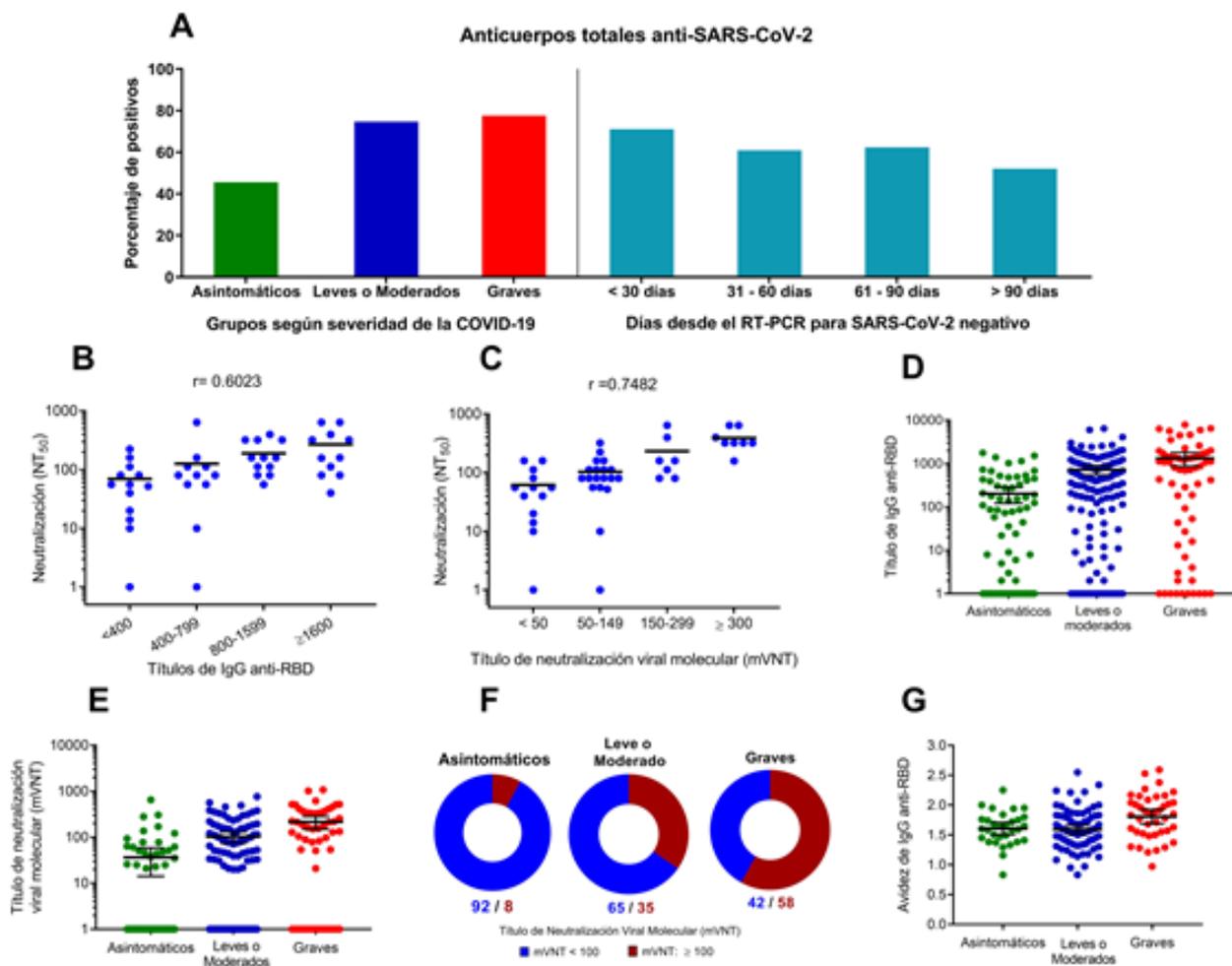


Fig. 3. Respuesta específica de anticuerpos y actividad neutralizante en convalecientes cubanos del primer brote de COVID-19. A) Presencia en suero de anticuerpos totales anti-SARS-CoV-2 (porcentaje de positivos) panel izquierdo: según la severidad clínica de la COVID-19. Panel derecho: según el tiempo transcurrido entre el PCR negativo para SARS-CoV-2 y la toma de muestra para detección de anticuerpos. B) Correlación entre los Títulos Neutralizantes (NT₅₀) y Los Títulos de IgG anti-RBD en convalecientes de COVID-19 (N = 47). C) Correlación entre NT₅₀ y los Títulos de Neutralización Viral Molecular (mVNT) en convalecientes (N = 47). Comparación de: D) Títulos de IgG anti-RBD en convalecientes de COVID-19 que fueron asintomáticos (n = 79), presentaron síntomas leves o moderados (n = 131) y graves (n = 63). E) Títulos de neutralización viral molecular (mVNT) que inhiben la interacción RBD-ACE2 en asintomáticos (n = 71), sintomáticos leves o moderados (n = 101) y graves recuperados (n = 53). F) Proporciones de pacientes con títulos de mVNT iguales o superiores a 100 (mVNT ≥ 100 rojo; mVNT < 100 azul). G) Avidez de la IgG anti-RBD en asintomáticos (n = 31), con síntomas leves o moderados (n = 76) y graves (n = 41). Fuente: Elaboración propia.

No se encontraron diferencias en los títulos de IgG anti-RBD ni mVNT relacionados con el sexo o color de la piel. La estrategia cubana para el control de la COVID-19 se centralizó a nivel gubernamental, e integró al sistema de salud pública con la industria biofarmacéutica, en acciones de investigación e innovación.⁽²⁰⁾

La mayor prevalencia en la edad pediátrica de casos asintomáticos encontrada en este y otros estudios representa un riesgo de diseminación silente de la infección, sobre todo a nivel intradomiciliario.⁽²¹⁾ La menor proporción de mestizos encontrada entre graves y fallecidos, comparado con su frecuencia en la

población podría deberse en parte, a que el índice de envejecimiento (13,7 %) de este grupo poblacional es inferior comparado con el de los cubanos de piel blanca (20 %) o negra (19,3 %).⁽²²⁾

El mayor riesgo de severidad y mortalidad asociado a la edad que se encontró en el estudio fue alarmante, por el acelerado envejecimiento poblacional de Cuba. La proporción de cubanos con 60 años o más se elevó del 18,3 % en 2012 al 20,8 % en 2019.^(23,24) A pesar de su elevada frecuencia entre los casos, padecer de HTA no aumentó el riesgo de desarrollar formas severas ni de mortalidad, contrario a otros estudios.⁽²⁵⁾

Los casos con grupo sanguíneo A estudiados mostraron una tendencia no significativa a un mayor riesgo de desarrollar formas sintomáticas y severas de COVID-19. No se encontró evidencia del papel protector del grupo sanguíneo O descrito. ⁽²⁶⁾

Se han encontrado niveles altos de interleucina TNF- α en pacientes con COVID-19 grave, aunque otros informes sugieren que otras citocinas están involucradas en la patogénesis de la enfermedad. ⁽²⁷⁾ Se estudió el polimorfismo -308^a > G ubicado en la región promotora del gen TNF- α , pues se ha referido que la presencia del alelo A se correlaciona con una mayor producción espontánea o estimulada de TNF- α . ^(28,29)

Los resultados sugieren que el genotipo TNF α .AG parece estar relacionado con formas sintomáticas de la enfermedad, lo que podría explicarse considerando que el TNF- α media en muchos síntomas presentes en COVID-19 como fiebre, tos, debilidad muscular y disfunción multiorgánica. ⁽³⁰⁻³³⁾ En los asintomáticos la frecuencia del genotipo TNF α -308.AG fue menor, y hubo un aumento del genotipo TNF α -308.GG, por lo que los individuos con el genotipo GG podrían estar predisuestos a presentar formas asintomáticas de la infección. ⁽¹⁰⁾

La presencia del alelo A mostró relación con un mayor riesgo de padecer la forma clínica grave de la COVID-19 solo para la región oriental de Cuba, similar a lo reportado en Mansoura, Egipto. ⁽³⁴⁾ El riesgo de desarrollar síntomas de COVID-19 tuvo una tendencia a aumentar en todas las regiones en individuos portadores del alelo TNF α .-308.A, aun cuando se realiza un análisis ajustado de este polimorfismo con comorbilidades asociadas a la gravedad de la enfermedad.

Entre las citocinas involucradas en la fisiopatología de la COVID-19 se menciona a la IL-12 and whether this polymorphism is associated with susceptibility to Crohn's disease (CD, codificada por un gen localizado en 5q33,3 en el que se han descrito varios polimorfismos. ⁽³⁵⁾ Se considera que el alelo C del polimorfismo A16974C de este gen afecta la secreción de IL-12 *in vitro*. ⁽¹¹⁾ El genotipo CC es el menos frecuente en todas las poblaciones, incluyendo la cubana y se ha asociado a la predisposición a varias enfermedades. ^(36,37) En esta investigación el genotipo CC solo se encontró en los casos con síntomas, lo cual podría ser indicio de la posible relación entre la forma clínica y los genotipos de esta variante.

El genotipo tt (homocigótico para el alelo mutado) polimorfismo TaqI del gen VDR es el menos frecuente en las poblaciones humanas, incluyendo la cubana y en los casos estudiados se relacionó con una mayor probabilidad de desarrollar formas sintomáticas o graves. ^(38,39) Los individuos con genotipo Tt, tuvieron mayor probabilidad de no tener síntomas. Pudiera, por tanto, interpretarse que el genotipo tt constituye un factor de riesgo, y el Tt una condición protectora. Sin embargo, dado que el intervalo de confianza para todos los

OR contienen el valor uno, no se puede afirmar categóricamente dichas deducciones. Los resultados son congruentes con las observaciones relativas al papel de la vitamina D y su receptor, en la clínica de la COVID-19. ⁽⁴⁰⁾

El análisis de las subpoblaciones linfocitarias en la convalecencia es importante para la detección temprana de posibles alteraciones que podrían implicar mayor susceptibilidad a otras infecciones, o la prolongación del proceso inflamatorio. El aumento discreto de los linfocitos T CD3 + CD8 + en los convalecientes de formas clínicas severas refuerza el papel de estas células frente a una mayor exposición antigénica y una respuesta inmune exagerada para lograr un aclaramiento viral efectivo. ^(41,42) La mayor frecuencia de células de memoria TEMRA en los individuos convalecientes que presentaron formas moderadas de la enfermedad, apoya el papel protector de estas células en el desarrollo de formas graves de la COVID-19. ^(43,44)

El estudio de la inmunidad humoral en los convalecientes cubanos es importante tanto para el conocimiento de la respuesta inmune a la infección natural, como para la comparación de respuesta con sujetos vacunados. Se encontraron varios hallazgos que apoyan el hecho de que la severidad de la COVID-19 impacta directamente en la cantidad, calidad y duración de la respuesta inmune humoral durante la convalecencia. Los niveles más elevados de activación y expansión clonal de linfocitos B encontrados en casos con formas graves, sugieren que en individuos con síntomas severos se produce una respuesta adaptativa más robusta. ^(45,46)

Con el envejecimiento es esperado que se produzca una deficiente respuesta inmune frente a antígenos nuevos; sin embargo, los casos estudiados de los grupos de mayor edad presentaron los títulos más elevados de anticuerpos neutralizantes. ⁽⁴⁷⁾ Consideramos que este hallazgo está directamente relacionado con la mayor prevalencia de pacientes que presentaron formas críticas o graves entre esta población más envejecida.

Como en otros estudios encontramos que la mayoría de los individuos no respondedores (ausencia de títulos de IgG anti-RBD y de inhibición) eran del grupo de asintomáticos. ^(43,48) Probablemente el aclaramiento viral podría ocurrir fundamentalmente a través de los mecanismos del sistema inmune innato.

Los protocolos terapéuticos cubanos que incluyen la terapia antiviral temprana, y el empleo en los casos graves de productos de la biotecnología como el péptido CIGB 258 (Jusvinza) con efectos antiinflamatorios, y el anticuerpo monoclonal anti-CD6 (Itolizumab, CIM, Cuba) con conocida acción inmunomoduladora, podrían modular e impactar en la respuesta inmune natural al virus. ⁽⁴⁹⁻⁵²⁾ Nuestros resultados mostraron que una elevada proporción de los convalecientes asintomáticos o que padecieron formas leves o moderadas de la enfermedad tenían

niveles bajos o indetectables de anticuerpos neutralizantes, resultando un grupo potencialmente susceptible de reinfección y consecuentemente los identifica como una población que puede beneficiarse de la vacunación específica.

La correlación positiva entre el ensayo de inhibición molecular y la neutralización convencional fue similar a la encontrada por Tan y colaboradores, y apoyan el uso del ELISA de inhibición molecular como un subrogado para el complejo ensayo de neutralización para evaluar tanto la inmunidad poblacional como la calidad de la respuesta de anticuerpos inducida por la vacunación durante los ensayos clínicos. ⁽⁵³⁾

Nuestros datos revelaron una fuerte correlación positiva entre los títulos de anticuerpos de clase IgG anti-RBD y los títulos inhibitorios, lo que coincide con estudio anterior. ⁽⁵⁴⁾ Encontramos que se requieren títulos de IgG anti-RBD iguales o superiores a 1:800, para alcanzar título neutralizante de 1:190, superior a la recomendación de 1:160 para plasma hiperinmune. ⁽⁵⁵⁾ Este umbral de títulos de IgG anti-RBD podría usarse como un marcador para seleccionar posibles donantes de plasma y buenos respondedores a la vacunación.

Las principales limitaciones de este estudio son: que el estudio humoral no fue longitudinal, y que no fue posible la realización de los estudios genéticos e inmunológicos en todos los participantes. Sin embargo, tiene fortalezas como es la inclusión de casos de todo el país, los datos clínicos se confirmaron en las historias clínicas hospitalarias, e incluyó la evaluación de la respuesta de anticuerpos específicos no solo en su magnitud sino también en su calidad. Los resultados aportaron elementos que fueron útiles para el diseño del ensayo clínico de fase I del candidato vacunal SOBERANA 01B en convalecientes cubanos de COVID-19, y se constituyeron en referentes propios para evaluar la respuesta postinmunización del resto de los candidatos vacunales cubanos. ⁽⁵⁶⁾

Conclusiones

El estudio realizado constituyó la investigación de mayor extensión en términos de porcentaje de participantes y alcance geográfico. Se trata a su vez del único estudio del país que ha combinado estudios de polimorfismos genéticos y marcadores inmunológicos con información clínico-epidemiológica en todos los grupos de edades. Sus principales hallazgos se resumen a continuación: la edad condiciona variaciones de importancia en la evolución clínica de la COVID-19, con mayor frecuencia de asintomáticos en los menores de 18 años y un riesgo notablemente superior de padecer formas graves o morir en los mayores de 60 años.

Los polimorfismos -308A > G del gen TNF *alpha*, A16974C del gen IL-12 p40 y TaqI del gen del VDR pudieran constituir factores predisponentes para el desarrollo de formas sintomáticas de la COVID-19, y el alelo TNF- α -308A en pacientes cubanos de la región oriente del país incrementó el riesgo de presentar formas graves en el primer brote de COVID-19.

Estos hallazgos confirman la importancia del abordaje de la susceptibilidad genética en las enfermedades infecciosas y la posibilidad de contar con marcadores inmunogenéticos que permitan una mejor estratificación del riesgo en pacientes con COVID-19 en el país.

Los pacientes recuperados de formas graves de COVID-19 presentan alteraciones de la respuesta inmune celular que persisten en la convalecencia y que podrían significar que este grupo sea susceptible a enfermedades mediadas por el sistema inmune en la etapa post-COVID. La magnitud y la funcionalidad de la respuesta de anticuerpos específicos inducida por el SARS-CoV-2 depende de la severidad de la enfermedad durante la fase aguda.

Las mayores proporciones encontradas de convalecientes de formas asintomáticas, leves o moderadas con niveles de anticuerpos neutralizantes bajos o no detectables podrían significar que persiste el riesgo de reinfección en estos casos y les identificó como una población que se beneficiaría de la vacunación específica anti-SARS-CoV-2.

La caracterización de la respuesta específica de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 tras la infección natural permitió contar con referentes propios para evaluar la respuesta postinmunización de los candidatos vacunales cubanos. Las particularidades y vulnerabilidades en grupos poblacionales encontradas en esta investigación son útiles para la actualización dinámica de los protocolos de actuación del país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sitio oficial del gobierno del Ministerio de Salud Pública en Cuba [Internet]. Cuba: 2020. Parte cierre del día 11 de junio de 2020 a las 12 de la noche. La Habana: Redacción Ministerio de Salud Pública de Cuba; [actualizado 15 dic 2021; citado 15 dic 2021]. Disponible en: <https://salud.msp.gob.cu/parte-de-cierre-del-dia-11-de-junio-a-las-12-de-la-noche>
2. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. EE. UU: World Health Organization. abril 2022. [actualizado 4 abr 2022; citado 4 abr 2022]; Disponible en: <https://covid19.who.int/>
3. Sitio oficial del gobierno del Ministerio de Salud Pública en Cuba [Internet]. Cuba: 2022. Parte de cierre del día 4 de abril a las 12 de la noche. La Habana: Redacción Ministerio de Salud Pública de Cuba; abr 2022. [actualizado 5 abr 2022; citado 5 abr 2022]. Disponible en: <https://salud.msp.gob.cu/parte-de-cierre-del-dia-4-de-abril-a-las-12-de-la-noche-4/>
4. Comisión económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Balance Preliminar de las economías de América Latina y el Caribe 2020, (LC/PUB.2020/12-P). [Internet]. Santiago de Chile: CEPAL; oct 2020. [citado 23 mar 2021]. Disponible en: <https://repositorio.cepal.org/bitstreams/245e6e2d-7409-4a75-a59e-468da76d48fe/download>

5. Díaz-Canel Bermúdez M, Núñez Jover J. Gestión gubernamental y ciencia cubana en el enfrentamiento a la COVID-19. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba [Internet]. 2020 [citado 23 mar 2021];10(2). Disponible en: <http://www.revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/881/893>
6. Mas Bermejo P, Sánchez Valdés L, Somarriba López L, Valdivia Onega NC, Vidal Ledo MJ, Sánchez IA et al. Equidad y respuesta del Sistema Nacional de Salud de Cuba ante la COVID-19. Rev Panam Salud Pública [Internet]. 2020 [citado 23 mar 2021]; 44:e138. Disponible en: <https://doi.org/10.266633/RPSP.2020.138>
7. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Protocolo de actuación nacional para la COVID-19. Versión 1.4 [internet]. La Habana: Ministerio de Salud Pública de Cuba, mayo 2020. [citado 23 may 2021]. Disponible en: <https://covid19cubadata.github.io/protocolos/protocolo-version-4.pdf>.
8. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: interim guidance 27 de mayo 2020. [Internet]. Geneva: World Health Organization; 27 de mayo 2020 [citado 23 Mar 2021]. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/332196/WHO-2019-nCoV-clinical-2020.5-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. QIAGEN. QIAsymphony® DSP DNA Instructions for Use (Handbook) [Internet]. 2015 ago [citado 21 de feb de 2021]. Disponible en: <https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=8bc88dad-4140-467e-a1f0-e390fd193865&lang=es-ES>
10. Sotomayor-Lugo F, Alemany-Díaz Perera C, Roblejo-Balbuena H, Zuniga-Rosales Y, Monzon-Benitez G, Suarez-Besil et al. The role of tumor necrosis factor alpha-308A > G polymorphism on the clinical states of SARS-CoV-2 infection. Egyptian Journal of Medical Human Genetics [Internet]. 2022 [citado 23 jun 2022];23(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s43042-022-00274-0>
11. Sotomayor-Lugo F, Marcheco-Teruel B, Rodríguez-Martínez K, Esperón-Álvarez A, Flores-Sánchez RM, Menocal-Alayón A et al. Relation of polymorphisms vascular endothelial growth factor (+ 405G > C) and tumor necrosis factor alpha (- 308A > G) with the embryo implantation in Cubans patient. Revista Médica Hospital General México [Internet]. 2020 [citado 23 jun 2022];83(2):52-58. Disponible en: <http://doi.org/10.24875/hgmx.19000064>
12. Seegers D, Zwiers A, Strober W, Peña AS, Bouma G. A TaqI polymorphism in the 3'UTR of the IL-12 p40 gene correlates with increased IL-12 secretion. Genes Immun [Internet]. 2002 [citado 23 Jun 2022];3(7):419-23. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363919>
13. Morales Peralta E, Zúñiga Rosales Y, Collazo Mesa T, Santos González E, Hernández Pérez Y, González Torres MA et al. A16974C polymorphism of the IL-12 p40 gene in Cuban patients having recovered from COVID-19. Bionatura [Internet]. 2022 [citado 14 sept 2022];7(1):1-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2022.07.01.34>
14. Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler JL, Bell DA. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. Cancer Res 1996 [citado 23 Jun 2022];56(18):4108-10.
15. Morales Peralta E, Zúñiga Rosales Y, Collazo Mesa T, Santos González E, Hernández Pérez Y, González Torres MA et al. TaqI polymorphism of the VDR gene: aspects related to the clinical behavior of COVID-19 in Cuban patients. Egypt J Med Hum Genet [Internet]. 2021 [citado 23 jun 2022];22(1):83. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s43042-021-00206-4>
16. Torres Rives B, Zúñiga Rosales Y, Mataran Valdés M, Roblejo Balbuena H, Martínez Téllez G, Rodríguez Pérez J et al. Assessment of changes in immune status linked to COVID-19 convalescent and its clinical severity in patients and uninfected exposed relatives. Immunobiology [Internet]. 2022 [citado 14 sept 2022];227(3):1522-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2022.152216>
17. Zúñiga-Rosales Y, Villegas-Valverde C, Torres-Rives B, Hernández-Reyes E. Diseño y optimización de un tubo policromático de citometría de flujo para inmunofenotipo linfocitario periférico. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 2020 [citado 7 Abr 2022];36(3) Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1151>
18. Manenti A, Maggetti M, Casa E et al. Evaluation of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using a CPE-based colorimetric live virus micro-neutralization assay in human serum samples. J Med Virol [Internet]. 2020 [citado 7 abr 2022];92(10):2096-104. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/jmv.25986>
19. Suárez Besil B, Marcheco Teruel B, Monzón Benítez G, Roblejo Balbuena H, González Torres MA, Camayd Viera I et al. Caracterización de la infección por SARS-CoV-2 en adultos mayores de Cuba, marzo-junio 2020. Revista Cubana de Salud Pública [Internet]. 2021 [citado 7 Abr 2022];47(4). Disponible en: <http://www.revsaludpublica.sld.cu/index.php/spu/article/view/3086>
20. Díaz-Canel Bermúdez M. ¿Por qué necesitamos un sistema de gestión del Gobierno basado en ciencia e innovación? Anales de la Academia de Ciencias de Cuba [internet] 2021 [citado 18 May 2021];11(1):4-5. Disponible en: <http://www.revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/1000>
21. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. N Engl J Med [internet] 2020 [citado 18 may 2021]; 382(18):1708-20. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>
22. Centro de estudios de Población y Desarrollo (CEPDE). El color de la piel según el Censo de población y viviendas de 2012 [internet]. La Habana: Oficina Nacional de estadística e Información de la República de Cuba; Feb 2016 [citado 23 may 2021]. 19-25 Disponible en: www.onei.gob.cu/sites/default/files/publicacion_completa_color_de_la_piel_0.pdf
23. Oficina Nacional de estadística e Información de la República de Cuba. Censo de Población y Viviendas Cuba 2012 [internet]. La Habana: Oficina Nacional de estadística e Información de la República de Cuba; enero 2014 [citado 23 may 2021]. 86. Disponible en: www.onei.gob.cu/sites/default/files/publicaciones/2023-05/censo_2012_0.pdf
24. Centro de estudios de Población y Desarrollo (CEPDE). El envejecimiento de la población. Cuba y sus territorios-2019 [internet]. La Habana: Oficina Nacional de estadística e Información de la República de Cuba; marzo 2020 [citado 23 may 2021]. Disponible en: https://www.onei.gob.cu/sites/default/files/publicaciones/2023-02/envejecimiento_completo_compressed.pdf.
25. Zhang SY, Lian JS, Hu JH, Zhang XL, Lu YF, Cai H et al. Clinical characteristics of different subtypes and risk factors for the severity of illness in patients with COVID-19 in Zhejiang, China. Infect Dis Poverty [internet] 2020 [citado 18 may 2021]; 9(1):85. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00710-6>

26. Pourali F, Afshari M, Alizadeh-Navaei R, Javidnia J, Moosazadeh M, Hessami A *et al.* Relationship between blood group and risk of infection and death in COVID-19: a live meta-analysis. *New Microbes New Infect* [internet] 2020 [citado 18 may 2021]; 37: 100743. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nmni.2020.100743>
27. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B *et al.* An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med* [Internet]. 2020 [citado 18 may 2021];26(10):1636-43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-1051-9>
28. Falvo JV, Tsytsykova AV, Goldfeld AE. Transcriptional control of the TNF gene. *Curr Dir Autoimmun* [Internet]. 2010 [citado 18 may 2021]; 11:27-60. Disponible en: <http://doi.org/10.1159/000289196>
29. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* [Internet]. 1997 [citado 18 may 2021];94(7):3195-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.94.7.3195>
30. Stefferl A, Hopkins SJ, Rothwell NJ, Luheshi GN. The role of TNF- α in fever: opposing actions of human and murine TNF- α and interactions with IL- β in the rat. *Br J Pharmacol* [Internet]. 1996 [citado 18 may 2021];118(8):1919-24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.1996.tb15625.x>
31. Jatakanon A, Laloo UG, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. Increased neutrophils and cytokines, TNF- α and IL-8, in induced sputum of non-asthmatic patients with chronic dry cough. *Thorax* [Internet]. 1999 [citado 18 may 2021]; 54(3):234-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1136/thx.54.3.234>
32. Reid MB, Lännergren J, Westerblad H. Respiratory and limb muscle weakness induced by tumor necrosis factor- α : involvement of muscle myofilaments. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2002 [citado 18 may 2021]; 166(4):479-84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.2202005>
33. Burdon D, Tiedje T, Pfeffer K, Vollmer E, Zabel P. The role of tumor necrosis factor in the development of multiple organ failure in a murine model. *Crit Care Med* [Internet]. 2000 [citado 18 may 2021]; 28(6): 1962-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200006000-00045>
34. Saleh A, Sultan A, Elashry MA, Farag A, Mortada MI, Ghannam MA, Saed AM, Ghoneem S. Association of TNF- α G-308 a promoter polymorphism with the course and outcome of COVID-19 patients. *Immunol Investig* [Internet]. 2020 [citado 7 mar 2022];23:1-12. <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1851709>
35. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 161561: last edited 27 jun 2022 [citado 1 de jul de 2022]. Disponible en: <https://www.omim.org/entry/161561?search=161561&highlight=161561>
36. Morales-Peralta E, Hernández-Pérez Y, Peñalver-Morales K, Lamas-Torres Y, Rumbaut-Castillo R, Collazo-Mesa T. Asociación de los polimorfismos T352C y A16974C con la lepra lepromatosa en pacientes cubanos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [Internet]. 2017 [citado 27 Nov 2021];16 Disponible en: <https://revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2033>
37. Sánchez de la Rosa R, Sánchez de la Rosa E, Rodríguez Hernández N. Interleucina-12 VS: Enfermedades infecciosas. *Rev Cuba Med* [Internet] 2001 jun [citado 27 nov 2021];40(2):118-21. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232001000200006&lng=es
38. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 601769: last edited 7 dic 2021 [citado 9 de mar de 2022]. Disponible en: <https://www.omim.org/entry/601769?search=601769&highlight=601769>
39. Morales Peralta E, Alvarez Fornaris MA. COVID-19: aspectos relacionados a la susceptibilidad genética y defectos congénitos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [Internet]. 2020 [citado 27 nov 2021];19(5). Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3595>
40. Delanghe JR, Speckaert MM, De Buyzere ML. ACE polymorphism and COVID-19 outcome. *Endocrine* [Internet]. 2020 [citado 27 nov 2021];70(1):13-4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12020-020-02454-7>
41. Thieme CJ, Anft M, Paniskaki K, Blazquez-Navarro A, Doevelaar A, Seibert FS *et al.* Robust T Cell Response Toward Spike, Membrane, and Nucleocapsid SARS-CoV-2 Proteins Is Not Associated with Recovery in Critical COVID-19 Patients. *Cell Rep Med* [Internet]. 2020 [citado 15 de jul de 2021];1(6):100092. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7456276/>
42. Shuwa HA, Shaw TN, Knight SB, Wemyss K, McClure FA, Pearlman L *et al.* Alterations in T and B cell function persist in convalescent COVID-19 patients. *Med* [Internet]. 2021 jun [citado 15 de julio de 2021];2(6):720-35.e4. Disponible en: [https://www.cell.com/med/abstract/S2666-6340\(21\)00115-X](https://www.cell.com/med/abstract/S2666-6340(21)00115-X)
43. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin J-B, Olsson A *et al.* Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell* [Internet]. 2020 oct [citado el 15 de jul de 2021];183(1):158-68.e14. Disponible en: [https://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674\(20\)31008-4](https://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674(20)31008-4)
44. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, Tham CYL, Hafezi M, Chia A *et al.* SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature* [Internet]. 2020 Agosto [citado 16 de jul de 2021];584(7821):457-62. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2550-z>
45. Zhang F, Gan R, Zhen Z, Hu X, Li X, Zhou F *et al.* Adaptive immune responses to SARS-CoV-2 infection in severe versus mild individuals. *Signal Transduct Target Ther*. [internet] 2021 [citado 18 may 2021]; 6:161 Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00540-4> PMID: 33875639. Corregido y republicado de: *Sig Transduct Target Ther* 2020; 5(1):1-11.
46. Woodruff MC, Ramonell RP, Nguyen DC, Cashman KS, Saini AS, Haddad NS *et al.* Extrafollicular B cell responses correlate with neutralizing antibodies and morbidity in COVID-19. *Nat Immunol* [internet] 2020 [citado 18 may 2021];21(12):1506-16. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41590-020-00814-z>
47. Pawelec G, Derhovanessian E. Role of CMV in immune senescence. *Virus Res* [internet] 2011 [citado 18 may 2021];157(2):175-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.09.010>
48. Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan J *et al.* Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat. Med.* [internet] 2020 Aug [citado 18 May 2021];26(8):1200-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>

49. Oficina de la OPS/OMS en Cuba. Papel de la ciencia cubana en el control y la prevención de la enfermedad. Boletín de la OPS/OMS en Cuba 2020;24(2):20-4.
50. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Protocolo de actuación nacional para la COVID-19. Versión 1.6 [internet]. La Habana: Ministerio de Salud Pública de Cuba, enero 2021. [citado 23 may 2021]. Disponible en: <https://covid19cubadata.github.io/protocolos/protocolo-version-6.pdf>
51. Venegas-Rodríguez R, Santana-Sanchez R, Peña-Ruiz R, Bequet-Romero M, Hernandez-Cedeño M, Santiesteban-Licea B *et al*. CIGB-258. Immunomodulatory peptide: compassionate use for critical and severe COVID-19 Patients. Austin J Pharmacol Ter [internet] 2020 [citado 08 May 2021];8(1):1119. Disponible en: <https://austinpublishinggroup.com/pharmacology-therapeutics/fulltext/download.php?file=ajpt-v8-id1119.pdf>
52. Hernández-Cedeño M, Venegas-Rodríguez R, Peña-Ruiz R, Bequet-Romero M, Santana-Sánchez R, Pentón-Arias E *et al*. CIGB-258, a peptide derived from human heat-shock protein 60, decreases hyperinflammation in COVID-19 patients. Cell Stress Chaperones [internet] 2021 May [citado 08 May 2021];26(3):515-25. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12192-021-01197-2>
53. Tan CW, Chia WN, Qin X, Liu P, Chen MI, Tiu C *et al*. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. Nat Biotechnol [internet] 2020 Sep [citado 08 may 2021];38(9):1073-78. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0631-z>
54. Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, Altman DR, Bailey MJ, Mansour M *et al*. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. Science [internet] 2020 [citado 18 may 2021];370(6521):1227-30. Disponible en: <https://doi.org/10.1126/science.adb7728>.
55. Investigational COVID-19 Convalescent Plasma. Guidance for industry. Maryland, USA: U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research, February 2021. Docket Number: FDA-2020-D-1825. [citado 23 may 2021]. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/136798/download>
56. Chang-Monteagudo A, Ochoa-Azze R, Climent-Ruiz Y, Macías-Abraham C, Rodríguez-Noda L, Valenzuela-Silva C *et al*. A single dose of SARS-CoV-2 FINLAY-FR-1A vaccine enhances neutralization response in COVID-19 convalescents, with a very good safety profile: An open-label phase 1 clinical trial. The Lancet Regional Health-Américas [internet] 2021 [citado 15 de sep 2021];4:100079. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100079>

Recibido: 27/11/2023

Aprobado: 27/02/2024

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a todos los pacientes, participantes en el trabajo de campo y la digitalización de los datos que participaron en este estudio.

Conflictos de intereses

José Ángel Portal-Miranda es el Ministro de Salud Pública de Cuba. El resto de los autores no posee conflictos de intereses relacionados con esta investigación.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Beatriz Marcheco-Teruel, Yaíma Zúñiga-Rosales, Hilda Roblejo-Balbuena, Giselle Monzón-Benítez, Francisco Sotomayor-Lugo, Beatriz Suárez-Besil, María de los Angeles González-Torres, Bárbara Torres-Rives, Yudelmis Álvarez-Gavilán, Maidalys Bravo-Ramírez, Nayade Pereira-Roche, Yudelkis Benítez-Cordero, Luis Carlos Silva-Aycaguer, Enrique Javier Gómez-Cabezas, Alina Alerm-González

Curación de datos: Yaíma Zúñiga-Rosales, María de los Angeles González-Torres, Giselle Monzón-Benítez

Análisis formal: Yaíma Zúñiga-Rosales, Beatriz Marcheco-Teruel, Luis Carlos Silva-Aycaguer, Enrique Javier Gómez-Cabezas

Investigación: Hilda Roblejo-Balbuena, Giselle Monzón-Benítez, Francisco Sotomayor-Lugo, Beatriz Suárez-Besil, Yudelmis Álvarez-Gavilán, Maidalys Bravo-Ramírez, Nayade Pereira-Roche, Yudelkis Benítez-Cordero, Teresa Collazo-Mesa, Lilia Caridad Marín-Padrón, Cira Rodríguez-Pelíer, Anitery Travieso-Tellez, José Pérez-Trujillo, Dayana García-Gómez, Daniel Quintana-Hernández, Juan Carlos Perdomo-Arriens, Diana Ferriol-Dorticós, María Dolores Noa-Machado, Yadira Cirera-Díaz, Mariley Sarmientos-Fleitas, Elizabeth Angulo-Cebada, Nora María Orive-Rodríguez, Elayne Esther Santana-Hernández, Ileana Vargas-Cruz, Margarita Aurora Argüelles-Arza, Ana Irsi Tissert-Tamayo, Rolando Acosta-Acea, Marianniz Díaz-Hernández, Ivette Orosa-Vázquez, Janoi Chang-Calderón, Tania Carmenate-Portilla, Belinda Sánchez-Ramírez, Irinia Valdivia-Alvarez, Aurora Delahanty-Fernández, Ariel Palenzuela-Díaz, Darien Ortega-León, Roberto Yaniel Romero-Carrazana, Lorenzo Somarriba-López, Ricardo Pereda-González, Roberto Rafael Sabina-Martínez, Sonia Bess-Constantén, Miguel Ángel Martínez-Morales, José Raúl de Armas-Fernández, Juliet María Enríquez-Puertas, Dagmar García-Rivera, Francisco Durán-García

Metodología: Beatriz Marcheco-Teruel, Yaíma Zúñiga-Rosales, Luis Carlos Silva-Aycaguer

Administración del proyecto: Beatriz Marcheco-Teruel

Supervisión: Beatriz Marcheco-Teruel, Francisco Durán-García, José Ángel Portal-Miranda

Visualización: Yaíma Zúñiga-Rosales, Beatriz Marcheco-Teruel, Luis Carlos Silva-Aycaguer, Tania Carmenate-Portilla, Ivette Orosa-Vázquez, Marianniz Díaz-Hernández, Janoi Chang-Calderón, Belinda Sánchez-Ramírez

Redacción-borrador original: Yaíma Zúñiga-Rosales, Beatriz Marcheco-Teruel, Ivette Orosa-Vázquez, Marianniz Díaz-Hernández, Tania Carmenate-Portilla

Redacción-revisión y edición: Tania Carmenate-Portilla, Belinda Sánchez-Ramírez, Enrique Javier Gómez-Cabezas, Hilda Roblejo-Balbuena, Giselle Monzón-Benítez, Luis Carlos Silva-Aycaguer, Alina Alerm-González, Dagmar García-Rivera

Financiamientos

Los recursos necesarios para esta investigación fueron garantizados por el Centro Nacional de Genética Médica, el Centro de Inmunología Molecular, el Centro de Inmunoensayo y el Ministerio de Salud Pública de Cuba.

Cómo citar este artículo

Zúñiga-Rosales Y, Marcheco-Teruel B, Roblejo-Balbuena H, Monzón-Benítez G, Sotomayor-Lugo F, Morales Peralta E *et al*. Primer brote de COVID-19 en Cuba. Factores de riesgo de morbimortalidad y

respuesta específica de anticuerpos en convalecientes. *An Acad Cienc Cuba* [Internet] 2024 [citado en día, mes y año]; No.(Vol):e1517. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1517>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-

NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).

© Los autores, 2024.

