

# **CAPÍTULO I**

# **INTRODUCCIÓN**

## INTRODUCCIÓN

En diciembre de 2019, aparece el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 con la posterior declaración de la pandemia, se atendió a una gran cantidad de pacientes graves en los hospitales y unidades de cuidados intensivos. Esto no solo ha puesto a prueba los recursos sanitarios existentes, sino que nos ha enfrentado con una elevada mortalidad ocasionada por la nueva enfermedad denominada COVID -19.

En este contexto de incertidumbre y ante la falta de un protocolo para análisis de laboratorio a pacientes con COVID-19 que ayuden a combatir y tratar la enfermedad, los profesionales de la salud acudieron a realizar los análisis de acuerdo a estudios realizados anteriormente en los primeros países afectados por la pandemia, China, Italia y España.

Bolivia es parte de la pandemia mundial de la enfermedad por COVID-19 causada por el coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV-2) Se confirma que el virus se había extendido a Bolivia cuando el entonces Ministro de Salud Aníbal Cruz informó los primeros dos casos el 10 de marzo de 2020. Se trataba de dos mujeres de los departamentos de Oruro y Santa Cruz, que habían regresado desde Italia. El 12 de marzo el gobierno de la presidente Jeanine Áñez adoptó las primeras medidas, declarándose estado de emergencia sanitaria por COVID-19. El sistema sanitario boliviano se ve prácticamente colapsado a partir de junio de 2020. Los centros de salud llegaron al límite de admisión de pacientes, cientos de personas murieron sin atención hospitalaria y los cementerios quedaron saturados.

Tarija fue uno de los últimos departamentos del país en presentar pacientes con COVID-19 sin embargo éstos se elevaron rápidamente, siendo el pico más alto entre los meses de julio y septiembre del presente año, uno de los parámetros más requeridos por los médicos tanto en consultorios privados y públicos basándose en experiencias en Wuhan China es la determinación del dímero D para evaluar el pronóstico del paciente con la enfermedad ya que está íntimamente asociado a la coagulación intravascular diseminada causada por el virus SARS-CoV-2

elevando el número de fallecidos en el departamento debido al déficit de equipos médicos, terapias intensivas escasas llegando solo a tener 50 respiradores en todo el departamento colapsando los hospitales.

Una de las pruebas inespecíficas en relación con la enfermedad COVID-19, es el dímero D que es el principal producto de la degradación de la fibrina por la plasmina y es generado en el paso final de la formación de trombos. Los valores de dímero D plasmáticos, por lo tanto, son un índice de activación de fibrina en la circulación. Se han demostrado niveles circulantes elevados de dímero D en casos, condiciones clínicas que pueden cursar con trombosis y fibrinólisis, tales como tromboembolismo venoso agudo, embarazo, traumatismo, neoplasias, sepsis, coagulación intravascular diseminada y eventos coronarios agudos.<sup>1</sup>

La medicina enfrenta grandes retos frente a lo desconocido como es el COVID-19 es la demostración; sin embargo, la demanda por adquirir conocimiento y emplearlo en intervenciones terapéuticas ha llevado a aplicar análisis laboratoriales que no tienen sustento en evidencia científica, basándose en hipótesis que pretenden explicar su fisiopatología. Si se aprende del pasado y de esta enfermedad, la intuición y el sentido común, no son suficientes para explicar procesos biológicos tan complejos; es una de las lecciones que deja COVID-19.

### **1.1. ANTECEDENTES**

“Utilidad del dímero D como factor pronóstico de severidad en pacientes con COVID-19 Autor: Cardoza Chang Brenda Deyanira. Julio de 2020 Trujillo – Perú. El objetivo de este estudio fue investigar la utilidad clínica del dímero D como factor pronóstico de severidad en pacientes con COVID-19. En el método se ha revisado las complicaciones tromboembólicas, las comorbilidades, la gravedad de la enfermedad y los resultados de las pruebas de coagulación a partir de estudios observacionales, ensayos clínicos aleatorizados y no aleatorizados relacionados con pacientes con COVID-19. En conclusión los pacientes con COVID-19 grave tienen un

nivel más alto de dímero D en comparación con aquellos que presentaron enfermedad leve y que a pesar del uso de anticoagulantes preventivos desarrollaron notablemente complicaciones trombóticas. El estudio de Cui S, Chen S en 81 pacientes con Covid-19 confirmados desde diciembre de 2019 hasta julio de 2020 donde el 25 % (20/81) presentaron tromboembolismo venoso con dímero D elevado, todos estos mayores de 60 años.<sup>2</sup>

“Dímero D y gravedad de la enfermedad por coronavirus 2019”

Autor: Lippi G.- Universidad de Verona. Italia

El objetivo de la revisión fue determinar si los niveles altos de dímero D y hallazgo frecuente en pacientes con COVID-19, se asocian con la gravedad de la enfermedad. Método: los artículos publicados hasta 2019 se identificaron mediante búsquedas en Medline, Scopus y la web of science. Se incluyeron estudios en los cuales se refirieron datos para los niveles de dímero D en pacientes con COVID 19 grave o sin COVID 19 grave. Conclusión: Estudios recientes mostraron que los niveles de dímero D están habitualmente aumentados en los pacientes con COVID 19 (entre 36 y 43% de los casos). Sin embargo los resultados del presente análisis global confirman que los valores de dímero D son incluso más altos en pacientes con COVID-19 grave en comparación con los sujetos con enfermedad leve.<sup>3</sup>

“Utilidad del dímero-D ajustado por edad en el diagnóstico de la Trombosis Venosa Profunda”

Autor: Diana P. Piñar Cabezos. Con fecha de publicación enero del 2017.

Los niveles de dímero-D (DD) se ven incrementados de forma fisiológica con la edad, por lo que la utilidad del DD en el algoritmo diagnóstico de la Tromboembolia pulmonar es menor conforme aumenta la edad de los pacientes, con una disminución en su especificidad. Objetivos: El objetivo principal de este estudio es evaluar la utilidad y seguridad del incremento

en el punto de corte del DD con la edad del paciente en el algoritmo diagnóstico de la Tromboembolia pulmonar. Comparar el DD ajustado por edad ( $DD = edad \times 10$ ) en los mayores de 50 años y el punto de corte de 750 ng/ml en los mayores de 60 años con el tradicional de 500 ng/ml y evaluar los tres puntos de corte en los diferentes rangos de edad. material y métodos: Se trata de un estudio observacional, retrospectivo, a partir de las ecografía-doppler solicitadas en el año 2013 por sospecha de tromboembolia pulmonar desde los Servicios de Urgencias del Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena y Hospital Universitario Los Arcos del Mar Menor de San Javier (Murcia). Se calculará la probabilidad clínica mediante la escala dicotómica de Wells y el DD se determinará mediante el método STA®-Liatest® D-DI. Los pacientes que no estén anticoagulados formarán parte de la “cohorte de estudio”. El análisis de los datos se realizará mediante el programa estadístico. Resultados: Un total de 652 exploraciones fueron incluidas finalmente en el estudio. De los pacientes un 40% eran hombres, la edad media era de 66 años y la TVP se confirmó en 119 pacientes (18%). La cohorte de estudio estaba formada por 580 pacientes, de los que 283 (49%) presentaban un Wells improbable. Utilizando el punto de corte de 500 ng/ml (DD500) un 11% de los pacientes con Wells improbable tenían un DD negativo. Con el DD corregido por edad (DDedad) este porcentaje ascendería al 20% y al 21% con el punto de corte de 750 ng/ml (DD750), lo que supondría un incremento absoluto de un 9-10% en el número de pacientes en los que se podría excluir la enfermedad de forma segura, ya que no hubieron más falsos negativos con la utilización de estos puntos de corte. En el grupo de pacientes de más de 80 años se obtendría un incremento del 7% con el DD 750 y del 15.3% con el DD edad, con respecto al DD 500. <sup>4</sup>

## **1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Resultados recientes obtenidos a partir de pacientes en el área de Wuhan en China han determinado que el dímero D es un marcador de generación de trombina y de fibrinólisis que está asociado a coagulación intravenosa diseminada, este siendo una complicación de la enfermedad del COVID-19 para lo cual el dímero D constituye un índice pronóstico relevante de mortalidad en pacientes sintomáticos por COVID-19 positivos. Debido a la escasez de información de la enfermedad es importante conocer cómo se comporta en nuestra región haciendo estudios del mismo, siendo una de las pruebas requeridas por los médicos destinados a pacientes ambulatorios que es en este caso, con sospecha de formación de coágulos en el organismo de ahí la importancia de la prueba en pacientes con COVID-19 que estén desarrollando coágulos, tempranamente poder dar tratamiento a tal complicación. Evitando pena y luto para las familias como es perder a un ser por una enfermedad poco o nada conocida.

## **1.3. FORMULACIÓN DE PROBLEMA**

¿Existe incremento de dímero D en pacientes con COVID -19?

## **1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Existe en nuestro país un gran número de personas afectadas con COVID-19 algunos presentando todos los síntomas característicos, otros asintomáticos sin darse cuenta, sin embargo en nuestro medio no hay estudios relacionados a la prevalencia del incremento del dímero D en pacientes con COVID-19 por tal motivo se realiza el presente trabajo. La medicina enfrenta grandes retos frente a lo desconocido, COVID-19 es la demostración. El análisis del dímero D es una prueba inespecífica para COVID-19 sin embargo entre los pacientes que presentan riesgos trombóticos acompañada de la calificación clínica que se asocian a la enfermedad de COVID-19, estos análisis ayudarán a tomar medidas farmacológicas para contrarrestar la gravedad de la enfermedad, inclusive salvar vidas en una etapa temprana. Las causas del incremento del riesgo de trombosis con la edad no son conocidas pero guardan relación con la

presencia de otras enfermedades que predisponen la gravedad de la enfermedad.

### **1.5. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la prevalencia del incremento del dímero D en pacientes con COVID-19 que acudieron al Laboratorio La Familia de Dios en el periodo de julio a noviembre del 2020.

### **1.6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Determinar el incremento del dímero D en pacientes con COVID-19 del Laboratorio la Familia de Dios en el periodo de julio a noviembre del 2020.
- ✓ Comparar según el sexo el incremento de dímero D en pacientes con COVID-19 del Laboratorio la Familia de Dios de julio a noviembre del 2020.
- ✓ Analizar el incremento de dímero D según su edad en pacientes con COVID-19 del Laboratorio la Familia de Dios de julio a noviembre del 2020.
- ✓ Establecer el promedio de edad de pacientes con COVID-19 ambulatorios que fueron al Laboratorio la Familia de Dios de julio a noviembre del 2020.

### 1.7. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

La cantidad de dímero D en pacientes con COVID-19.

### 1.8. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo	Operacionalización		Indicador
		Escala	Descripción	
Dímero D	Cualitativa ordinal	Normal	Menor a 500 ng/ml	Porcentaje de paciente con concentración menor a 500ng/ml
		Elevado	Igual o mayor a 500 ng/ml	Porcentaje de paciente con concentración mayor o igual a 500ng/ml
Sexo	Cualitativa nominal	Masculino	Según el sexo biológico de pertenencia del paciente.	Porcentaje de pacientes masculinos.
		Femenino		Porcentaje de pacientes femeninos.
Edad	Cuantitativa continua	35 a 49 años 50 a 64 años 65 a 79 años 80 a 94 años	Según la edad que se registró el paciente en el laboratorio	Porcentaje según la edad de pacientes con concentraciones de dímero D normales y elevados
Promedio de la edad	Cualitativa	35 a 94 años	Edad promedio de los pacientes que ingresaron por una prueba de dímero D	Promedio de la edad de pacientes que se realizaron la cuantificación de dímero D.

# **CAPÍTULO II**

## **MARCO**

### **TEÓRICO**

## 2.1. CORONAVIRUS

Los coronavirus son una extensa familia de virus que pueden causar enfermedades tanto en animales como en humanos. En los humanos, se sabe que varios coronavirus causan infecciones respiratorias que pueden ir desde el resfriado común hasta enfermedades más graves como el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) y el síndrome respiratorio agudo severo (SRAS). El coronavirus que se ha descubierto más recientemente causa la enfermedad por coronavirus COVID-19.<sup>5</sup>

Los estudios etiológicos iniciales dirigidos a los agentes comunes de la infección respiratoria aguda, incluyendo los agentes de la influenza aviar, del síndrome respiratorio agudo severo (SARS, del inglés, Severe Acute Respiratory Syndrome) y del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS, del inglés, Middle East Respiratory Syndrome), arrojaron resultados negativos. El uso de métodos de secuenciación profunda, que no requieren información previa sobre el agente que se busca, así como el aislamiento en cultivo de células, seguido de microscopía electrónica y de secuenciación profunda, demostró que se trataba de un agente viral nuevo, perteneciente al grupo de los coronavirus, y fue inicialmente llamado 2019-nCoV (novel coronavirus de 2019), genéticamente relacionado, pero distinto al agente del SARS.<sup>6</sup>

El virus del síndrome respiratorio agudo severo tipo-2 (SARS-CoV-2), causante de COVID-19, se ubica taxonómicamente en la familia Coronaviridae.<sup>7</sup>

Esta familia se subdivide en cuatro géneros: Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus. Muchos coronavirus de los cuatro géneros mencionados son causantes de enfermedades en animales domésticos, y por lo tanto son principalmente de interés veterinario. Los coronavirus de importancia médica conocidos hasta hoy son siete, y pertenecen a uno de los dos primeros géneros mencionados. Desde el punto de vista ecoepidemiológico se pueden

clasificar en dos grupos: coronavirus adquiridos en la comunidad (o coronavirus humanos, HCoV) y coronavirus zoonóticos.<sup>8</sup>

Los coronavirus humanos circulan libremente en la población de todos los continentes, suelen causar enfermedad respiratoria leve. Se estima que producen entre el 10% y el 30% de los casos de resfriado común. Por el contrario, los coronavirus zoonóticos circulan transitoriamente, pero pueden generar grandes epidemias de enfermedad respiratoria grave. El origen de los coronavirus de importancia médica, incluidos los coronavirus humanos, parece ser zoonótico. En particular, los betacoronavirus zoonóticos están filogenéticamente relacionados con coronavirus de murciélagos, los cuales podrían haber sido su fuente para el hombre, ya sea directamente o a través de un hospedero intermediario; dicho intermediario para el SARSCoV fue la civeta, un animal silvestre del grupo de los vivérridos, y para el MERS-CoV fue el dromedario. Aún no es claro cuál pudo haber sido el intermediario para el SARS-CoV-2, o si pasó directamente del murciélago al humano.<sup>9</sup>

### **2.1.1. ESTRUCTURA VIRAL**

Los coronavirus tienen forma esférica o irregular, con un diámetro aproximado de 125 nm. Su genoma está constituido por RNA de cadena sencilla, con polaridad positiva, y con una longitud aproximada de 30.000 ribonucleótidos. Poseen una cápside de simetría helicoidal, constituida por la proteína de nucleocápside (N). La proteína N es la única presente en la nucleocápside y se une al genoma viral en forma de rosario; se cree que participa en la replicación del material genético viral en la célula y en el empaquetamiento del mismo en las partículas virales. Los coronavirus tienen una envoltura lipídica con tres proteínas ancladas en ella, denominadas E (envoltura), M (membrana) y S (del inglés, spike, o espícula), la cual le da al virión (partícula infecciosa) la apariencia de una corona, y es la proteína que media la unión al receptor y facilita su fusión con la membrana celular.<sup>10</sup>

Las funciones de las proteínas M y E aún no están bien establecidas, pero se considera que podrían participar en el ensamblaje y liberación del virión. El genoma viral es notable por su extensión de aproximadamente 30 kb con 15 marcos de lectura abiertos (ORFs, del inglés, Open Reading Frames), que le permiten formar hasta 28 proteínas, un número inusualmente elevado para un virus con genoma RNA de cadena simple. La mayoría de las proteínas codificadas en dichos ORFs no hacen parte de la estructura del virión, y por lo tanto se denominan no estructurales (NS).<sup>11</sup> Además, el genoma cuenta con un extremo 5' no codificante, el cual tiene un gorro o cap, y un extremo 3' con una cola de poli (A), que le permiten actuar como RNA mensajero (mRNA). Aproximadamente las dos terceras partes codificantes del genoma hacia el extremo 5' están ocupadas por los ORFs 1a y 1b, los cuales generan poliproteínas largas, que mediante proteólisis producen una gran cantidad de proteínas no estructurales de tamaño variable. Entre estas se destacan la RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp), una helicasa y dos proteasas; estas últimas se encargan de partir las poliproteínas en sus fragmentos funcionales. La otra tercera parte del genoma, hacia el extremo 3', contiene los ORFs correspondientes a las proteínas estructurales (S, E, M y N) y a otras nueve proteínas pequeñas de función desconocida, que se traducen a partir de mRNAs subgenómicos.<sup>12</sup>

### **2.1.2. REPLICACIÓN VIRAL**

Al llegar a la célula blanco, la proteína S se une al receptor en la célula, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). La proteína S es luego clivada por una proteasa celular, en dos subunidades, S1 y S2. La subunidad S1 contiene el dominio de unión al receptor (RBD, del inglés, Receptor Binding Domain), en tanto que la subunidad S2 contiene el péptido para la fusión a la membrana celular. Luego de su entrada a la célula, mediante la formación de un endosoma, el virus es desenvuelto y el RNA viral es liberado al citoplasma, para iniciarse en los ribosomas la traducción de los genes ORF 1a y 1b en sus proteínas, las cuales realizan la replicación del genoma viral. Las proteínas estructurales codificadas

hacia el extremo 3' son traducidas a partir de mRNAs transcritos desde la hebra de polaridad negativa que se forma durante la replicación del genoma viral. Estas proteínas estructurales son posteriormente ensambladas con el genoma viral, en las membranas celulares internas del retículo endoplasmático y aparato de Golgi, formándose las nuevas partículas virales. Finalmente, las vesículas que contienen los nuevos viriones se fusionan con la membrana celular para liberar los virus al exterior de la célula, proceso llamado exocitosis.<sup>11</sup> Ver anexo (1).

### **2.1.3. TIEMPO QUE SOBREVIVE EL VIRUS EN LAS SUPERFICIES**

Lo más importante que hay que saber sobre el contacto del coronavirus con superficies es que éstas se pueden limpiar fácilmente con desinfectantes domésticos comunes que matarán el virus. Diversos estudios han demostrado que el virus de la COVID-19 puede sobrevivir hasta 72 horas en superficies de plástico y acero inoxidable, menos de 4 horas en superficies de cobre y menos de 24 horas en superficies de cartón.<sup>5</sup>

## **2.2. COVID – 19**

### **2.2.1. DEFINICIÓN**

COVID-19 es la enfermedad infecciosa causada por el coronavirus que se ha descubierto más recientemente. Tanto este nuevo virus como la enfermedad que provoca eran desconocidos antes de que estallara el brote en Wuhan (China) en diciembre de 2019. Actualmente la COVID-19 es una pandemia que afecta a muchos países de todo el mundo.<sup>5</sup>

### **2.2.2. PROPAGACIÓN DE LA COVID-19**

Una persona puede contraer la COVID-19 por contacto con otra que esté infectada por el virus. La enfermedad se propaga principalmente de persona a persona a través de las gotículas que salen despedidas de la nariz o la boca de una persona infectada al toser, estornudar o hablar. Estas gotículas son relativamente pesadas, no llegan muy lejos y caen rápidamente al suelo. Una persona puede contraer la COVID-19 si inhala las gotículas procedentes de una persona infectada por el virus. Por eso es

importante mantenerse al menos a un metro de distancia de los demás. Estas gotículas pueden caer sobre los objetos y superficies que rodean a la persona, como mesas, pomos y barandillas, de modo que otras personas pueden infectarse si tocan esos objetos o superficies y luego se tocan los ojos, la nariz o la boca. Por ello es importante lavarse las manos frecuentemente con agua y jabón o con un desinfectante a base de alcohol. La OMS está estudiando las investigaciones en curso sobre las formas de propagación de la COVID-19 y seguirá informando sobre las conclusiones que se vayan obteniendo.<sup>5</sup>

#### **2.2.2.1. FISIOPATOLOGÍA DEL COVID-19**

El COVID-19 es una infección viral producida por el SARS-CoV-2, que afecta principalmente las vías respiratorias bajas, en los casos severos podría producir una respuesta inflamatoria sistémica masiva y fenómenos trombóticos en diferentes órganos.

El SARS-CoV-2 contiene alrededor de 30 000 bases de RNA. Utiliza la proteína de espiga (S) densamente glucosilada para entrar a las células huésped y se une a con gran afinidad al receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), dicha enzima esta expresada en las células alveolares tipo II. El RNA del virus ingresa a las células del tracto respiratorio superior e inferior, y es traducido a proteínas virales. Ver anexo (2).

#### **2.2.3. SÍNTOMAS DE LA COVID-19**

Los síntomas más habituales de la COVID-19 son la fiebre, la tos seca y el cansancio. Otros síntomas menos frecuentes que afectan a algunos pacientes son los dolores y molestias, la congestión nasal, el dolor de cabeza, la conjuntivitis, el dolor de garganta, la diarrea, la pérdida del gusto o el olfato y las erupciones cutáneas o cambios de color en los dedos de las manos o los pies. Estos síntomas suelen ser leves y comienzan gradualmente. Algunas de las personas infectadas solo presentan síntomas levísimos.<sup>5</sup>

La mayoría de las personas (alrededor del 80%) se recuperan de la enfermedad sin necesidad de tratamiento hospitalario. Alrededor de 1 de cada 5 personas que contraen la COVID-19 acaba presentando un cuadro grave y experimenta dificultades para respirar. Las personas mayores y las que padecen afecciones médicas previas como hipertensión arterial, problemas cardíacos o pulmonares, diabetes o cáncer tienen más probabilidades de presentar cuadros graves. Sin embargo, cualquier persona puede contraer la COVID-19 y caer gravemente enferma. Las personas de cualquier edad que tengan fiebre o tos y además respiren con dificultad, sientan dolor u opresión en el pecho o tengan dificultades para hablar o moverse deben solicitar atención médica inmediatamente. Si es posible, se recomienda llamar primero al profesional sanitario o centro médico para que éstos remitan al paciente al establecimiento sanitario adecuado.<sup>5</sup>

El curso de la COVID-19 es variable y va desde la infección asintomática hasta la neumonía grave que requiere ventilación asistida y es frecuentemente fatal. La forma asintomática y las presentaciones leves son más comunes en niños, adolescentes y adultos jóvenes, en tanto que las formas graves se observan más en los mayores de 65 años y en personas con condiciones crónicas como diabetes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedad cardiovascular o cerebrovascular, e hipertensión, entre otras.<sup>12</sup>

Los síntomas más comunes, fiebre y tos, están presentes en la mayoría de los pacientes, pero no en todos los casos sintomáticos. La fiebre puede ser alta y prolongada, lo que se asocia a desenlace desfavorable.<sup>13</sup>

La tos puede ser seca o productiva con igual frecuencia, y a veces se acompaña de hemoptisis. La fatiga es común, y las mialgias y la cefalea ocurren entre el 10% y 20% de los casos. La disnea se ha reportado con frecuencias muy variables, desde 8% hasta más del 60%, dependiendo de los criterios de inclusión de cada estudio; la disnea puede aparecer desde

el segundo día pero puede tardar hasta 17 días, y dicha aparición tardía parece asociarse a desenlaces más graves.<sup>11</sup>

Otros síntomas de afectación del tracto respiratorio alto, como dolor de garganta, congestión nasal y rinorrea, se presentan en menos del 15% de los casos. Las manifestaciones gastrointestinales, como náuseas, vómito, malestar abdominal y diarrea, se presentan tempranamente entre el 10% y 20% de los pacientes. La anorexia se manifiesta en uno de cada cuatro casos, y es más frecuente a partir de la segunda semana de la enfermedad. Estos síntomas digestivos se correlacionan con mayor frecuencia de detección y mayor carga viral en materia fecal. Las alteraciones de los sentidos del gusto (ageusia) y del olfato (anosmia) también son frecuentes.<sup>12</sup>

Entre las complicaciones más comunes del COVID-19 se menciona la neumonía, presente virtualmente en todos los casos graves, el síndrome de dificultad respiratoria del adulto, la miocarditis, el daño renal agudo y las sobreinfecciones bacterianas, frecuentemente en la forma de choque séptico.<sup>10</sup>

Los trastornos de la coagulación, expresados por la prolongación del tiempo de protrombina, el aumento del dímero D y la disminución en el recuento de plaquetas, han llevado a pensar que la coagulación intravascular diseminada es uno de los fenómenos comunes en los casos graves, por lo que algunos recomiendan anticoagulación temprana. El compromiso de múltiples órganos se expresa por la alteración de las pruebas bioquímicas, como la elevación de las aminotransferasas, deshidrogenasa láctica, creatinina, troponinas, proteína C reactiva y procalcitonina.<sup>13</sup>

El SARS-CoV-2 entra a la célula utilizando como receptor a la ACE2. Al igual que el virus SARS-CoV, causante del SARS; sin embargo, la afinidad del SARS-CoV-2 por la ACE2 es de 10 a 20 veces mayor que la del SARS-CoV.<sup>9</sup>

La ACE2 se encuentra presente en mayores cantidades en el riñón, los pulmones y el corazón, y participa en la transformación de la angiotensina I en angiotensina 1-9, y de la angiotensina II en angiotensina 1-7. Estos productos finales tienen efectos vasodilatadores que reducen la presión arterial, con efecto protector frente a la hipertensión, la arteriosclerosis, y otros procesos vasculares y pulmonares. Se ha observado que los casos graves de COVID-19 presentan niveles de angiotensina II altos, y que sus niveles se correlacionan con la carga viral y el daño pulmonar.<sup>10</sup>

Por otra parte, se ha observado que el SARS-CoV-2 induce la producción de daño cardíaco agudo e insuficiencia cardíaca, con un aumento en los niveles de troponina asociados a una mayor mortalidad. En un estudio reciente llevado a cabo por Guo y colaboradores, se encontró que de 187 pacientes con diagnóstico confirmado de COVID-19, el 27,8% tenía daño cardíaco asociado a la infección.<sup>14</sup>

La alta incidencia observada de síntomas cardiovasculares parece relacionada con la respuesta inflamatoria sistémica. Se sugiere que en gran parte, la virulencia asociada a la infección por SARS-CoV-2 es debida a su poderosa capacidad de activar una respuesta inmune, con una cascada de citoquinas inflamatorias, como uno de los mecanismos para el daño a nivel de órganos.<sup>5</sup>

### **2.3. DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico de COVID-19 muestra limitaciones. Al inicio del brote epidémico se utilizó la secuenciación del genoma viral como método diagnóstico, pero esta técnica es costosa y poco práctica para el procesamiento de grandes cantidades de muestras.<sup>15</sup>

Inicialmente también se desarrolló una prueba de ELISA para detectar IgM e IgG contra la proteína de la nucleocápside viral del SARSCoV-2, pero tiene el inconveniente de que puede arrojar resultados falsos positivos al detectar anticuerpos contra otros coronavirus que causan resfriado común. También se han desarrollado pruebas serológicas rápidas con sensibilidades y especificidades variables.<sup>16</sup>

Las pruebas de ELISA basadas en la nucleoproteína (N) y en la proteína S de unión al receptor, parecen ser más prometedoras.<sup>17</sup>

En general, los estudios realizados hasta ahora, con los estuches comerciales disponibles y las pruebas de ELISA caseras, muestran que la seroconversión (IgM e IgG) ocurre en los primeros 7 días de iniciados los síntomas en el 40% a 50% de los pacientes, y para el día 15 en casi el 100% de ellos, aunque los resultados arrojan gran variabilidad en cuanto al momento de aparición de los anticuerpos, sensibilidad y especificidad. Hasta el momento, la FDA (del inglés, Food and Drug Administration), ante la emergencia, ha aprobado 6 pruebas serológicas, 2 de ellas rápidas, que detectan anticuerpos contra el SARSCoV-2. Sin embargo, de acuerdo con la OMS, no hay aún una prueba serológica que como prueba única pueda ser utilizada para el diagnóstico, y ha limitado su uso solo para algunos laboratorios que realizan pruebas de complejidad moderada a alta.<sup>18</sup>

Para el diagnóstico de rutina hoy en día, se utiliza la búsqueda del RNA viral en las muestras de secreciones respiratorias, saliva y de hisopado nasal o faríngeo, mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa en tiempo real (rRT-PCR).<sup>19</sup>

Hasta el momento, en Bolivia, esta prueba molecular se hace en laboratorios de referencia o de investigación autorizados por el gobierno, pero es previsible que pronto estará disponible en múltiples sitios. Se han desarrollado pruebas para detectar los genes RdRP y E del genoma viral, con el fin de hacerlas más específicas para el SARS-CoV-2.<sup>20</sup>

Otras pruebas moleculares se enfocan en el gen N, el cual junto con los anteriormente mencionados, son los genes que se predicen como más estables. El 14 de marzo, la Universidad Johns Hopkins anunció haber desarrollado una prueba que permitirá en poco tiempo el tamizaje masivo de hasta 1.000 personas al día, por parte de las entidades de salud, con resultados rápidos, en 24 horas o menos.<sup>21</sup>

Se ha demostrado que la carga viral por rRT-PCR es alta en la mayoría de los pacientes desde el inicio o incluso desde antes de la aparición de los

síntomas, haciendo pico después de 3 a 5 días, para luego comenzar a disminuir de forma significativa alrededor del día 10, para bajar a niveles no detectables alrededor del día 21, aunque se observa variabilidad no solo a nivel individual, sino entre las diferentes muestras en un mismo paciente.<sup>22</sup> Además, se ha reportado que pacientes dados de alta por tener la rRT-PCR negativa, han regresado por recaídas varios días después y han vuelto a ser positivos por esta prueba. En efecto, varios trabajos muestran que la excreción viral puede ser intermitente, ya sea por la persistencia del virus en órganos, una posible reinfección o por resultados falsos negativos en la rRT-PCR, lo que ha llevado a darse la recomendación de no dar de alta al paciente, a menos que sea negativo en dos muestras tomadas en diferentes días.<sup>23</sup>

También se ha encontrado que la carga viral de pacientes asintomáticos y sintomáticos tiene valores similares. Estos hallazgos podrían explicar en gran parte la facilidad con la cual esta infección se transmite, dificultando unas medidas de control eficiente, diferente al distanciamiento social. Aunque la rRT-PCR es una prueba muy sensible, también tiene limitaciones. Entre ellas, su resultado depende de que las muestras tengan suficiente cantidad de RNA viral, la pequeña ventana de detección a partir de las muestras de hisopados nasofaríngeos, la diferencia en los límites de detección de acuerdo con los primeros utilizados, los falsos positivos por la contaminación de las muestras durante su procesamiento, y la variabilidad en la excreción viral en cada paciente, demostrada en resultados negativos de la prueba, intercalados con resultados positivos en un mismo paciente.<sup>24</sup>

Esto hace que una prueba serológica bien fundamentada sea una necesidad como prueba complementaria a la molecular. Además, serviría para evaluar a aquellos contactos con casos sospechosos o probables, e incluso confirmados, que estén cumpliendo cuarentena en sus hogares, al igual que para los estudios epidemiológicos, y eventualmente para evaluar la eficacia de las vacunas.<sup>24</sup>

Los hallazgos radiográficos en el tórax pueden tomar el patrón de opacidad en vidrio esmerilado, infiltrados irregulares en uno o ambos campos pulmonares, y menos frecuentemente, infiltrado intersticial. En la tomografía es aún más común encontrar imágenes en vidrio esmerilado, infiltrados, engrosamiento de los septos y consolidaciones.<sup>25</sup>

### **2.3.1. PRUEBA DE ELISA**

La técnica ELISA (acrónimo del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: ‘ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas’) es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo; en ocasiones, con el fin de reducir los costos del ensayo, nos encontramos con que existe un anticuerpo primario que reconoce al antígeno y que a su vez es reconocido por un anticuerpo secundario que lleva enlazado la enzima anteriormente mencionada. La aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra.<sup>26</sup>

#### **2.3.1.1. PROCEDIMIENTO**

En la sangre de un paciente infectado por el virus SARS-CoV-2, pueden detectarse los anticuerpos producidos con una prueba de ELISA. A continuación, se describen los pasos de una prueba ELISA de anticuerpos típica.<sup>27</sup>

1. En el pocillo de la placa, donde está absorbido el antígeno específico de SARS-CoV-2, se agrega el suero del paciente.
2. Si el paciente tiene anticuerpos contra el SARS-CoV-2, éstos reconocen al antígeno formando el IC. Entre cada paso la placa es lavada con una solución de detergente suave para remover células, proteínas o anticuerpos que no son específicos.

3. Se agrega a continuación, el anticuerpo de captura o detección que está marcado con la enzima. El exceso de anticuerpo se elimina con un lavado.
4. Se agrega el sustrato de la enzima. Se incuba.
5. En los pocillos que contienen muestras de pacientes que han sido infectados con el SARS-CoV-2 y por lo tanto tienen anticuerpos contra el virus, los anticuerpos marcados con la con la enzima actúan sobre sustrato el cual cambia de color, lo que indica una prueba positiva.
6. Este cambio de color si bien puede verse a simple vista, se lee o cuantifica mediante un espectrofotómetro o lector de placa.
7. Si el paciente no hubiera sido infectado con COVID-19, el anticuerpo ligado a la enzima no se adhiere a nada en el pozo y el sustrato no cambia de color. Esto representaría una prueba negativa.

### **2.3.2. PRUEBAS INESPECÍFICAS PARA COVID-19**

En cuanto a las pruebas inespecíficas de laboratorio clínico, se ha encontrado que la linfopenia es uno de los hallazgos más típicos, en particular de los linfocitos T. La mitad de los pacientes muestran también aumento de las enzimas hepáticas alanino aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST), y un gran porcentaje de los afectados presentan niveles altos de proteína C reactiva, ferritina, dímero D, y de las enzimas lactato deshidrogenasa (LDH) y creatina quinasa (CPK), además de aumento del tiempo de protrombina (TP).<sup>25</sup>

Citoquinas como la interleuquina (IL)-6, la IL-10 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), también se encuentran usualmente elevadas, de acuerdo con el estado inmune del paciente; vale la pena mencionar que esta respuesta inmune del paciente es de vital importancia para la resolución de la enfermedad, a la vez que contribuye con la inmunopatogénesis asociada, si no es regulada en forma precisa.<sup>7</sup>

### **2.4. DÍMERO D**

### **2.4.1. CONCEPTO**

La activación del sistema de coagulación conduce a la síntesis de fibrina, componente fundamental de los trombos. La producción de fibrina se sigue de la activación del sistema fibrinolítico, que resulta en la generación de plasmina que se encargará de romper la malla de fibrina. En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre estos dos procesos opuestos. La disolución de la fibrina ligada conduce a la formación de productos específicos de su degradación, incluyendo el dímero D que puede ser determinado en sangre total y plasma utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítomos localizados en el fragmento del D-dímero. El DD (fragmentos D de fibrina unidos covalentemente), es el resultado de la acción de la plasmina sobre la fibrina estabilizada por el factor XIII. La molécula de D-dímero se considera por tanto, que es un reflejo de la actividad global de formación y lisis de coágulos y dado que no se puede generar in vitro tras la recogida de sangre, su determinación se considera indicador de la actividad hemostática in vivo.<sup>28</sup>

### **2.4.2. ESTRUCTURA**

El antígeno D-dímero es un marcador único de degradación de la fibrina que se forma por la acción secuencial de 3 enzimas: trombina, FXIIIa y plasmina. En primer lugar, la trombina convierte el fibrinógeno plasmático en monómeros de fibrina. Estos monómeros de fibrina se asocian con fibrinógeno o fibrina para formar protofibrillas unidas por enlaces no covalentes que polimerizan y sirven como sustrato para activación del FXIII y formación de plasmina. La trombina queda asociada a la fibrina y activa al FXIII que circula unido al fibrinógeno. El complejo formado por polímeros de fibrina soluble, trombina y FXIII plasmático D-dímeros en el recién nacido promueve la formación de FXIIIa cuando polimeriza la fibrina y continúa, después de que la fibrina ha formado un gel insoluble. Posteriormente, el factor XIIIa por la trombina, cataliza la formación de enlaces covalentes entre los dominios D en la fibrina polimerizada. El FXIIIa es una trasglutaminasa que cataliza la unión de una amida entre el grupo

amino de los residuos de lisina y el grupo carbonilo de residuos de glutamina, liberando amoniaco. Esta reacción puede producirse entre dos cadenas gamma, dos A- alfa o una gamma con una A-alfa de distintas moléculas. Hay dos tipos de entrecruzamiento: longitudinal, liga los extremos de monómeros alineados, y transversal entrecruza cadenas gamma de dos monómeros de hileras diferentes. El dímero D es indetectable hasta que es liberado de la fibrina por la acción de la plasmina, que degrada la malla de fibrina liberando los productos de degradación y exponiendo el antígeno dímero D.<sup>29</sup>

La plasmina formada en la superficie de la fibrina por la activación del plasminógeno, libera el antígeno del dímero D de los polímeros de fibrina antes y después de la formación del gel de fibrina. Así el antígeno de D- dímero detectado puede ser derivado tanto de los polímeros de fibrina soluble antes de su absorción en el trombo, como de los productos liberados por la acción de la plasmina sobre el trombo de fibrina insoluble. La plasmina produce una escisión aleatoria de las moléculas de fibrina estabilizada, a nivel de las uniones no covalentes entre los dominios D y E de los monómeros originales de fibrina, respetando las uniones covalentes entre dominios D de moléculas adyacentes, quedando el dímero D junto al fragmento E como producto final. Existen otros productos intermedios de mayor tamaño que se producen como consecuencia de este proceso, como son los denominados genéricamente oligómeros X y que incluyen fragmentos como los DY/YD o D-D/E, los cuales incluyen en su molécula el fragmento dímero D. De hecho, la molécula de dímero D libre representa una minoría dentro del dímero D en el recién nacido.<sup>29</sup>

### **2.4.3. FISIOLOGÍA**

El dímero D es producto de la degradación de la fibrina formados durante la lisis de un trombo. Es un conjunto de moléculas heterogéneas que tienen el mismo enlace proteico D=D, con un peso molecular de 180-200 Kdalton y una vida media circulante de 4-8 horas. Las elevaciones de dímero D se detectan en plasma a la hora del inicio de la formación del trombo. Ante la

presencia del trombo se produce una fibrinólisis continuada por lo que se podrán detectar niveles de dímero D durante este tiempo, que generalmente es de una semana. Después de un tromboembolismo venoso sus niveles aumentan cerca de ocho veces comparando con controles sanos, y estos niveles caen aproximadamente un cuarto del valor inicial entre la primera y segunda semanas desde dicho tromboembolismo. Alcanza niveles más altos en pacientes con tromboembolismo venoso proximal que, en aquellos con trombosis profunda de rodilla, con cifras máximas correspondientes a la mayor extensión de la trombosis. Fraser y cols usando imágenes de resonancia magnética nuclear demostraron que los niveles de dímero D se correlacionan con el volumen del coágulo y el área de superficie del mismo.<sup>30</sup>

Debido a que el 2-3% del fibrinógeno plasmático es degradado fisiológicamente a fibrina, pequeñas cantidades de dímero D son detectadas en plasma de sujetos sanos (cantidades generalmente inferiores a 250 ng/mL). Dado su peso molecular no es probable que atraviesen la barrera placentaria. Tiene un aclaramiento plasmático vía excreción urinaria fundamentalmente y a través del sistema retículo endotelial, aunque también está referido por algunos autores un aclaramiento hepático. D-dímeros en el recién nacido así, son eliminados normalmente por proteasas en los macrófagos del hígado y riñón. Después del evento trombótico, los niveles de dímeros pueden normalizarse en 15-20 días, y por ello se consideran más útiles para el diagnóstico dentro de los 11 primeros días desde el inicio de los síntomas. La formación y degradación de fibrina en exceso, y la consiguiente elevación de los dímero D, no sólo se produce en procesos de naturaleza trombótica. Se pueden producir también fragmentos D monoméricos como consecuencia de la acción de elastasas de los neutrófilos y de metaloproteasas, los cuales pueden dar reacciones cruzadas en las técnicas de determinación de los Dímeros-D en cuadros inflamatorios agudos o crónicos. Por tanto, una elevación de los niveles de dímero D por encima de los niveles normales no es específico ni sinónimo de la existencia de un proceso trombótico, sino

que deben valorarse las circunstancias clínicas que concurren en cada paciente antes de interpretar un resultado anormal de dímero D en personas con COVID-19.<sup>30</sup>

#### **2.4.3.1. COAGULACIÓN**

Se denomina coagulación al proceso por el cual la sangre pierde su liquidez convirtiéndose en un gel, para formar un coágulo. Este proceso potencialmente desemboca en la hemostasis, es decir, en el cese de la pérdida de sangre desde un vaso dañado, seguida por su reparación. El mecanismo de coagulación involucra la activación, adhesión y agregación plaquetaria, junto con el depósito y maduración de la fibrina. Los desórdenes de la coagulación son estados de enfermedad que pueden provocar hemorragias espontáneas, formación de hematomas o coagulación obstructiva (trombosis).<sup>31</sup>

El mecanismo de coagulación se encuentra altamente conservado a través de diferentes especies en la biología; en todos los mamíferos, la coagulación involucra a factores celulares (plaquetas) y factores proteicos (factores de coagulación). El sistema ha sido extensamente estudiado en humanos, especie donde es mejor comprendido.<sup>32</sup>

La coagulación comienza casi instantáneamente después de que una herida daña el endotelio de un vaso sanguíneo. La exposición de la sangre al espacio que se encuentra debajo del endotelio inicia dos procesos: cambios en las plaquetas, y exposición del factor tisular subendotelial al factor VII del plasma, lo cual conduce finalmente a la formación de fibrina. Las plaquetas inmediatamente forman un tapón en el sitio de la lesión; este proceso se denomina hemostasis primaria. La hemostasis secundaria ocurre en simultáneo; los factores de coagulación proteicos más allá del factor VII responden en una compleja cascada de reacciones enzimáticas para formar fibras de fibrina, que fortalecen el tapón de plaquetas.<sup>33</sup>

El proceso de coagulación implica toda una serie de reacciones enzimáticas encadenadas de tal forma que actúan como un alud o

avalancha, amplificándose en cada paso: un par de moléculas iniciadoras activan un número algo mayor de otras moléculas, las que a su vez activan un número aún mayor de otras moléculas, etc. En estas reacciones un zimógeno (precursor enzimático inactivo) y su cofactor glicoproteico son activados para convertirse en componentes activos que luego catalizan la siguiente reacción en la cascada, una enzima activa "recorta" una porción de la siguiente proteína inactiva de la cascada, activándola; finalizando en la formación de fibrina entrecruzada.<sup>34</sup>

En esta serie de reacciones intervienen más de 12 proteínas, iones de  $\text{Ca}^{2+}$  y algunos fosfolípidos de membranas celulares. A cada uno de estos compuestos participantes en la cascada de coagulación se les denomina "Factor" y comúnmente se lo designa por un número romano elegido de acuerdo al orden en que fueron descubiertos y con una a minúscula para indicar la forma activa.<sup>34</sup> Ver anexo (3).

#### **2.4.4. MÉTODOS DE LABORATORIO PARA SU CUANTIFICACIÓN**

La fibrina entrecruzada genera determinantes antigénicos únicos, uno de los cuales es el que enlaza dos dominios D de monómeros de fibrina adyacentes. Así, el D-dímero (dos fragmentos D de fibrina unidos covalentemente), son los productos de degradación de la fibrina más pequeños y mejor caracterizados. Existen varios métodos para la detección de los niveles de D-dímeros en sangre. Todos ellos son inmunológicos y utilizan anticuerpos monoclonales que reconocen epítomos presentes en el fragmento de D-dímero de la fibrina entrecruzada y que no se encuentran en productos de degradación del fibrinógeno o productos de degradación de la fibrina no entrecruzada. La detección del antígeno de dímero D requiere anticuerpos monoclonales específicos. Varios epítomos de anticuerpos monoclonales han sido mapeados y el determinante antigénico reconocido es una cadena de polipéptidos en el dominio-D que son conformacionalmente reactivos después de que el FXIIIa y la plasmina han modificado la proteína. Los anticuerpos frente al dímero D reaccionan no sólo frente a la molécula de D-Dímero libre procedente de la fibrina

estabilizada, sino también frente a los fragmentos intermedios de degradación de la misma e incluso de la propia fibrina completa, que contienen en su estructura el dímero D. También puede existir reacción cruzada con PDF y/ o detectar productos de degradación de fibrina generados por otro enzima diferente a plasmina como la elastasa. Los métodos actualmente disponibles para la determinación del D-Dímero no son iguales debido a que el antígeno está presente en productos de degradación de diferentes tamaños, los anticuerpos monoclonales reconocen diferentes epítomos. El formato, el estándar de calibración e instrumentación varía según el método empleado.<sup>28</sup>

Se ha intentado estandarizar y armonizar los distintos métodos empleados sin éxito, ello hace imposible la comparación de los resultados obtenidos entre cada uno de ellos, siendo así cada resultado método- específico. De ahí, que la mayoría de autores aconsejen conocer el tipo y características de la técnica disponible en cada centro y que los laboratorios utilicen métodos previamente evaluados en estudios clínicos publicados (idealmente dentro del hospital en el cual se aplican), para poder incorporarlas a la estrategia diagnóstica con un elevado margen de seguridad. La situación ideal, (como prueba de cribado), sería aquella en la que la técnica empleada para la determinación tuviera una alta sensibilidad para detectar todos los casos de enfermedad, con una moderada especificidad, para detectar solamente los casos de una enfermedad concreta (enfermedad tromboembólica).<sup>25</sup> Además de intentar reunir características como:

- Ofrecer resultados cuantitativos.
- Obtener resultados dentro de un amplio rango de valores.
- Poseer la menor reactividad cruzada posible con los Productos De degradación de Fibrina.
- Rapidez y disponibilidad (24h).
- Ser fácil de realizar y ser reproducible.

- Haber sido evaluada en estudios clínicos publicados (a ser posible en el hospital de su realización).

Los niveles de D-Dímero pueden aparecer elevados en una gran variedad de procesos tal y como se muestra en la Tabla, Ver Anexo (4); lo que hace que su determinación sea muy sensible pero poco específica. También se ha demostrado ampliamente que la especificidad del test es menor en ancianos (mayores de 80 años), pacientes ingresados.<sup>28</sup>

#### **2.4.4.1. MÉTODO ORO COLOIDAL**

El oro en estado coloide es una partícula electrodensas que se puede unir a diferentes tipos de proteínas empleadas como detectores de antígenos en las reacciones inmunocitoquímicas, como la proteína A o la inmunoglobina G. en el caso de que los antígenos se expongan en la superficie de secciones ultrafinas, el diámetro más común de las partículas de oro se encuentra entre 5 y 25nm. Más recientemente se han desarrollado partículas menores de 1nm (ultrapequeñas), las cuales tienen un poder de penetración mayor y proporcionan un sistema de marcadores con una sensibilidad más alta.<sup>30</sup>

La capacidad de producir partículas de oro coloidal con diferentes tamaños permite llevar a cabo un marcaje múltiple de los antígenos en la misma sección. Esta aplicación mejora significativamente la validez del método. Además, tiene facilidad para adherirse a diferentes proteínas, presentan un color rojo intenso al depositarse en los tejidos y no interfieren con pigmentos o enzimas endógenas. Una de las ventajas principales del oro coloidal es la precisión de localización que proporciona, ya que se puede unir a Anticuerpo primarios o secundarios con el fin de detectar la posición del epitopo con una exactitud definida solamente por el tamaño de las moléculas de Anticuerpos. En la mayoría de los procedimientos en los que se utiliza el oro coloidal, este se une a una IgG secundaria, de forma que la distancia entre el epitopo y el centro de la molécula de oro coloidal equivale a dos veces el diámetro de la IgG (8nm) más el radio de la partícula de oro. Esta distancia puede reducir con el uso de Anticuerpo más pequeños,

como los fragmentos Fab de Anticuerpos, cuyo diámetro es de 4 nm. En segundo lugar, el oro coloidal es un marcador de fácil cuantificación. Las partículas presentan una electrodensidad suficientemente elevada como para que sean identificadas de forma inequívoca con EM, contadas fácilmente y analizadas mediante un programa específico. Finalmente, la técnica de inmunomarcaje con oro se caracteriza por la alta especificidad de la molécula de anticuerpo. Ya que comprobar la especificidad es prácticamente imposible, para minimizar el riesgo de confusión entre las partículas se deben emplear controles positivos y controles negativos apropiados. Además, esa especificidad se debe confirmar bajo condiciones de inmunocitoquímica, las cuales no se suelen tener en cuenta.<sup>30</sup>

#### **2.4.4.1.1. PRINCIPIO DEL TEST**

La prueba rápida dímero D es un inmunoensayo de sándwich cromatográfica de una etapa diseñado para la medición cuantitativa de D-dímero en el plasma humano o sangre entera. Después de la adición de la muestra, D-dímero se unirá con un anticuerpo marcado con oro coloidal en la almohadilla de liberación de conjugado. El complejo resultante se desborda una membrana de nitrocelulosa, donde un reactivo de captura específico es pre-revestido y una línea roja se puede ver en la zona de prueba (T). Anticuerpo marcado con oro coloidal que no ha reaccionado en la muestra es capturado en la zona de control (C). La concentración de D-dímero en la muestra es directamente proporcional a la intensidad de la señal en la zona de prueba (T) y puede ser medido por un lector con una curva de calibración pre establecida.

**CAPÍTULO III**

**MARCO**

**METODOLÓGICO**

### **3. DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Es una investigación cuantitativa porque se recogerán y analizarán datos cuantitativos sobre variables, en función al tiempo que se realizó la investigación es de tipo retrospectivo debido a que se tomaron los datos de registros del laboratorio La Familia de Dios, tomando en cuenta la recolección de datos es de tipo transversal porque la investigación se realizó en un tiempo determinado en el mes de julio a noviembre del 2020, es descriptivo porque se describen una serie de variables en una población determinada y en un momento determinado. La unidad de análisis es el individuo y es observacional porque solo se describirá el fenómeno estudiado sin modificar a voluntad propia ninguno de los factores que interviene en el proceso.

#### **3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Esta investigación es de tipo no experimental porque no se manipulo deliberadamente las variables establecidas en la investigación.

#### **3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA**

Estuvo constituida por 45 pacientes que asistieron al Laboratorio La Familia de Dios con COVID-19 confirmado con la prueba ELISA y cuantificación de dímero D a solicitud médica, debido a la cantidad reducida de población se considera la misma como la muestra.

#### **3.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN**

##### **3.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes ambulatorios que asistieron al laboratorio La Familia de Dios.
- Se considera a todos los pacientes que dieron positivo para COVID-19 con una prueba de ELISA.
- Pacientes con inmunoglobulinas M reactivos a la prueba ELISA para COVID-19.

### **3.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Pacientes negativos para COVID-19.
- Pacientes positivos para COVID-19 con pruebas rápidas.

### **3.5. SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

Es de tipo probabilístico porque es un proceso que permitió a toda la población investigada tener la misma oportunidad de ser seleccionada, se tomó como muestra los datos de pacientes con cuantificación de dímero D que dieron positivo a la prueba COVID-19 con el método de ELISA en el Laboratorio La Familia de Dios. Se considera toda la población como muestra siendo un beneficio para el presente trabajo.

### **3.6. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN**

Es un método empírico de observación porque que se analizó datos recolectados de cuantificación de dímero D del Laboratorio la Familia de Dios.

### **3.7. METODOLOGÍA DEL TRABAJO DE CAMPO, MÉTODOS Y TÉCNICAS**

#### **3.7.1. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Se recolecto la información de los registros del laboratorio Policlínico La Familia tomando en cuenta pacientes que dieron positivo a la prueba ELISA para COVID-19 y además se hicieron como estudio complementario la cuantificación de dímero D, para lo cual se elaboró una planilla de recolección de datos que contenía toda la información necesaria. Los datos se recolectaron utilizando planillas de recolección. Ver anexo (5).

### **3.7.2. MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE DÍMERO D**

La cuantificación de dímero D se realizó mediante el Método de Oro Coloidal para el cual se utilizó un equipo automatizado llamado Analizador de inmunología marcado con oro coloidal (CT3).

### **3.7.3. APARATOS, MATERIALES Y REACTIVOS UTILIZADOS EN LA CUANTIFICACIÓN DE DÍMERO D**

- Analizador de inmunología marcado con oro coloidal (CT3)
- Micropipeta
- Punta de pipeta
- Temporizador o reloj
- Higrotermografo
- Tacos de reacción rápida.

### **3.7.4. PROCEDIMIENTO**

- Lleve la prueba a temperatura ambiente (20-25°C) antes de usar.
- Abrir la bolsa de aluminio saque la prueba y colóquela sobre una superficie uniforme.
- Aplicar 100 ul de plasma muestra o 120ul de sangre completa para muestrear bien.
- Poner la prueba en el analizador de inmunoensayo marcado con oro coloidal (CT3) para medir en 15 minutos.

### **3.7.5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

El CT3 lector cuantifica exactamente la concentración de dímero D. El rango de medición es 100 a 10.000ng/mL

#### **Prueba válida:**

La línea de control es visible el valor de concentración es leído por el CT3 lector.

**Prueba inválida:**

La línea de control no es visible

**3.7.6. VALORES DE REFERENCIA**

La prueba rápida para dímero D está diseñada para producir un resultado positivo a dímero D concentración a 500ng/mL o mayor. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia norma basado en una muestra representativa de la población local sana.

**3.8. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN**

El procesamiento de los datos se realizó de manera automatizada empleando un ordenador Windows 7, aplicando los siguientes paquetes informáticos

- Procesador de texto Microsoft Word.
- Base de datos Excel
- Para un mejor análisis de la información se utilizaron tablas y gráficos.

# **CAPÍTULO IV**

# **RESULTADOS**

#### 4.1. RESULTADOS

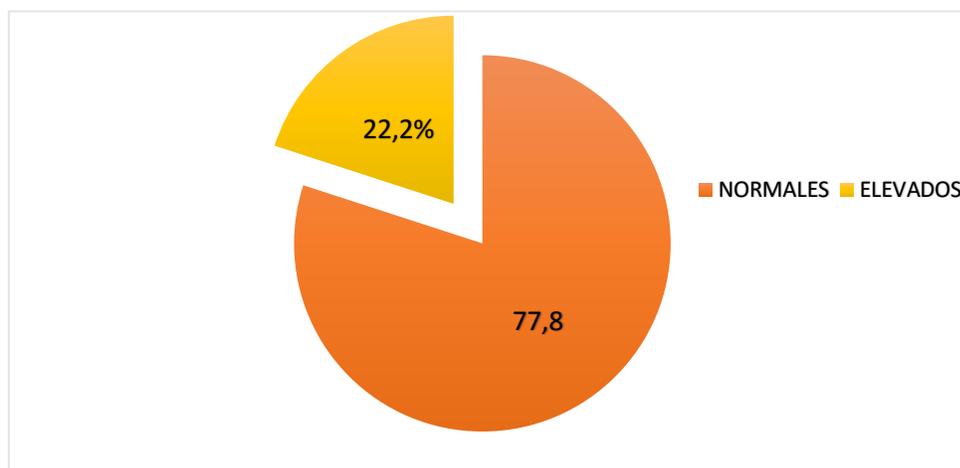
Al laboratorio La Familia de Dios acudieron 45 pacientes con COVID-19 confirmado a través de una prueba ELISA a los que su médico solicitó determinación del dímero D, con el siguiente resultado.

Tabla 1. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN DETERMINACIÓN DÍMERO D QUE ACUDIERON AL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020 TARIJA.

DIMERO D	PREVALENCIA	Nº	PORCENTAJE
	<b>NORMALES</b>	35	84,4%
	<b>ELEVADOS</b>	10	15,6%
<b>TOTAL</b>		45	100%

Fuente: propia

GRÁFICO 1. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN DETERMINACIÓN DEL DÍMERO D QUE ACUDIERON AL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020 TARIJA.



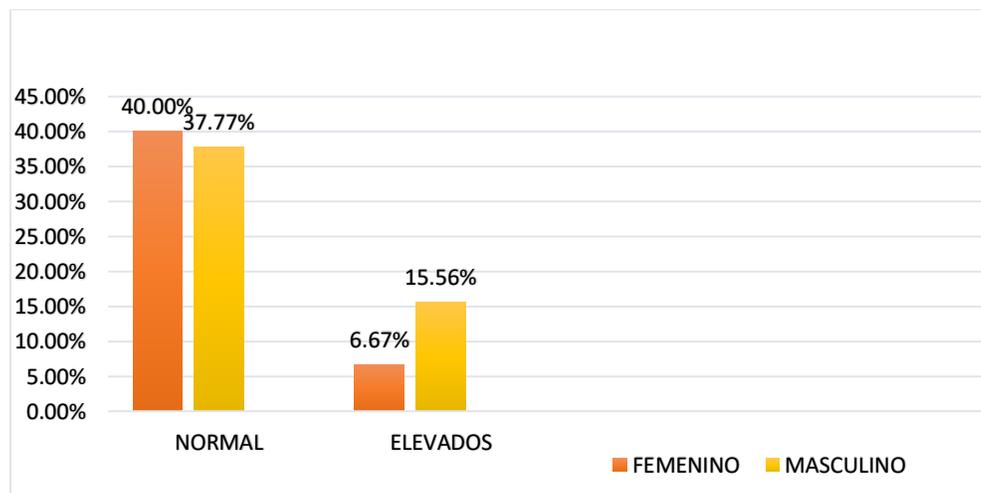
**Análisis de la tabla 1 y gráfico 1** refleja que del 100% de los pacientes con COVID-19 el 77,8% presenta valores normales del dímero D y el 22,2% presentaron dímero D elevados.

Tabla 2. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN EL SEXO, EN LA DETERMINACIÓN DEL DÍMERO D QUE ACUDIERON AL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020. TARIJA.

SEXO	PREVALENCIA			
	ELEVADOS		NORMALES	
	Nº	%	Nº	%
FEMENINO	3	6,67	18	40,00
MASCULINO	7	15,56	17	37,77
TOTAL	10	22,23	35	77,77

Fuente: propia

GRÁFICA 2. DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN EL SEXO, EN LA DETERMINACIÓN DEL DIMERO D EN EL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020. TARIJA.



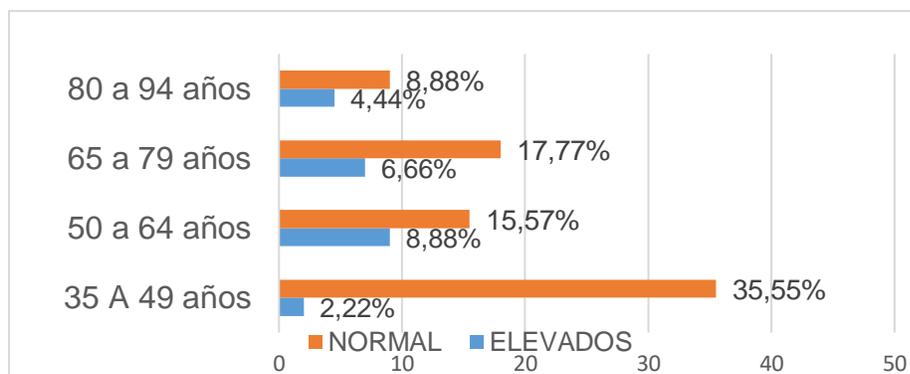
**Análisis de la tabla y gráfica:** 2 se refleja que del 100% de los pacientes con COVID-19 con un dímero D elevado el sexo femenino presenta el 6,67% y el sexo masculino el 15,56%.

Tabla 3 DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN LA EDAD, EN LA DETERMINACIÓN DEL DÍMERO D EN EL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020. TARIJA.

EDAD	PREVALENCIA			
	ELEVADOS		NORMALES	
	Nº	%	Nº	%
<b>35 a 49 años</b>	1	2,22	16	35,55
<b>50 a 64 años</b>	4	8,88	7	15,57
<b>65 a 79 años</b>	3	6,66	8	17,77
<b>80 a 94 años</b>	2	4,44	4	8,88
<b>TOTAL</b>	10	22,23	35	77,77

Fuente: Propia

GRÁFICO 3 DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN LA EDAD, EN LA DETERMINACIÓN DEL DÍMERO D. DEL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020. TARIJA

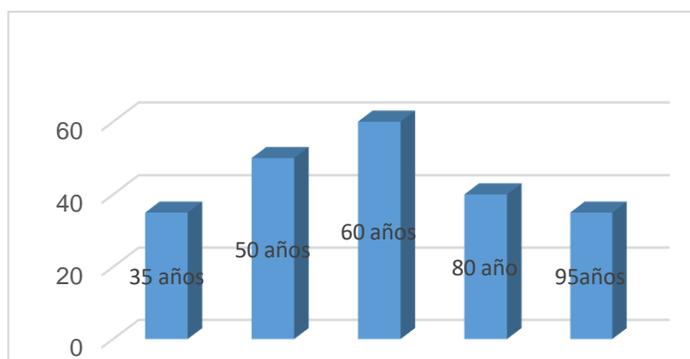


**Análisis de la tabla y gráfico:** 3 refleja que la edad donde se presentaron elevado para dímero D es de 50 a 64 años con 8,88% y 65 a 79 años con 6,66% pacientes.

Tabla 4 PROMEDIO DE PACIENTES CON COVID-19 SEGÚN SU EDAD QUE SE REALIZARON LA PRUEBA PARA DÍMERO D EN EL LABORATORIO LA FAMILIA DE DIOS. JULIO A NOVIEMBRE 2020. TARIJA.

	<b>Xi=MARCA DE CLASE</b>	<b>FRECUENCIA ABSOLUTA(Fi)</b>	<b>FRECUENCIA ACUMULADA(*Fi)</b>	<b>Xi*Fi</b>
<b>35 a 50 años</b>	42,5	17	17	722,5
<b>50 a 65 años</b>	57,5	11	28	632,5
<b>65 a 80 años</b>	72,5	11	39	797,5
<b>80 a 95 años</b>	87,5	6	45	525,5
<b>TOTAL</b>		45		2677,5

$$X = \frac{\sum X * Fi}{N} = \frac{X = 2677,5}{45} = 59$$



R. La media aritmética es de 59 años que se realizaron la prueba de dímero D en el laboratorio la familia de Dios.

**Análisis de la tabla y gráfico:** 4 se refleja que la media de los pacientes que ingresaron al laboratorio la Familia de Dios para realizarse una cuantificación de dímero D es de 59 años aproximadamente.

## 4.2. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A partir de los hallazgos encontrados aceptamos el planteamiento del problema que establece que existe un incremento del dímero D en pacientes con COVID -19 en los estudios realizados de la recolección de datos del Laboratorio La Familia de Dios.

Estos resultados guardan relación con lo que sostuvo Lippi G. institución en la investigación Universidad de Verona que indico en los estudios realizados en Wuhan que los niveles de dímero D esta habitualmente elevados en los pacientes con COVID -19 confirmada por laboratorio entre un 36% y 43% de los casos. Ello es acorde con lo que en este estudio se halla

Segun akiko Iwasaki profesora de inmunobiología y sus colegas observaron a unos cuarenta pacientes con COVID-19 los hombres constituyen la mayoría de las muertes a pesar que las mujeres representan una mayor proporción de casos confirmados además esta brecha es aún mayor en ciertos grupos de edad de 40 a 60 años los hombres representan el 69% de las muertes Ello es acorde con lo que en este estudio se halla

Pero, en lo que no concuerda los estudios referidos Lippi G con el presente es que ella menciona que se comprobó que los valores de dímero D fueron casi 5 veces (mediana de 2.400 ng/ml) mas elevados en los pacientes con COVID -19 grave en comparación con los pacientes con COVID -19 no grave. Nuestro resultados que arrojaron elevados no sobrepasan de los 1000ng/ml a excepción de un paciente nada mas, puede que debido a que fueron solo pacientes ambulatorios y sin riesgo graves de formación de trombos.

### 4.3. CONCLUSIONES

Terminada la investigación sobre la prevalencia del incremento de dímero D en pacientes con COVID-19 del Laboratorio La Familia de acuerdo con los objetivos planteados.

- Existe un incremento del dímero D en paciente con COVID-19, aunque no se manifiesta en porcentajes importantes a pesar de la problemática en salud que vive actualmente nuestro país.
- Los valores normales tienen un 84,4% en comparación a los valores elevados que es del 22,2% siendo más predominante los valores normales.
- El género masculino tenía el 15,56% de los pacientes con dímero D elevados en relación al género femenino que se llevó el 6,67% del total de la muestra estudiada.
- La mayoría de las personas que dieron elevados su dímero D eran personas mayor a los 50 años en relación a los pacientes menores de 50 años.
- La edad media de los pacientes que entraron en el Laboratorio La Familia de Dios para hacerse la prueba de dímero D es de 59 años demostrando una vez más que la mayoría de los pacientes son personas arriba de los 50 años de edad.

#### **4.4. RECOMENDACIONES**

Se recomienda estudios más a profundidad abarcando hospitales y clínicas para obtener datos más probables a la situación que atraviesan los pacientes y médicos a la hora de un diagnóstico apropiado que ayude a resolver y mejorar la calidad de vida de los pacientes salvaguardándolos.

Hacer estudios de comparación con otros países en relación al nuestro si las determinaciones del dímero son datos significativos en la prognosis de enfermedades especialmente la del COVID-19.

Implementar protocolos y en qué casos se recomienda una prueba de dímero D.

Recolección de muestras de los pacientes procedentes de la unidad de terapia intensiva para su seguimiento que ayuden al médico en caso así lo requiera.