

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1.1 INTRODUCCIÓN

El coronavirus es uno de los principales patógenos que ataca principalmente al sistema respiratorio humano. Los brotes anteriores de coronavirus (CoV) incluyen el síndrome respiratorio agudo severo (SARS) -CoV y el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) -CoV, que se han caracterizado previamente como agentes que suponen una gran amenaza para la salud pública. A fines de diciembre de 2019, un grupo de pacientes ingresó en hospitales con un diagnóstico inicial de neumonía de etiología desconocida. Estos pacientes estaban vinculados epidemiológicamente a un mercado mayorista de mariscos y animales húmedos en Wuhan, provincia de Hubei, China.

Los primeros informes predijeron el inicio de un posible brote de coronavirus dada la estimación de un número de reproducción para el nuevo coronavirus de 2019 (COVID-19, nombrado por la OMS (Organización Mundial de la Salud), el 30 de enero de 2020 la declara una emergencia sanitaria de preocupación internacional, basándose en el impacto que el virus podría tener en países subdesarrollados con menos infraestructuras sanitarias y la reconociera como una pandemia el 11 de marzo 2020.

No hay terapias específicas disponibles, y la gestión actual incluye restricciones de viaje, aislamiento del paciente y atención médica de apoyo. Ya se están probando varios productos farmacéuticos, pero se requiere una mejor comprensión de la patobiología subyacente.

Según un análisis de la OMS, el 80% de los infectados desarrollan síntomas leves (fiebre, tos y, en algunos casos, neumonía), el 14% síntomas graves (falta de aire y dificultad para respirar) y el 6% enfermedades graves (insuficiencia pulmonar y otras con riesgo de muerte).

Los síntomas más comunes son: la fiebre superior a 37, 5° (89%), la tos seca (68%) y el cansancio (38%) y pueden estar asociados o no a: dolor de garganta, dolor de cabeza, congestión nasal, falta de gusto, falta de olfato y dificultad para respirar.

Algunas personas no desarrollan síntomas, situación que puede darse generalmente durante el periodo de incubación, pero igual puede transmitir el virus aun cuando aparentemente estén sanas.

Se considera dentro de la población de riesgo a las personas adultas de edad avanzada, en las que hay un deterioro del sistema inmune, que se traduce en una capacidad disminuida para controlar infecciones. Otra población de riesgo es aquellas con enfermedad de base como hipertensión arterial, obesidad, diabetes, con patologías respiratorias crónicas, cardiovascular y cerebrovascular y pacientes inmunodeprimidos, etc.

El Covid-19 puede afectar a las personas de todas las edades, sin embargo, se ha visto que en los niños la sintomatología es más leve que en los adultos

Utilizando el criterio de la OMS para la determinación de anticuerpos mediante el método ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), se realiza con una muestra de sangre (suero/plasma), para determinar la presencia de inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG), que se generan en respuesta al contagio con SARS-CoV-2 y sus niveles. Esta prueba permite evaluar la respuesta inmunitaria de una persona tras la exposición al virus.

Determinación de la seroprevalencia de anticuerpos para Sars-cov2 en porcentaje en pacientes positivos se tomó en cuenta que la respuesta inmunitaria es altamente variable de un individuo a otro. Los anticuerpos IgM pueden ser detectables hasta 10 días después de haber presentado los primeros síntomas o de haber estado en contacto con un paciente positivo. Constituyen la respuesta inmunitaria inicial más inespecífica contra la infección. Los anticuerpos IgG se producen, por lo general, más tarde en el curso de la infección, siendo detectables alrededor del 14-15 día tras el inicio de los síntomas.

1.2 ANTECEDENTES

A nivel mundial: No se encontraron trabajos similares o de este tipo a nivel europeo, asiático y oceánico.

A nivel Latinoamérica

Se encontraron trabajos similares al realizado por la investigadora como ser:

En el trabajo realizado por: Marina Pifano, Laura Fischerman, Regina Ercole, Laura Muñoz, Nicolas Kreplak, Enio Garcia, Yamila Comes, Rosa Bologna

"Persistencia de anticuerpos IgG contra SARS-CoV2 en personal de salud - provincia de Buenos Aires". Cuyo objetivo fue: Evaluar la persistencia de los anticuerpos IgG contra SARS-CoV2, en trabajadores de salud del subsector público de la Provincia de Buenos Aires, y correlacionarla con variables demográficas (sexo, edad) y otros indicadores de salud (diagnóstico de COVID-19, comorbilidades y embarazo).

Resultados: La muestra para la realización de la segunda muestra de anticuerpos estuvo conformada por 388 personas pertenecientes a 23 hospitales de la Provincia de Buenos Aires. De este número, 2 de ellas, tuvieron un segundo resultado indeterminado en el segundo test serológico y por lo tanto fueron descartados para los análisis posteriores. La muestra estuvo constituida por personas entre 19 y 68 años de edad, la mayoría tenía entre 31 a 40 años seguido por los de 41 a 50 años. La media de edad fue de 41 años y la moda de 35 años. El sexo fue predominantemente femenino.

De las 386 personas evaluadas con resultado concluyente, 143 contaban con un primer resultado positivo entre los 30 y los 60 días anteriores a la segunda prueba. De estos, el 90% fue positivo y un 10% resultó negativo. En el caso de 153 personas, transcurrieron entre 60 y 90 días entre pruebas y en este subgrupo el 91% continuó siendo positivo y el 9% resultó negativo en la segunda prueba. 45 personas de la muestra contaban con un resultado positivo hacía más de 90 días y de éstas, el 73% mantuvo un resultado positivo y el 26,7% resultó negativo en la segunda prueba.

En el trabajo realizado por: Laura Muñoz, Marina Pifano, Andres Bolzán, Teresa Varela, Yamila Comes, Mariana Specogna, Leticia Ceriani, Jonatan Konfino, Nicolás Kreplak, Enio Garci. *“Vigilancia y Seroprevalencia: Evaluación de anticuerpos IgG para SARS-Cov2 mediante ELISA en el barrio popular Villa Azul, Quilmes, Provincia de Buenos Aires, Argentina “*, cuyo objetivo es: Evaluar la prevalencia de anticuerpos para SARS Cov-2 en el Barrio Villa Azul, del partido de Quilmes, junto con otras variables demográficas y de movilidad.

Resultados: El tamaño de la muestra fue de 311 casos y consintieron la aplicación del test 284 casos. De estos, 61% eran mujeres y el resto varones. En cuanto a la edad, la mayoría estaba entre 30 y 34 años. La edad media de la muestra fue de 40 años y la mediana de 37 años. La presencia de anticuerpos fue del 14,8% de los casos, la mayoría en mujeres y de 40 años que no salieron a trabajar y no utilizaron transporte público. El ser trabajador de la salud no representó un riesgo acrecentado para el contagio. Se observa que de cada un caso sintomático existirían 1,2 asintomáticos. Se observó que los contagios podrían haber sido dentro del hogar o el entorno comunitario ya que afectó a personas que no salían a trabajar.

A nivel Nacional:

Realizado por el Dr. Ramiro Narváez-Fernández Director Técnico Servicio Departamental de Salud de La Paz. Publicado en la “Revista Científica Imaraña del Hospital del Norte” de la ciudad de La Paz.

El objetivo de la presente edición de la “Revista Científica Imaraña del Hospital del Norte”, es actualizar a la comunidad científica con información proveniente de estudios realizados que orienten el manejo de los pacientes afectados en la Pandemia COVID-19 en actual progresión, así como ser una base para la realización de ulteriores.

En el Hospital del Norte, primer Hospital del 3º nivel de atención de complejidad en la ciudad de El Alto a 4 150 metros sobre el nivel del mar. Estudio descriptivo serie de casos entre el periodo 20 de abril al 20 de junio de 2020 el cual incluye los casos con reporte positivo mediante la prueba con reacción en cadena de la polimerasa con

transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) para el SARSCov-2. Se incluyen 11 casos con diagnóstico de COVID-19 (fase IIB y III), 7 del sexo masculino (64%), promedio de edad 51.9 años (desvío estándar 15.22 años), 59.86 años en varones y 38 años en mujeres.

1.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los brotes de enfermedades infecciosas se han vuelto más frecuentes y extremos en los últimos años y, a medida que las poblaciones continúan creciendo y el mundo se vuelve más interconectado, no muestran signos de detenerse. La actual pandemia de COVID-19 que afecta al mundo y que frena las economías se conoció hace un poco más de un año, pero no se pudo contener.

En sólo tres meses la epidemia del coronavirus (COVID-19) se propagó por el mundo mostrando sus devastadores efectos no sólo en el bienestar de las personas sino también en la economía de los países. En el corto plazo, los objetivos de salud pública apuntan a salvar vidas reduciendo la velocidad de propagación del virus para evitar que los sistemas de salud colapsen. Para ello, se han cerrado fronteras, bloqueando actividades económicas y aplicado medidas de aislamiento social con distintos grados de rigurosidad.

Bolivia es uno de los países más vulnerables a la epidemia; su sistema de salud es tan frágil que la única manera de evitar que la enfermedad se propague descontroladamente, con un alto costo en vidas humanas, es el bloqueo de actividades económicas y el aislamiento social estricto.

Desde los primeros reportes de la enfermedad de Covid-19 en Bolivia, por la diseminación del nuevo coronavirus (COVID-19) en el territorio nacional, acumuló hasta el momento un número de pacientes recuperados de coronavirus superó los 115.000, lo que representa el 80% de los más de 142.000 casos positivos registrados en Bolivia.

Hasta el martes pasado el departamento de Santa Cruz acumuló 39.227 pacientes recuperados, seguido por La Paz con 30.192, Tarija 13.035, Cochabamba 12.222, Chuquisaca 6.734, Potosí 4.372, Beni 5.173, Oruro 3.657 y Pando 587.

De acuerdo con el reporte epidemiológico, Bolivia acumuló a la fecha 142.664 casos, de los que 18.657 son activos; mientras que los casos descartados ascienden a 197.144 y los fallecidos suman 8.808.¹

Los especialistas en el área de la medicina señalan que los signos y síntomas de la enfermedad por coronavirus pueden aparecer entre 2 y 14 días después de la exposición al virus.

Se considera dentro de la población de riesgo a las personas adultas de edad avanzada, en las que hay un deterioro del sistema inmune, que se traduce en una capacidad disminuida para controlar infecciones. Otra población de riesgo son aquellas con enfermedad de base como hipertensión arterial, obesidad, diabetes, con patologías respiratorias crónicas, cardiovascular y cerebrovascular y pacientes inmunodeprimidos, etc. por eso la propagación del nuevo virus impone una enorme carga social y económica a las comunidades y sus servicios sanitarios en costos médicos y pérdida de la productividad, con la cual se puede implementar una estrategia de control epidemiológico en la política de sanidad en Bolivia

El Covid-19 puede tener consecuencias graves en grupos no “vulnerables” y está causando muertes entre gente joven asintomática, sin problemas de salud. Esto es algo que preocupa e inquieta a la investigadora.

Uno de los mayores problemas que enfrenta la contención de enfermedades infecciosas es la falta de insumos del sector público para la realización de la prueba PCR-RT en tiempo real (la reacción en cadena de la polimerasa inversa del inglés *reverse-transcription polymerase chain reaction*) utilizada como única prueba de diagnóstico para covid-19, esto debido al aumento de los casos positivos en territorio nacional y por

¹ <https://www.minsalud.gob.bo/4924-epidemiologia-afirma-que-el-80-de-los-casos-positivos-de-coronavirus-se-han-recuperado-en-bolivia>. La Paz, 11 nov (UC/MS)

el tiempo de espera para obtener los resultados de los mismos siendo un perjuicio para la población debido a que los pacientes pueden encontrarse asintomáticos o haber estado en contacto directo con un paciente Covid-19 positivo, provocando una alta tasa de mortalidad en pacientes vulnerables. Debido a esto la población tarijeña acude a laboratorios privados a realizarse otro tipo de pruebas en este caso la prueba ELISA con el objetivo de obtener un resultado a su inquietud por el virus.

1.4 FORMULACION DEL PROBLEMA

Por lo tanto, en base a esta problemática se define la siguiente pregunta:

¿Cuál será el porcentaje de la seroprevalencia de pacientes Covid-19 positivos que se realizaron la prueba de ELISA el laboratorio particular MEDICOMP de la ciudad de Tarija en el mes de Julio-Noviembre 2020?

1.5 JUSTIFICACIÓN

La prueba PCR-RT en tiempo real es la técnica de referencia para el diagnóstico de Covid-19. Sin embargo, al ser una prueba de alto costo y debido al alta demanda y extensas filas que se realizan en el sector público, la población acude a laboratorios privados para realizarse la prueba Elisa con la finalidad de recibir un diagnóstico oportuno y además que tiene un menor costo. Esta prueba Elisa para Covid-19 detecta la presencia de 2 tipos de anticuerpos o inmunoglobulinas de tipo IgM e IgG en (suero/plasma) mediante un ensayo colorimétrico que se generan en respuesta al contagio con SARS-CoV-2, que se realizan de 2 a 3 hrs y de esta manera las personas pueden recibir atención médica más rápida. De tal manera que se pueden identificar los contactos y comenzar lo más antes posible con el tratamiento e aislamiento para ayudar a detener la propagación del virus.

Los resultados de las pruebas de anticuerpos o inmunoglobulinas indican cuántas personas están cursando la enfermedad y aquellos que están en periodo de recuperación, incluyendo los que no tuvieron síntomas. Esto ayuda a determinar quiénes crearon resistencia o inmunidad al virus, aunque todavía no se sepa cuán inmunes son, y por cuánto tiempo.

Otro beneficio de la determinación de la cuantificación de las inmunoglobulinas o anticuerpos, en pacientes que se recuperaron por Covid-19 en el periodo de 15-28 días después de la enfermedad y de ya no presentar síntomas, es que estos puedan ser aptos para donar plasma. Y que este plasma pueda usarse para tratar pacientes que estén en estado grave a consecuencia del virus y así poder acelerar el proceso de recuperación.

Para el país no es conveniente una población enferma, ya que se requerirá de recursos económicos para curar o medicar a estos casos, además el gran alcance del virus que afecta a la mayoría de la población.

CAPITULO II
MARCO TEORICO

2.1 Marco Teórico

2.1.1 VIRUS

Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (su tamaño va de casi 20 a 300 nm de diámetro) y contienen un solo tipo de ácido nucleico (RNA o DNA) en su genoma. El ácido nucleico se encuentra rodeado por una cubierta proteínica, y envuelta por una membrana constituida por lípidos, contiene la información necesaria para la programación de la célula infectada que la hospeda para sintetizar macromoléculas virales específicas necesarias para la producción de la progenie viral. La unidad infecciosa en conjunto se denomina *virión*. Los virus son inertes en el entorno extracelular; se replican sólo en células vivas donde actúan como parásitos a nivel genético. Se replican de una manera diferente a la usada por las células, es decir no experimentan fisión binaria, producen numerosas copias de ácidos nucleicos virales y de proteínas de las cubiertas. Estas últimas se ensamblan para formar una cápside, que rodea y estabiliza el ácido nucleico viral y lo protege del entorno extracelular y facilita la adherencia y la penetración del virus en cuanto establece contacto con una nueva célula susceptible. La infección viral puede tener poco o ningún efecto en la célula hospedadora pero es posible que le cause daño o la muerte.

El universo de los virus tiene una gran diversidad en cuanto a estructura, organización y expresión genómicas, así como en las estrategias de replicación y transmisión. El margen de hospedaje para un virus determinado puede ser muy amplio o en extremo limitado. Es conocido que los virus infectan microorganismos unicelulares como micoplasmas, bacterias y algas tanto como a plantas y animales superiores².

2.1.2 ÁCIDOS NUCLEICOS VIRALES

Los virus se caracterizan, a diferencia de los otros organismos, por presentar una única especie de ácido nucleico constitutiva que puede ser **ADN o ARN**, monocatenario o bicatenario con estructura de doble hélice.

²<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2955§ionid=249741754#249741759>

Tipos de ADN virales

La mayoría de los virus ADN presentan un genoma bicatenario, con excepción de los parvovirus, constituidos por ADN monocatenario. Además, las moléculas de ADN viral pueden ser lineales o circulares.

La conformación circular que presentan los *Papovaviridae* y *Hepadnaviridae*, confiere una serie de ventajas al ácido nucleico respecto de la estructura lineal, otorgándole protección frente al ataque de exonucleasas, facilitando la replicación completa de la molécula y su posible integración al ADN celular. En el caso de los papovavirus, el ADN puede presentar tres conformaciones: la forma I corresponde a la molécula circular covalentemente cerrada y superenrollada sobre sí misma. Si se produce una ruptura en una unión en una de las cadenas, la doble hélice se desenrolla y resulta una molécula circular relajada (forma II). Por último, la forma III es el resultado de una ruptura en la otra cadena que origina una molécula bicatenaria lineal.

El ADN circular de los hepadnavirus tiene una estructura muy peculiar y de características únicas dentro de los ADN virales: una de las cadenas (S, corta) es incompleta, de manera que el 15-50% de la molécula es monocatenaria; la otra cadena (L, larga) presenta ruptura en un único punto de la molécula y además tiene una proteína unida covalentemente en el extremo 5'.

Tipos de ARN virales

Los ARN de los virus animales son en su gran mayoría de cadena simple, siendo *Reoviridae* y *Birnaviridae* las únicas familias que presentan como genoma ARN bicatenario. En algunos grupos de virus, el ARN genómico está segmentado en varios fragmentos, cuyo número es característico de cada familia.

Además de las características físicas y químicas mencionadas, la *polaridad* o sentido de la cadena de ARN es una propiedad fundamental utilizada para definir los distintos tipos de ARN viral. Se parte de definir como polaridad positiva la secuencia de bases correspondiente al ARNm y polaridad negativa a la secuencia complementaria a la del ARNm. Un virus es de cadena positiva cuando su ARN genómico tiene la polaridad que

le permite actuar como ARNm, o sea ser traducido en proteínas, inmediatamente después de haber entrado a la célula.

Por el contrario, en los virus de polaridad negativa el ARN genómico tiene la secuencia complementaria al ARNm viral; por lo tanto, cuando se produce la infección y el ARN viral entra en la célula debe sintetizar la cadena complementaria que será el ARNm. Para ello, los virus de polaridad negativa llevan en el virión asociada a su genoma una ARN polimerasa dependiente de ARN, enzima denominada transcriptasa, que efectúa la transcripción del ARN mensajero a partir del ARN genómico.

2.1.3 CÁPSIDE

La cápside es una cubierta proteica externa que encierra y protege al genoma viral de la acción de nucleasas y otros factores adversos del medio exterior. Además, en los virus desnudos carentes de envoltura, la cápside es la encargada de establecer a través de alguna de sus proteínas la unión con la célula que será parasitada por el virus. Asimismo, las proteínas de la cápside contienen los determinantes antigénicos contra los que el sistema inmune del huésped elaborará la respuesta de anticuerpos en defensa del organismo.

Hay dos tipos básicos de estructura que pueden presentar las cápsides virales: simetría *icosaédrica*, observándose el virión al microscopio de forma aproximadamente esférica, o *simetría helicoidal*, resultando nucleocápsides filamentosas tubulares pero que pueden estar encerradas dentro de una envoltura que confiere a la partícula forma esférica o de bastón.

Simetría icosaédrica

El icosaedro es un poliedro de 20 caras triangulares equiláteras con 12 vértices. Presenta simetría rotacional 5.3.2, por lo que tiene 6 ejes de simetría quintuple que pasan a través de pares de vértices opuestos; 10 ejes de simetría triple que pasan a través del centro de las caras, y 15 ejes de simetría binaria, a través de los puntos medios de las aristas.

2.1.4 ENVOLTURA

La envoltura de un virus es una membrana constituida por una doble capa lipídica asociada a glicoproteínas que pueden proyectarse en forma de espículas desde la superficie de la partícula viral hacia el exterior.

Los virus adquieren su estructura mediante un proceso de brotación a través de alguna membrana celular. El número de glicoproteínas que presentan los virus animales es muy variable.

Las glicoproteínas virales que forman las espículas son proteínas integrales de membrana que atraviesan la bicapa de lípidos presentando tres dominios topológicamente diferenciables: 1) un gran dominio hidrofílico hacia el exterior de la membrana; 2) un pequeño dominio hidrofóbico formado por 20-27 aminoácidos que atraviesa la capa lipídica y ancla la glicoproteína a la membrana; 3) un pequeño dominio hidrofílico hacia el interior de la partícula viral. Este último dominio interactúa con las proteínas de la nucleocápside, ya sea directamente o a través de una proteína viral no glicosilada denominada M (de matriz), que se encuentra en algunos virus animales por debajo de la bicapa.

Las glicoproteínas virales cumplen diversas funciones biológicas durante el ciclo de vida de un virus, siendo esenciales para la infectividad, ya que actúan: 1) en la adsorción a la célula huésped; 2) en el proceso de fusión que permite la entrada de la nucleocápside viral al citoplasma; 3) en la brotación, que permite la salida del virus envuelto a partir de la célula infectada. Además las glicoproteínas son el blanco de reacción para el sistema inmune tanto en la respuesta humoral como celular.³

2.1.5 Nomenclatura

El nombre de los virus obedece a distintas consideraciones. Algunas veces se debe a la enfermedad que ellos producen, por ejemplo, el virus polio se llama así porque produce la poliomiелitis. También puede deberse al nombre de los descubridores como el virus

³ <http://www.biologia.edu.ar/viruslocal/estructurayclasificacion.htm>

del Epstein-Barr, o a características estructurales de los mismos como los coronavirus. Algunos poseen un nombre derivado del lugar donde se los halló por primera vez, tal es el caso del virus Coxsackie o Norwalk.

El ICTV (International Committee on taxonomy of viruses) ha propuesto un sistema universal de clasificación viral. El sistema utiliza una serie de taxones como se indica a continuación:

--Orden (-virales)

-Familia (-viridae)

-Subfamilia (-virinae)

-Género (-virus)

-Especie ()

2.1.6 Formas de Transmisión

Las formas de transmisión viral son muy variadas: por vía aérea cuando respiramos, cuando los ingerimos en los alimentos, los que obtenemos directamente de nuestras madres, los que adquirimos por contacto sexual y los que se transmiten por picaduras de insectos como los mosquitos, entre otras. La piel representa una barrera impenetrable para un virus porque está conformada por capas de células muertas, y los virus necesitan células vivas para poder replicarse. Por lo tanto, a menos que la piel se rompa ya sea por heridas o picaduras de insectos, los virus requieren tomar otras rutas de entrada hacia las células del hospedero. Por ejemplo, atacan la barrera de mucosa que recubre al sistema respiratorio y reproductivo. Aun así, dicha barrera es altamente efectiva y ayuda a eliminar a la mayoría de los virus que quedan atrapados en ella.

2.1.7 INGRESO DEL VIRUS AL ORGANISMO

Una vez que logran pasar las barreras físicas, los virus se enfrentan a su contraparte natural: el sistema inmunológico, que está dividido en inmunidad innata y adaptativa. El

primero se llama así porque es un sistema de defensa que todos los animales parecen tener desde el nacimiento. Está constituido por cuatro líneas principales de defensa:

- 1) Los fagocitos, que son células blancas encargadas de “patrullar” los tejidos del cuerpo y eliminar desechos, restos celulares e invasores.
- 2) El sistema del complemento, conformado por diversas proteínas plasmáticas que trabajan en conjunto para destruir a los invasores.
- 3) El sistema de alerta de interferones, que son proteínas que se unen a pequeños receptores o cerraduras de la membrana celular y alertan sobre posibles ataques virales, en dicho caso la célula infectada cometerá suicidio (el término técnico es apoptosis).
- 4) Las células naturales asesinas (NKs), encargadas de destruir a todas las células que han sido infectadas por algún virus, (contiene la infección viral hasta cuando los Linfocitos B y Linfocitos T sean alterados), emiten una señal de alarma a otros miembros del “equipo defensivo”.

Cuando la cantidad de virus producidos en fases iniciales de alguna infección es muy alta, entra en acción el sistema inmune adaptativo, que está constituido esencialmente por anticuerpos, células B y T. los Linfocitos T no reconocen virus libres, pero si péptidos virales de 10 a 20 aminoácidos que les sean presentados mediante moléculas HLA-I, y al reconocerlos inducen la producción de Interferones y TNF(factor de necrosis tumoral alfa), que interfieren con su replicación e incrementa el reclutamiento de macrófagos, activan los Linfocitos B para que produzcan anticuerpos contra el virus y estimulan la actividad citotóxica de los LsTCD8 contra las células infectadas por ellos. Esta subpoblación de Linfocitos se incrementa hasta en 10.000 veces, convirtiéndose en un mecanismo eficiente de control viral. Estas células pueden actuar induciendo lisis por perforinas o apoptosis por moléculas Fas, que reacciona con un ligando, las moléculas CD95 de las células infectadas. Además los LsTCD8 frenan la replicación viral produciendo más interferones.

En cuanto a la inmunidad humoral los Linfocitos B por medio de los anticuerpos pueden reconocer tanto al virus libre como a los antígenos que se expresen en la membrana de

las células infectadas. Los anticuerpos pueden bloquear la unión de partículas virales a las células, impedir que las infecten e interrumpir su propagación

La respuesta contra la infección viral genera Linfocitos de memoria tanto B como T. La respuesta antiviral por los Linfocitos T es de corta duración, semanas, pero la generación de Linfocitos T de memoria asegura una respuesta pronta y eficaz ante un reingreso del mismo virus.

En la mayoría de las infecciones virales la respuesta de los Linfocitos B persiste por años y genera igualmente células de memoria que aseguran una respuesta masiva ante el reingreso del mismo virus, mecanismo que explica la resistencia inmune permanente que ocurre contra algunos virus como polio, viruela y sarampión.

En las reinfecciones por virus no mutantes, la respuesta inmune suele ser rápida y completa, por cuanto los anticuerpos IgA e IgG bloquean, en las mucosas y en la sangre, las partículas virales e impiden su adherencia a las células.

Entre las distintas formas en que los virus evaden las defensas del hospedero podemos destacar:⁴

2.2 CORONAVIRUS

Los coronavirus son virus de ARN grandes, Mono catenarios, de sentido positivo que infectan a los seres humanos, pero también a una amplia gama de animales.

2.2.1 Clasificación

Los 7 coronavirus

En la actualidad se conocen siete tipos de coronavirus que infectan humanos, cuatro de ellos (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 y HCoV-HKU1) son muy comunes y algunos de ellos están presentes en el resfriado común junto a otros agentes patógenos como los rinovirus, por lo que se estima que una proporción muy alta de la población ha desarrollado defensas frente a ellos estando mayoritariamente inmunizados.

⁴ https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/69_2/PDF/Virus.

Además de estos cuatro coronavirus, han aparecido de forma más reciente otros tres.

SARS-CoV

El primero de ellos en aparecer fue virus SARS-CoV (síndrome respiratorio agudo severo), que generó un brote en el sur de China en noviembre del 2002 y acabó infectando a más de 8 400 personas en 26 países de Asia, Europa y América, en los que hubo algo más de 800 muertos, lo que supuso una letalidad del 9,6 %. La pandemia que supuso el SARS-CoV fue contenida en poco más de 6 meses, dándose por controlada en el verano de 2003 y desde el año 2004 no se han reportado nuevos casos de la enfermedad.

MERS-CoV

Más recientemente, en 2012, apareció el virus MERS-CoV (síndrome respiratorio del Oriente Medio).

Desde el punto de vista genético es un primo lejano de SARS-CoV con el que comparte aproximadamente el 80% de su genoma, que se extendió a 27 países de Asia, Europa, África y Norte América infectando a menos de 2 500 personas (con al menos 850 muertes), lo supone una tasa de letalidad del 34,5 %.

El menor número de personas infectadas en esta epidemia se debió fundamentalmente al bajo índice de contagio del virus entre humanos. Los estudios han demostrado que el contacto directo con los camellos es un factor de riesgo de infección humana por MERS-COV.

Cabe mencionar que en 2015 hubo un brote de MERS-CoV en Corea del Sur originado por un viajero que visitó Oriente Medio, siendo éste el brote más relevante de la enfermedad fuera de Oriente Medio desde la epidemia de 2012.

SARS-CoV-2

En diciembre de 2019 se reportó la aparición del más comúnmente conocido como Covid-19 que infectan humanos, el SARS-CoV-2, es mucho más grave que otras

infecciones por coronavirus. El Sars es una enfermedad seudogripal que en ocasiones culmina en insuficiencia respiratoria progresiva grave. Este brote se originó en Wuhan, China, con más de 300 000 casos confirmados de la enfermedad Covid19 en 167 países y más de 13.000 muertos en un inicio según la John Hopkins Whiting School of Engineering, se ha convertido en una pandemia sin precedentes.

Los números nos indican que SARS-CoV-2 es extraordinariamente eficaz en la transmisión entre humanos probablemente debido a su tiempo de incubación (14 días), lo que le proporciona una gran transmisibilidad presintomática.

Pero al mismo tiempo presenta una tasa de letalidad mucho menor que la de SARS-CoV y MERS-CoV, que se estima del 2-4%, y una tasa de mutación baja de acuerdo con los datos acumulados en los ya más de 850 genomas secuenciados.

2.3 ESTRUCTURA GENETICA DE SARS-COV-2

El genoma de SARS-CoV-2 está formado por una única cadena de RNA monocatenario de polaridad positiva (+ssRNA) de aproximadamente 30.000 pares de bases. Esta cadena de RNA se asemeja, estructuralmente a un RNA mensajero (RNAm) de células eucarióticas.

El genoma de SARSCoV-2 se puede dividir en tres tercios. Los dos primeros tercios (más cerca del extremo 5') codifican para el gen de la replicasa viral. Este gen está constituido por dos ORF (ORF 1a y ORF 1b) los que, al comienzo de la infección, serán traducidos directamente en dos poliproteínas de gran tamaño llamadas pp1a y pp1ab. Estas poliproteínas posteriormente serán procesadas proteolíticamente para generar 16 proteínas no estructurales, las cuales estarán implicadas en la replicación del genoma viral y en la transcripción de RNAm subgenómicos (sgRNAs) El último tercio del genoma (más cerca del extremo 3') codifica los genes de las 4 proteínas estructurales principales proteína (S), proteína (M), proteína (E) y proteína (N).

1. S (spike): Le da la apariencia característica y sirve para unión y fusión del virus con el receptor de la célula (ECA2). Esta proteína estimula al sistema inmune a formar anticuerpos, y es también blanco de los linfocitos T citotóxicos.

2. M (membrana): Esta proteína se extiende sobre la envoltura y ayuda en el ensamble del virus.
3. E (envoltura): Se extiende por el envoltorio y se cree que sirve para el ensamble viral.
4. N (nucleocapside): Se asocia al RNA para formar la nucleocapside, y se cree que regula la síntesis viral. También es reconocida por linfocitos T.

2.3.1 MECANISMO DE PATOGENICIDAD

El virus puede acceder al tracto respiratorio a través de las membranas mucosas, especialmente la nasal, orofaríngea y laríngea y luego ingresar a los pulmones por continuidad. Posteriormente, puede ingresar a la sangre periférica desde los pulmones, causando viremia¹⁹ y finalmente atacando todos los órganos que expresan ECA2.

El receptor identificado como puerta de entrada para SARS-CoV-2, es una enzima adherida a la membrana celular de células ubicadas en el cerebro, corazón, arterias, endotelio respiratorio, pulmones específicamente en sus células alveolares tipo II (AT2, por sus siglas en inglés), hígado, intestinos, riñones y testículos²¹. Su función principal es reducir la presión arterial al catalizar la escisión de angiotensina II (un péptido vasoconstrictor) en angiotensina 1-7 (un vasodilatador).

El SARS-CoV-2 se une a toda célula corporal que expresa ECA2 y TMPRSS en su superficie, causando una respuesta inflamatoria sistémica. Esta se inicia con una tormenta de citocinas, la cual consiste en una liberación de grandes cantidades de citocinas proinflamatorias (IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , TGF β , etc.) y quimiocinas (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10)^{23,24}. Se trata de un violento ataque del sistema inmune, causando daño alveolar difuso, insuficiencia orgánica múltiple y muerte, en los casos graves de infección por SARS-CoV-2, al igual que ocurrió con SARS-CoV y ocurre con MERS-CoV.

La unión de SARS-CoV-2 a los receptores ECA2 ubicados en la superficie de las AT2 reviste especial importancia, ya que desencadena una cascada de inflamación en las vías respiratorias inferiores, ocasionando un Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda. La

lesión característica de este síndrome, el daño alveolar difuso, ha sido encontrado en la mayoría de los pacientes fallecidos por neumonía grave por COVID-19.

El SARS-CoV-2 no solo obtiene la entrada a las células pulmonares a través de ECA2. Posteriormente, regula de forma negativa su expresión en la superficie de estas células, a tal grado que la enzima se torna incapaz de ejercer efectos protectores sobre los órganos corporales. La regulación negativa de la expresión de ECA2 en las células pulmonares, conlleva a la acumulación sin oposición de angiotensina II y a la activación local del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Se ha postulado, pero no probado, que esta actividad no controlada de angiotensina II puede ser en parte responsable de la lesión orgánica en COVID-19, conllevando a lesión pulmonar aguda, remodelación desfavorable del miocardio, vasoconstricción periférica y permeabilidad vascular aumentada. Mientras que la activación local del SRAA puede modular las lesiones pulmonares provocadas por la agresión viral.

2.3.2 Traducción del Genoma Viral y Transcripción de las Proteínas de SARS-CoV-2.

Una vez completado el ingreso al citoplasma, la nucleocápside del virus se libera y permite la salida del RNA genómico viral. Esta secuencia de RNA actúa como un RNAm donde se transcribe directamente el gen de la replicasa viral (hacia el extremo 5') por medio de ORF 1a y ORF 1ab, traduciéndose en las poliproteínas pp1a y pp1ab. Posteriormente, pp1a y pp1ab son procesadas proteolíticamente por enzimas proteasas como quimi tripsina codificada viralmente (3CLpro), proteasa principal (Mpro) y una o dos proteasas similares a la papaína, lo que da lugar a la producción de las 16 proteínas no estructurales nsps designadas nsp1 a nsp16. Estas proteínas son necesarias para formar el llamado complejo replicasa transcriptasa (RTC), el cual es ensamblado en vesículas de doble membrana originadas a partir del retículo endoplasmático (RE). La mayoría de las proteínas no estructurales nsps, están implicadas en la replicación y transcripción genómica del virus ejerciendo actividades enzimáticas de tipo proteasa, RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp), helicasa, exorribonucleasa, endorribonucleasa y metiltransferasa. Finalmente, el complejo (RTC) replica y sintetiza

un conjunto de RNAm subgenómicos (sgRNA), que codifican para la elaboración de las proteínas estructurales principales (S), (M), (E), (N) y para las proteínas accesorias (hacia el extremo 3').⁵

2.3.3 Replicación del RNA, Ensamblaje de las Proteínas y Salida de SARS-CoV-2 de la Célula Huésped.

En la replicación de los CoV como SARS-CoV-2, el RNA monocatenario de polaridad positiva (+ssRNA) sirve de molde para sintetizar, inicialmente, una copia de RNA monocatenario de polaridad negativa (-ssRNA). A partir de esta copia de -ssRNA, se producirán las poliproteínas pp1a y pp1ab, las cuales, se procesarán y conformarán el complejo RTC). El complejo RTC, gracias a su actividad enzimática replicativa, crea nuevamente una copia del genoma +ssRNA original del virus a partir del molde de -ssRNA. El RNA genómico viral recientemente sintetizado, se asocia con la proteína (N) formando la nucleocápside. Las proteínas estructurales (S), (M) y (E); y las proteínas accesorias, expresadas a partir de los sgRNA, son elaboradas en las membranas del retículo endoplasmático (RE) y posteriormente transportadas al complejo de Golgi donde serán ensambladas junto con la nucleocápside para producir nuevas partículas víricas, las que serán exportadas hacia la membrana plasmática celular en forma de vesículas, produciéndose así la liberación del virus.⁶

2.4 SINTOMATOLOGIA DEL COVID-19

El COVID-19 afecta de distintas maneras en función de cada persona. La mayoría de las personas que se contagian presentan síntomas de intensidad leve o moderada, y se recuperan sin necesidad de hospitalización.

2.4.1 LOS SÍNTOMAS MÁS HABITUALES

- Fiebre
- Tos seca
- Cansancio

⁵ <https://ibercivis.es/wp-content/uploads/2020/04/PROYECTO-COVID-IBERCIVIS.pdf>

⁶ <https://www.scielosp.org/article/rpmesp/2020.v37n2/312-319/es/>

Otros síntomas menos comunes son los siguientes:

- Molestias y dolores
- Dolor de garganta
- Diarrea
- Conjuntivitis
- Dolor de cabeza
- Pérdida del sentido del olfato o del gusto (La inhalación de partículas virales puede causar daño a las terminales nerviosas olfatorias y a las neuronas del bulbo olfatorio, aunque no se sabe con detalles como lo hace, tal vez el virus entre por las terminales nerviosas y se disemine por vía trans- sináptica (entre neuronas por endocitosis-exocitosis), o tal vez través del endotelio. Esto genera hiposmia o anosmia. Esta también descrito la “disgeusia” por mecanismos poco comprendidos.
- Erupciones cutáneas o pérdida del color en los dedos de las manos o de los pies

2.4.2 MANIFESTACIONES SISTÉMICAS:

Aunque en su mayoría las personas con la COVID-19 tienen síntomas entre leves y moderados, la enfermedad puede llevar a complicaciones médicas graves y, en algunas personas, causar la muerte. Los adultos mayores o las personas con afecciones crónicas están a mayor riesgo de enfermarse gravemente con la COVID-19.⁷

2.4.2.1 PULMÓN: Es el órgano más frecuentemente afectado porque es donde hay más ECAII. El compromiso es alveolar e intersticial. Los alveolos y el intersticio se llenan de exudado inflamatorio, lo cual causa disnea, tos seca (debido a que el compromiso es alveolar principalmente y no bronquial) pero puede haber tos con expectoración en menor frecuencia. Cuando la destrucción alveolar y el infiltrado inflamatorio es muy intenso el compromiso es bilateral, la lesión predomina principalmente en la base de los lóbulos inferiores, pero progresa y se extiende a todo el pulmón, causando SARS

⁷ <https://www.clinicbarcelona.org/noticias/las-trombosis-una-de-las-principales-complicaciones-en-pacientes-con-covid-19>

(síndrome respiratorio agudo severo, lo que le da el nombre al virus SARS-CoV2). La complicación local más temida es el ARDS (síndrome de distrés respiratorio agudo), también conocido como edema pulmonar no cardiogénico, cursando con insuficiencia respiratoria hipoxémica grave. El infiltrado pulmonar típico del ARDS es central en forma de alas de mariposa.⁸

2.4.2.2 VASOS SANGUÍNEOS: En las células endoteliales y en las musculares lisas de la pared de arterias y venas también hay ECAII. El virus produce vasculitis, con edema de la pared e isquemia distal del órgano en que se encuentra, causando, por ejemplo, infartos esplénicos. El virus se disemina por los vasos sanguíneos (viremia), comprometiendo órganos a distancia.

2.4.2.3 CORAZÓN: Los pacientes pueden tener injuria miocárdica aguda, causando elevación de la troponina I (IAM tipo 2), pero también pueden tener inestabilidad de las placas de ateroma, causando accidente de placa, trombosis e infarto tipo 1 (IAM tipo 1). Esto puede ocurrir teóricamente tanto debido a la infección viral miocárdica o endotelial ya que hay ECAII en los miocitos y células endoteliales, como también debido a la respuesta inflamatoria sistémica, los pacientes graves tienen aumento de los D-dímeros (marcador de mayor mortalidad), lo que indica un estado procoagulante en esta enfermedad. Eso contribuye a los infartos. En la COVID-19 podemos ver arritmias, miocarditis, descompensación de la IC previa, shock cardiogénico,⁹

2.4.2.4 CLINICA CARDIACA: Disnea progresiva, dolor torácico, palpitaciones, edemas, etc.

2.4.2.5 CLINICA NEUROLÓGICA: Cefalea, confusión mental, disminución del sensorio, delirium, convulsiones, parada cardiorrespiratoria.

2.4.2.6 RIÑÓN: El virus podría infectar a las células tubulares y también del epitelio parietal glomerular, causando albuminuria, injuria renal aguda, síntomas urémicos.

⁸ A 3.

⁹ **Intensive Care Med** Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05985-9>

2.4.2.7 CLÍNICA RENAL: Oliguria, confusión mental, espumuria, edemas, arritmias, debilidad muscular, etc.

2.4.2.8 GLÁNDULAS SUPRERRENALES: Provocada por la respuesta inflamatoria sistémica o la vasculitis asociada. Se manifiesta con hipotensión refractaria al tratamiento con vasopresores, hipoglucemias, síntomas de hipocalemia.

2.4.2.9 INTESTINO DELGADO: La **ECAII** también está presente en la membrana del borde en cepillo de los enterocitos. Esta sirve también como puerta de entrada. Se manifiesta como gastroenteritis, deshidratación, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea acuosa.

2.5 DESCRIPCIÓN DE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO BIOQUÍMICAS-MOLECULAR.

2.5.1 Reacción en cadena de la polimerasa inversa RT-PCR en tiempo real del inglés (*reverse-transcription polymerase chain reaction*)

Hasta ahora, la prueba más comúnmente utilizada y confiable para el diagnóstico de COVID-19 ha sido la prueba RT-PCR realizada utilizando hisopado nasofaríngeo u otras muestras del tracto respiratorio superior, incluyendo hisopados de garganta o, más recientemente de saliva.

Diferentes fabricantes utilizan una variedad de dianas genéticas de ARN, con la mayoría de las pruebas dirigidas a 1 o más de los genes: envoltura (ENV), nucleocápside (N), espiga (S), RNA polimerasa RNA-dependiente (RdRp).

En la mayoría de las personas con infección sintomática de COVID-19, el ARN viral medido por el umbral del ciclo (C_t) se detecta tan pronto como el primer día de los síntomas y alcanza su punto máximo en la primera semana. El umbral del ciclo es el número de ciclos de replicación necesarios para producir una señal fluorescente, valores bajos representan menor carga de ARN viral. Un valor inferior a 40 se notifica clínicamente como PCR positivo.

Esta positividad comienza a disminuir en la semana 3 y posteriormente se vuelve indetectable. Sin embargo, los valores de umbral del ciclo obtenidos en pacientes hospitalizados gravemente enfermos son inferiores a los valores de los casos leves, y la positividad de la PCR puede persistir más allá de las 3 semanas después del inicio de la enfermedad, cuando la mayoría de los casos leves producirán un resultado negativo. Sin embargo, un resultado de PCR "positivo" refleja únicamente la detección de ARN viral y no indica necesariamente la presencia de virus viables.³

La cronología de la positividad de la PCR es diferente en muestras distintas del hisopado nasofaríngeo. La positividad de la PCR disminuye más lentamente en el esputo y todavía puede ser positiva después de que las muestras nasofaríngeas son negativas.

En un estudio de 205 pacientes con infección confirmada por COVID-19, la positividad RT-PCR fue más alta en muestras de lavado bronco alveolar (93%), seguido de esputo (72%), hisopado nasal (63%) e hisopado faríngeo (32%).⁵

Como se ha comentado, la PCR es la técnica de referencia para el diagnóstico de la COVID-19, pero puede haber falsos negativos y falsos positivos. Un único resultado negativo en una prueba de PCR, especialmente si se ha realizado a partir de una muestra de las vías respiratorias superiores, no excluye la posibilidad de una infección por SARS-CoV-2. Se recomienda repetir el muestreo, e incluso con una muestra de las vías respiratorias inferiores en caso de enfermedad grave o progresiva.

Falsos negativos: Pueden aparecer si:

- La toma de la muestra es inadecuada (cantidad escasa).
- El transporte es inadecuado (no se mantiene la cadena de frío) o con retraso.
- Hay errores preanalíticos (mal etiquetado de la muestra).

Hay poca eliminación de virus por el paciente por el estadio del proceso (asintomático, presintomático o post sintomático) o por la gravedad de este.

Falsos positivos: Pueden aparecer si:

- Hay error preanalítico en el etiquetado de la muestra a lo largo del proceso
- Contaminación cruzada entre muestras durante el procesamiento.

La estrategia más eficiente para diagnosticar el COVID-19 en pacientes sospechosos debe combinar los hallazgos de la RT-PCR con datos clínicos y epidemiológicos (probabilidad de exposición, síntomas y signos) y la radiología torácica (la más sensible es el TAC), ya que las alteraciones radiológicas en el COVID-19 son a veces más precoces que la positividad de la RT-PCR. Como se ha comentado, se debe repetir la RT-PCR en pacientes con uno o más resultados negativos y alta sospecha de COVID-19¹⁰. Por otro lado, hay que tener en cuenta que un resultado positivo por otro patógeno no excluye la posibilidad de COVID-19.

Técnica de realización de la RT-PCR en tiempo real

La RT-PCR se realiza en laboratorios de Microbiología clínica, necesita personal experto en Microbiología molecular y medidas de bioseguridad. La PCR es una técnica utilizada para amplificar secuencias de ADN. Consta de dos fases: extracción y amplificación de los ácidos nucleicos. El ARN es monocatenario y muy inestable por lo que primero debe transcribirse de forma inversa en ADN complementario (ADNc) utilizando una transcriptasa inversa. A partir de aquí, se utiliza el procedimiento de PCR convencional para amplificar el ADNc. Se utilizan secuencias cortas de ADNc, cebadores o primers, para seleccionar la parte del genoma a amplificar. La temperatura de la muestra se sube y se baja repetidamente para ayudar a la enzima ADN polimerasa a duplicar la secuencia del ADN que está siendo copiada. Con esta técnica se producen millones de copias de la secuencia estudiada en unas horas. Lo ideal es que ambos procesos estén automatizados para aumentar la rapidez y evitar errores. En la actualidad el resultado de las pruebas está disponible desde unas horas a varios días. Otra ventaja de la PCR en el momento actual, con existencia de muchos casos, es que permite

¹⁰ <https://www.ciencia.gob.es/stfls/MICINN/Ministerio/FICHEROS/TecnicasDiagnosticoCOVID19-ICN2.pdf>

procesar simultáneamente un elevado número de muestras. Los genes diana más usados para la detección de SARS-CoV-2 son el gen E (recomendado por la OMS como screening de primera línea²), el gen RdRp, para estudio de confirmación y el gen N para estudio adicional de confirmación.

Procedimiento

Una vez que se recoge la muestra, se deben eliminar proteínas y otras moléculas, aislando tan sólo el ARN. Esta será una mezcla del material genético de una persona, así como cualquier ARN viral que pueda estar presente.

Las enzimas del kit transcriben el ARN en el ADN, que se amplifica para permitir la detección de virus mediante el uso de un termociclador que genera un programa de temperaturas para producir aproximadamente 35 mil millones de copias de ADN viral para cada cadena de ARN viral que estuvo originalmente presente.

Se utilizan marcadores fluorescentes que son capaces de unirse al ADN amplificado y producir luz, que la máquina puede leer para producir el resultado de la prueba. Si la intensidad de la luz producida alcanza un cierto umbral, esta se clasifica con un resultado positivo. Se registra el número de ciclos de temperatura de PCR que se requieren antes de alcanzar el umbral de fluorescencia y proporciona una estimación de la cantidad de virus presente en la muestra del paciente.

En primer lugar, el ADN viral se calienta a 94°C, separando las dos hebras del ADN. Acto seguido, la reacción se enfría a 55°C, Este hecho, permite que pequeñas porciones de ADN complementario (primers o cebadores) se unan al ADN viral. Finalmente, se eleva la temperatura a 72°C para que la Taq polimerasa pueda elongar cada una de estas hebras de ADN. Y de esta manera, se inicia un nuevo ciclo de PCR.

2.5.2 TEST DE ELISA “Determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos” o por su sigla en inglés (Enzyme-linked immunosorbent Assay)

Esta prueba permite la detección de anticuerpos de tipo IgG e IgM que produce el organismo frente al COVID-19.

Ambos son marcadores tempranos:

Los anticuerpos IgM son marcadores de infección reciente y duran poco tiempo en el cuerpo. Se empiezan a detectar en un 90% de los casos alrededor de los días 4-7 de la infección, siguen aumentando hasta el día 14 y después empiezan a disminuir.

Los anticuerpos IgG permanecen más tiempo, se detectan un poco más tarde, alrededor de los 10 días, aumentan hasta las 3 semanas y van descendiendo de forma gradual.

Un inmunoensayo es una prueba que mide el reconocimiento específico entre un anticuerpo y un antígeno. A este reconocimiento químico se lo conoce como inmunocomplejo (IC) y es tan selectivo y estrecho como una llave con su cerradura.

Se han establecido muchos formatos de ensayos ELISA cualitativos y cuantitativos; los primeros sólo indican la presencia o ausencia del IC y los otros detectan cuánto hay de ellos. Básicamente el método consiste en que uno de los componentes inmunológicos (ya sea al antígeno o el anticuerpo) se inmoviliza en una fase sólida, en pocillos de una placa de microtitulación de poliestireno o placa de ELISA. La interacción anticuerpo-antígeno se puede visualizar mediante enzimas, unidas a antígenos o anticuerpos secundarios. La enzima unida, que generalmente es peroxidasa de rábano picante o fosfatasa alcalina, genera un cambio de color en el sustrato agregado que puede medirse mediante un espectrofotómetro llamado lector de placa. Generalmente los ELISA se llevan a cabo en placas de 96 pocillos, lo que permite medir múltiples muestras en un único experimento.

La prueba de ELISA tiene una especificidad superior al 95% para el diagnóstico de COVID-19. La mayoría¹¹ de los anticuerpos se producen contra la proteína más abundante del virus, que es la N.

2.5.3 PRUEBA DE QUIMIOLUMINISCENCIA O CLIA

Los compuestos quimio luminiscentes también pueden usarse para marcar analitos. Una marca quimio luminiscente produce alta emisión de luz cuando se lo combina con un sustrato especial siendo altamente sensible. Muchos instrumentos en el laboratorio clínico se basan en la tecnología quimio luminiscente.¹²

2.5.4 TEST RAPIDO DE ANTIGENO SARS-COV-2

Detecta la partícula viral de los coronavirus que consiste en una nucleocápside formada por el genoma viral de ARN asociada a proteínas de nucleocápside (N) rodeada de una envoltura compuesta por las proteínas virales espiga (S), de envoltura (E) y de membrana (M).

Las pruebas de detección de antígenos (Ag) se basan en la detección de proteínas virales específicas de SARS-CoV-2 en la muestra, como la proteína N y las subunidades S1 o S2 de la proteína espiga.

La muestra se obtiene del tracto respiratorio, generalmente de exudado nasofaríngeo u orofaríngeo, mediante un hisopo, o de esputo y se requiere una correcta recogida en el momento adecuado, como en las pruebas de PCR.

Según estudios la carga viral es mayor en esputo y en nasofaringe que en orofaringe y se ha visto que es más alta en la fase aguda de la infección (los primeros 7 días del inicio de la sintomatología).

Interpretación de la prueba de antígenos

¹¹ <https://clinicabuenavista.com/coronavirus/pruebas-serologicas-para-el-covid-19-test-elisa/>

¹² <https://www.estornuda.me/post/diagnostico-serologico-elisa>

La detección del antígeno viral implica replicación activa del virus por lo que un resultado positivo de la prueba indicaría infección actual por SARS-CoV-2.

Ventajas de antígenos

La principal ventaja de este test es que detecta una proteína del virus para determinar si alguien está infectado en el momento actual. Cabe destacar que las pruebas de antígenos proporcionan una información esencial en un momento del ciclo de la infección en el que las personas corren el mayor riesgo de propagar la enfermedad

- Rapidez y sencillez del test. Se pueden obtener resultados en 15-20 minutos y no requiere infraestructura especializada.
- Tienen una alta sensibilidad y especificidad, así como un Valor predictivo positivo bueno: su positividad confirma el caso.

Desventajas de antígenos

- Al requerir muestras del tracto respiratorio implica la exposición del personal sanitario para su recogida y riesgo de contagio.
- Se desconoce aún el momento óptimo con mayor carga viral, aunque por los estudios se propone esputo o exudado nasofaríngeo y una vez iniciado los síntomas.
- Se necesita personal entrenado para una correcta recogida de la muestra.
- Riesgo de falsos negativos por su baja sensibilidad como se ha explicado anteriormente.

Limitación de la técnica de antígenos

LA prueba debe hacerse inexcusablemente antes de las 2 horas tras la toma de la muestra ya que, de lo contrario, si se tarda más tiempo tienen el problema de la limitación del descenso de la sensibilidad y con ello la menor validez de la prueba.

2.5.5 PROCEDIMIENTO

Las diferentes pruebas contienen básicamente un hisopo nasofaríngeo, un casete de plástico (llamado comúnmente “bañera”) y un líquido o “buffer”, además de un tubo de extracción, en algunos casos.

El hisopo, una vez sacado de la nariz del paciente, se sitúa dentro del tubo de extracción que contiene líquido de extracción para sacar todo el material adherido al hisopo y finalmente se cargan unas gotas del último sobre el pocillo de carga del casete.

Dentro de este casete hay una membrana donde se producirá la interacción del antígeno de COVID-19 (si está presente) con anticuerpos modificados con partículas de oro. Este inmunocomplejo migra por capilaridad hasta un primer sector, zona de test, donde hay otros anticuerpos/conjugado anti-SARS-CoV-2, pero éstos están unidos a la matriz. La acumulación de inmunocomplejos en esta zona lineal da lugar a una primera banda, sólo si la muestra es positiva. Como control interno, pero también otros test que se basan en la misma técnica (inmunocromatográfica lateral), contienen además un segundo sector, la zona de control, más adelante de la de test, con anticuerpos unidos. Estos, a diferencia de los primeros, no reconocen el antígeno de SARS-CoV-2, sino a los anticuerpos modificados. Cuando llega hasta esta zona el sobrante que ha pasado de largo por la zona de test, contenga o no SARS-CoV-2, los anticuerpos modificados serán reconocidos y darán lugar siempre a una banda, indicando que el test funciona y que se ha añadido el volumen necesario (unas gotas) de muestra¹³

2.5.6 PRUEBA RAPIDA COVID-19 IgG/IgM (SUERO /PLASMA/SANGRE)

Es un análisis inmunocromatográfico en fase sólida para la detección rápida y diferenciada de los anticuerpos IgG y IgM contra el nuevo coronavirus (Covid-19) en sangre, plasma o suero sanguíneo. Este análisis solo produce un resultado preliminar. Así pues, cualquier espécimen reactivo al COVID-19 IgG/IgM (Sangre/Suero/Plasma) tiene que ser confirmado con algún método alternativo y hallazgos clínicos

¹³ <https://www.rafer.es/innovacion-laboratorio-clinico/test-rapidos-de-antigeno-covid-19/>

La prueba utiliza anticuerpos IgM antihumano (línea de prueba IgM), IgG antihumano (línea de prueba IgG) e IgG anti-conejo de cabra (línea de control C) inmovilizadas en una tira de nitrocelulosa. La almohadilla de color burdeos contiene oro coloidal conjugado con antígenos COVID-19 y conjugados IgG-oro de conejo. Cuando se agrega una muestra seguida de buffer de ensayo en sus respectivos pocillos, los anticuerpos IgM y/o IgG, se unirán a los conjugados COVID-19 formando un complejo antígeno-anticuerpo. Este complejo migra a través de la membrana de nitrocelulosa por acción capilar. Cuando el complejo se encuentra con la línea del anticuerpo inmovilizado correspondiente (IgM antihumano y/o IgG antihumano), el complejo queda atrapado formando una línea de color burdeos que confirma un resultado reactivo de la prueba. La ausencia de una banda coloreada en una de las líneas de prueba indica un resultado no reactivo. La prueba contiene un control interno (banda C) que debe exhibir una banda de color burdeos del conjugado inmunocomplejo de cabra anti-conejo IgG / conejo IgG-oro independientemente del desarrollo de color en cualquiera de las bandas de prueba. De lo contrario, el resultado de la prueba no es válido y la muestra se debe volver a analizar con otro dispositivo.

2.5.7 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS INMUNOCROMATOGRAFICAS

NEGATIVO: Si solo está presente la banda C, la ausencia de cualquier color burdeos en ambas bandas T (IgG e IgM) indica que no se detectan anticuerpos anti-COVID-19 en la muestra. El resultado es negativo. IgM

POSITIVO: Si además de la presencia de banda C, si solo se desarrolla la banda IgM, la prueba indica la presencia de IgM anti-COVID-19 en la muestra. El resultado es IgM anti-COVID-19 positivo.

POSITIVO: Si además de la presencia de banda C, si solo se desarrolla la banda IgG, la prueba indica la presencia de IgG anti-COVID-19 en la muestra. El resultado es IgG anti-COVID-19 positivo.

POSITIVO: Si además de la presencia de banda C, se desarrollan las bandas IgG e IgM, la prueba indica la presencia de IgG e IgM anti-COVID-19 en la muestra. El resultado es IgG e IgM anti-COVID-19 positivo.

INVALIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falta de color en la línea C. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo kit de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba de inmediato y comuníquese con su distribuidor local.¹⁴

¹⁴<https://www.diba.cat/documents/306225111/308327917/Instruccions+d%27%C3%BAAs.pdf/34620ab9-e97e-4ee1-a580-81c09449b34a>

CAPITULO III

OBJETIVOS

3 objetivos

3.1 Objetivo general

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos IgM e IgG para sars-cov2 mediante el método de ELISA en pacientes que asisten al laboratorio Medicomp en el periodo de julio- noviembre 2020 de la ciudad de Tarija

3.2Objetivos específicos

- Determinar la seroprevalencia en porcentaje de casos positivos para Covid-19 mediante la técnica de Elisa.
- Establecer la seroprevalencia en porcentaje de covid-19 según la edad
- Establecer la seroprevalencia en porcentaje de covid-19 según el sexo
- Establecer la seroprevalencia en porcentaje de casos positivos según el mes en que los pacientes acudieron al Laboratorio Medicomp.

3.3 Operacionalización de las variables

VARIABLES	TIPO	Operacionalización		INDICADOR
		Escala	Descripción	
<p>Título de Inmunoglobulina IgM</p> <p>Título de Inmunoglobulina IgG</p>	CUANTITATIVO DISCRETA	<p>0.14-0.99 AU/ml</p> <p>1.10-30.0 AU/ml</p> <p>0.14-0.99 AU/ml</p> <p>1.10-30.0 AU/ml</p>	<p>Negativo sin presencia de color</p> <p>Positivo con presencia de color</p> <p>Negativo sin presencia de color</p> <p>Positivo con presencia de color</p>	<p>PROCENTAJE De acuerdo con los casos positivos en el periodo de julio a noviembre 2020</p>
EDAD	CUANTITATIVO CONTINUA	<p>18-30 Años</p> <p>31-60 Años</p> <p>61-82 Años</p>	Es el tiempo que ha vivido una persona al día de realizar el estudio.	PORCENTAJE
SEXO	CUANTITATIVA NOMINAL	<p>Mayor Frecuencia entre Hombres y Mujeres</p>	Es la condición orgánica que distingue al hombre de la	<p>PORCENTAJE</p> <p>FRECUENCIA</p>

			mujer y puede ser femenino o masculino.	
MES	CUANTITATIVO CONTINUA	Julio a Noviembre	El mes es una unidad astronómica de tiempo, usada en el calendario	PORCENTAJE

CAPITULO IV
MARCO METOLOGICO

4. MARCO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de Investigación

El presente trabajo de investigación corresponde al tipo Cuantitativo, Retrospectivo y transversal.

❖ **Cuantitativo. -**

Porque se determinó la cantidad de pruebas positivas en el laboratorio Medicomp de Sars-Cov-2 mediante prueba Elisa determinando el porcentaje de anticuerpos.

❖ **Retrospectivo. -**

Por que los datos obtenidos se recolectaron a partir de registros clínicos de las muestras procesadas en el laboratorio.

❖ **Transversal**

Porque la investigación se realizó en un periodo de tiempo corto.

4.2 Diseño de la investigación

La presente investigación es de carácter no experimental porque no se manipuló deliberadamente las variables establecidas para el proyecto de estudio a realizar.

4.3. Localización Geográfica

Este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio MEDICOMP de la provincia Cercado del departamento de Tarija que se encuentra ubicado en las calles 15 de Abril esquina delgadillo.

4.4 Población y Muestra

La población en el presente trabajo de investigación está constituida por 449 personas de ambos sexos que comprenden entre las edades de 18 a 82 años de edad que acudieron al laboratorio MEDICOMP y dieron positivo a Covid-19 desde el mes de Julio-Noviembre 2020.

4.4.1. Tipo De Muestreo

Probabilístico, porque se recolectaron los datos de las 449 personas de ambos sexos.

4.5 MÉTODOS DE LA INVESTIGACIÓN

En el presente trabajo de investigación se utilizó los siguientes métodos.

4.5.1 Estadística Descriptiva

Se aplicó la estadística descriptiva, porque en esta investigación para organizar los datos recogidos se los hizo mediante tablas de distribución, gráficas estadísticas y medidas de tendencia central como ser el porcentaje.

4.6 Métodos Teóricos

❖ Método deductivo

Se aplicó este método porque se partió de información individual de los pacientes llegando a conocer las concentraciones de los valores de inmunoglobulinas de tipo IgM e IgG las cuales ayudaron a tener información general y precisa.

❖ Método Sintético

Este método, permitió llegar a conclusiones en cuanto a los datos de estudio, determinando la seroprevalencia de pacientes se realizaron de manera particular en el Laboratorio Medicomp ante la sospecha de haber tenido contacto con algún positivo o presentar alguno de los síntomas característico de la enfermedad Covid-19.

4.6.1. Método Empírico

En el siguiente trabajo de investigación se aplicó el método de la medición porque se determinó los valores en AU/ml de inmunoglobulinas IgM e IgG y se demostró el porcentaje de los casos positivos en las muestras analizadas

4.7 TÉCNICA APLICADA EN EL PROCEDIMIENTO

Método: La determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos, ELISA (Enzyme-linked immunosorbent Assay)

4.7.1 PRUEBA ELISA SARS-COV-2

Procedimiento de la técnica. -

La determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Las Placas de Microtitulación están recubiertas con antígenos específicos unen a los anticuerpos de la muestra. Después de lavar los pocillos para eliminar todo el material de muestra no unida, el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) se añade. Este conjugado se une a los anticuerpos capturados. En una segunda etapa de lavado se retira el conjugado no unido. El complejo inmune formado por el conjugado unido se visualizó añadiendo sustrato tetrametilbencidina (TMB), que da un producto de reacción azul. La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos en la muestra. Se añade ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un cambio de color de azul a amarillo. La extinción a 450/620 nm se mide con un fotómetro de Placa de Microtitulación.

4.7.2 Recursos humanos

Se cuenta con:

- Universitaria de la carrera de bioquímica
- Servicio y asistencia de la regente del Laboratorio Medicomp

4.7.3 Materiales

Reactivos suministrados

- Placa de Microtitulación: 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con antígenos del SARS-CoV-2, en bolsa de aluminio.

- Tampón de Dilución de Muestras IgM: 1 botella de 100 mL de solución de tampón de fosfato (10 mM) para diluir la muestra; pH $7,2 \pm 0,2$; anti-humana IgG (RF Absorbente); color verde; listo para ser utilizado; tapa blanca; $\leq 0,0015$ % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- Solución de Parada: 1 botella de 15 mL de ácido sulfúrico, 0,2 mol/L, listo para ser utilizado; tapa roja.
- Tampón de Lavado (20x conc.): 1 botella de 50 mL de una solución de tampón de fosfato 20x concentrado (0,2 M) para lavar los pocillos; pH $7,2 \pm 0,2$; tapa blanca.
- Conjugado: 1 botella de 20 mL de conjugado de anticuerpos IgM anti-humano con peroxidasa en tampón de fosfato (10 mM); color rojo; tapa negra; listo para ser utilizado.
- Solución de Sustrato de TMB: 1 botella de 15 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB), $< 0,1$ %; listo para ser utilizado; tapa amarilla.
- Control Positivo: 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa roja; listo para ser utilizado; $\leq 0,02$ % (v/v) MIT.
- Control Cut-off: 1 botella de 3 mL control; color amarillo; tapa verde; listo para ser utilizado; $\leq 0,02$ % (v/v) MIT.
- Control Negativo: 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa azul; listo para ser utilizado; $\leq 0,0015$ % (v/v) CMIT/MIT (3:1)

Accesorios suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso
- 1 esquema de la placa 4.3.

Materiales e instrumentos necesarios

- Fotómetro de Placa de Microtitulación con filtros de 450/620 nm
- Incubadora 37 °C

- Dispositivo de lavado manual o automático para Placa de Microtitulación
- Micropipetas para uso de (10-1000 μ L)
- Mezcladora Vortex
- Agua destilada
- Tubos de plástico desechables

4.7.4 RECOLECCIÓN Y OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

La toma de la muestra de sangre para las pruebas se realizó por punción venosa.

El paciente debe estar en posición cómoda, con descanso en los brazos, no deben estar asustados, ni ser cambiados de posturas de forma repentina. La mayoría de los pacientes, ante cualquier tipo de toma de muestra, se encuentran nerviosos y a veces, hasta atemorizados. Es de suma importancia la delicadeza y corrección del profesional que tome la muestra, que puede lograr la colaboración del paciente, así como la disminución del dolor, molestia o incomodidad, que dicha toma en sí pueda proporcionar.

1. Identificar al paciente y explicarle el procedimiento que se va a realizar. Pedirle que siente o se recueste
2. Lavarse las manos de acuerdo con el procedimiento establecido
3. Colocarse los guantes desechables
4. Preparar la jeringa (la envoltura desechar a los desechos comunes)
5. Preparar los tubos (identificando el nombre completo y las pruebas a realizarse)
6. La inspección debe realizarse con un orden predeterminado Las venas en general son fácilmente palpables acompañadas de un examen visual.
7. Aplicar el torniquete 4 centímetros por encima de la flexura anterosuperior del codo
8. Pedirle al paciente que abra y cierre su puño.

9. Desinfectar el área de la punción alcohol al 70% (técnica de la parte interna hacia la parte externa)
 10. Con el dedo índice de la mano izquierda fijar la vena a puncionar
 11. Extracción de muestra de sangre en cuanto la sangre empieza a fluir dentro de la jeringa se debe retirar el torniquete y solicitar al paciente que suelte el puño.
 12. Traccionar el embolo llenando la jeringa con el volumen requerido
 13. Mientras se retira la aguja se aplica el algodón seco haciendo presión sobre la zona de punción
 14. Con la ayuda de una pinza retirar la aguja para desechar al contenedor de corto punzante.
 15. Cargar Al tubo, y determinar el volumen requerido
 16. En caso de que necesite algún anticoagulante realizar la rotación e inversión unas 10 veces con cuidado de no formar espuma.
 17. Observar la, inexistencia de sangrado en el área de punción
 18. Colocar un curita
 19. Apreciar el estado del paciente ante que abandone el área de toma de muestras
 20. Explicar al paciente (fecha y hora) pueda retirar los resultados.
- La extracción de sangre se realizó en tubos de ensayo para suero/plasma.

Dilución de las muestras Antes del ensayo

Las muestras tienen que estar diluidas en relación 1 + 100 con el Tampón de Dilución de Muestras IgM, p. e. 10 µL de la muestra con 1 mL de Tampón de Dilución de Muestras IgM, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

4.7.5 PROCEDIMIENTO

1. Pipetear 100 μL de estándares/controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. Incubar 1 h \pm 5 min a $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300 μL del Tampón de Lavado. Evitar. El intervalo entre lavado y aspiración debe ser > 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente. Un mal lavado insuficiente provoca una baja precisión y resultados falsamente elevados.
5. Pipetear 100 μL de Conjugado en cada pocillo con excepción del blanco sustrato A1.
6. Incubar 30 min a la temperatura ambiente ($20\dots25^\circ\text{C}$). Evitar la luz solar directa.
7. Repetir el lavado como en el paso número 4.
8. Pipetear 100 μL de Solución de Sustrato de TMB en todos los pocillos.
9. Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente ($20\dots25^\circ\text{C}$). Un color azul se produce en las muestras positivas debido a la reacción enzimática.
10. Pipetear en todos los pocillos 100 μL de la Solución de Parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el Solución de Sustrato de TMB, por lo tanto, un cambio de color de azul a amarillo se produce.
11. Medir la extinción con 450/620 nm en un periodo de 30 min después de añadir la Solución de Parada.

Medición. - Ajustar el fotómetro de Placa de Micro titulación ELISA al cero utilizando el Blanco. Si por razones técnicas el fotómetro de Placa de Microtitulación de ELISA no se puede ajustar a cero utilizando el Blanco, el valor de la absorbancia de esto debe ser sustraído de los demás valores de absorbancia medidos con el fin de obtener resultados

fiables. Medir la extinción de todos los pocillos con 450 nm y anotar los resultados de los estándares/controles y de las muestras en el esquema de la placa. Es aconsejable realizar la medición bicromática a una longitud de onda de referencia de 620 nm. Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular el promedio de los valores de extinción de los pocillos correspondientes.

4.7.5.1 CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

❖ Criterios de validez del ensayo

El ensayo es válido si se cumplen los siguientes criterios:

- **Blanco:** valor de la extinción < **0,100**
- **Control Negativo:** valor de la extinción < **0,200** y < **Cut-off**
- **Control Cut-off:** valor de la extinción **0,150 – 1,300**
- **Control Positivo:** valor de la extinción **Cut-off**

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

4.7.5.2 Calculo del valor de la medición

El Cut-off se obtiene de los valores de la extinción de los dos Controles Cut-off.

Ejemplo: $0,42 \text{ OD Control Cut-off} + 0,44 \text{ OD Control Cut-off} = 0,86:2 = 0,43$

Resultados en unidades [NTU]

Promedio valor de la extinción de la muestra x 10 = [NovaTec-unidades = NTU]

Cut-off

Ejemplo: $\frac{1,591 \times 10}{0,43} = 37 \text{ NTU}$

Interpretación de resultados

Cut-off	10 NTU	
Positivo	>11 NTU	Los anticuerpos contra el patógeno están presentes. Ha producido un contacto con el antígeno (patógeno resp. vacuna).
Zona intermedia	9 – 11 NTU	Los anticuerpos contra el patógeno no se pudieron detectar claramente. Se recomienda repetir la prueba con una muestra fresca en 2 a 4 semanas. Si el resultado es de nuevo en la zona intermedia, la muestra se considera como negativa
Negativo	<9 NTU	La muestra no contiene anticuerpos contra el patógeno. Un contacto previo Con el antígeno (patógeno resp. vacuna) es poco probable.
El diagnóstico de una infección no solamente se debe basar en el resultado del ensayo. Es necesario considerar la anamnesis y la sintomatología del paciente junto al resultado serológico. Estos resultados sólo tienen valor restringido en pacientes inmunodeprimidos o en neonatos.		

4.7.5.3 Especificidad diagnóstica

La especificidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado negativo en ausencia del analítico específico. Las infecciones por SARS-CoV-2 surgieron en diciembre de 2019 en Wuhan, China. Por lo tanto, los valores de prevalencia esperados para los donantes de sangre alemanes y estadounidenses antes de diciembre de 2019 ascienden a un 0 %. Los resultados positivos determinados corresponden a una especificidad del 100 % (95 % Intervalo de confianza: 97,26 % - 100,0 %).

4.7.5.4 Sensibilidad de diagnóstico

La sensibilidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado positivo en presencia del analítico específico. Se analizaron 42 muestras de 25 pacientes que dieron positivo en el ARN del SARS-CoV-2 por RT-PCR.

4.7.5.5 Limitaciones del Ensayo Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la extinción

4.8 Metodología del trabajo de campo

El proceso de la investigación dura aproximadamente 3 meses. Tiene validación y confiabilidad puesto que los datos obtenidos fueron proporcionados por el mismo laboratorio de referencia.

4.9 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La información se procesará en forma manual, se utilizó los siguientes programas Microsoft Office Word como procesador de palabras y estadísticamente en Microsoft Office Excel.

Estos fueron ordenados en tablas de distribución, porcentaje y gráficas.

4.9.2 PRESENTACION DE LA INFORMACIÓN

- ❖ Word impreso para la presentación ante los tribunales.
- ❖ PowerPoint para la defensa.

CAPITULO V

RESULTADOS

5 RESULTADOS

TABLA N° 1 SEROPREVALENCIA DE PACIENTES COVID-19 SEGUN EL RANGO DE EDAD

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS PARA SARS-COV2

	NÚMERO DE PACIENTES	%	TÍTULO DE INMUNOGLOBULINA IGM – IGG
POSITIVOS	352	78.4%	Mayor 1.10 AU/ml
NEGATIVOS	97	21.6%	Menor 1.10 AU/ml
TOTAL	449	100%	

Fuente: Elaboración propia en base a datos.

GRAFICA N°1



Fuente: Elaboración propia en base a datos.

El presente estudio se realizó en base a datos de muestras procesadas de 449 pacientes en la que un 78.4% dieron Positivo a Prueba Elisa para covid-19 y un 21.6% dieron Negativo a dicha prueba desde el Mes de Julio a noviembre 2020 que asistieron al Laboratorio Medicomp.

TABLA N°2

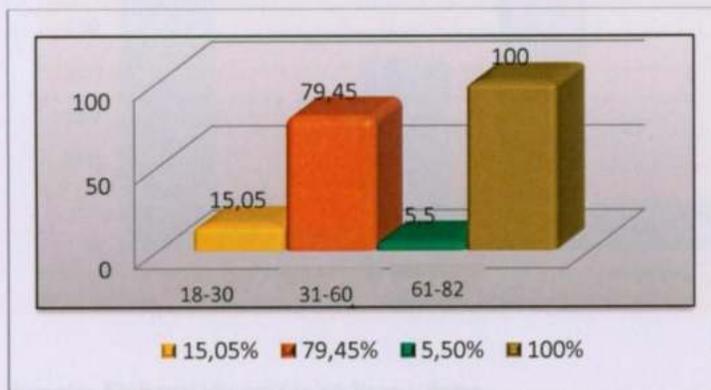
SEROPREVALENCIA DE PACIENTES COVID-19 SEGÚN EL RANGO DE EDAD

EADAES	POSITIVOS	
	Nº	%
18-30	53	15,05%
31-60	280	79,45%
61-82	19	5,50%
TOTAL	352	100%

Fuente: Elaboración propia en base a datos

GRAFICO N°2

SEROPREVALENCIA DE PACIENTES COVID-19 SEGÚN EL RANGO DE EDAD



Fuente: Elaboración propia en base a datos

Se puede observar en la gráfica que el grupo comprendido entre las edades de 18 a 30 años fue en un 15,05% (n=53) El siguiente grupo entre las edades de 30 a 60 años los más afectados fueron de 79,45% (n=280). El siguiente grupo comprendido entre las edades de 60 a 82 años fue en un 5,50%(n=19).

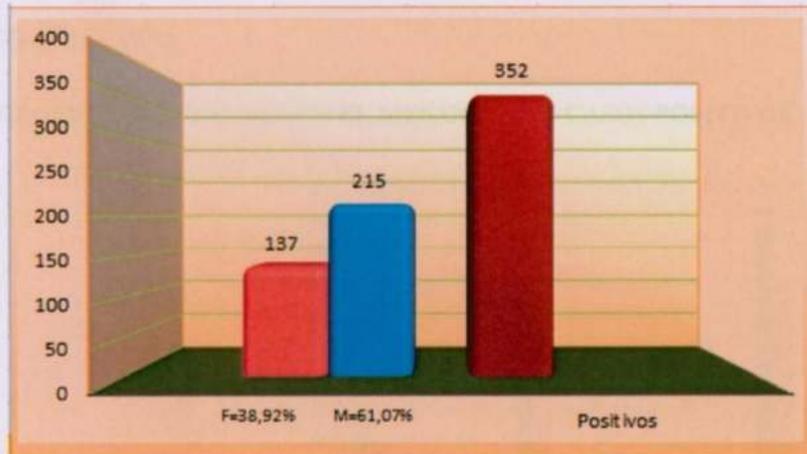
TABLA N°3

SEROPREVALENCIA DE ACUERDO AL SEXO

SEXO	POSITIVOS	
	Nº	%
FEMENINO	137	38,92%
MASCULINO	215	61,07%
TOTAL	352	100%

Fuente: Elaboración propia en base a datos

GRAFICO N°3



Fuente: Elaboración propia en base a datos

En cuanto al sexo más afectado los hombres son los que se reportaron con covid-19 positivo en un porcentaje de 61,07 %(n=215), con respecto a las mujeres 38,92%.(n=137).

TABLA N°4

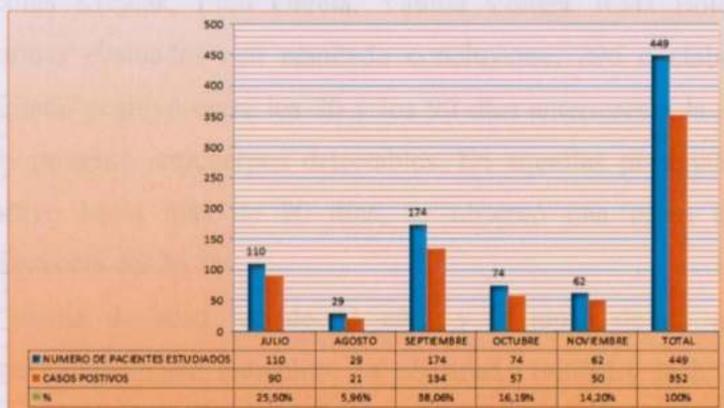
SEROPREVALENCIA SEGÚN EL MES CON MAS CASOS POSITIVOS

MESES	NUMERO DE PACIENTES ESTUDIADOS	CASOS POSTIVOS	%
JULIO	110	90	25,50%
AGOSTO	29	21	5,96%
SEPTIEMBRE	174	134	38,06%
OCTUBRE	74	57	16,19%
NOVIEMBRE	62	50	14,20%
TOTAL	449	352	100%

Fuente: Elaboración propia en base a datos

GRAFICON°4

SEROPREVALENCIA SEGÚN EL MES CON MAS CASOS POSITIVOS



Fuente: Elaboración propia en base a datos

Se observa el porcentaje de pacientes Covid-19 positivos por mes, de acuerdo al título de anticuerpos a partir de registros clínicos de las muestras procesadas en el laboratorio Medicomp de la ciudad de Tarija.

En el mes de julio con un 25,50 % de pacientes positivos, agosto con un 5,96%, Septiembre con un 38,06% , Octubre con un 16,19% y Noviembre con un 14,20% de casos positivos para covid-19.

5.2 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En el periodo de tiempo de julio a noviembre 2019, en el laboratorio Medicomp de la ciudad de Tarija, se llevó a cabo la recolección de datos de pacientes que dieron positivo a Covid-19, quienes conformaron el grupo a estudiar para determinar la incidencia de casos positivos mediante el método de Elisa (inmunoenzimática) para Sars-cov-2, de los cuales un 78,4 % dieron positivo para Covid-19 y la mayor incidencia fue en varones en un 61,07%, si bien otros estudios relatan una mayor incidencia en mujeres en la infección por Covid-19 en el presente trabajo se tomó en cuenta los títulos de anticuerpos proporcionados por el Laboratorio de referencia, una vez concluido estos son los resultados comparados a otros estudios realizados.

- En el trabajo de investigación de “*Persistencia de anticuerpos IgG contra SARS-CoV2 en personal de salud - provincia de Buenos Aires*”

Realizado por Marina Pifano, Laura Fischerman, Regina Ercole, Laura Muñoz, Nicolas Kreplak, Enio Garcia, Yamila Comes, Rosa Bologna. De las 386 personas evaluadas con resultado concluyente, 296 contaban con un primer resultado positivo entre los 30 y los 90 días anteriores a la segunda prueba, el 90% presentó anticuerpos detectables. En aquellas personas con un resultado positivo hacía más de 90 días, se observó una caída significativa en la persistencia del 26,7%.

La media de edad fue de 41 años y la moda de 35 años. El sexo fue predominantemente femenino. La obesidad (10,6%) y la hipertensión (13,7%) fueron las con morbilidades mayormente encontradas, seguidas por el tabaquismo y la diabetes.

- En la “Revista Científica Imaraña del Hospital del Norte” de la ciudad de La Paz. El objetivo de la presente edición de la “Revista Científica Imaraña del Hospital del Norte”, es actualizar a la comunidad científica con información proveniente de estudios realizados que orienten el manejo de los pacientes afectados en la Pandemia COVID-19 en actual progresión, así como ser una base para la realización de ulteriores. En el Hospital del Norte, primer Hospital del 3° nivel de atención de complejidad en la ciudad de El Alto a 4 150 metros sobre el nivel del

mar. Estudio descriptivo serie de casos entre el periodo 20 de abril al 20 de junio de 2020 el cual incluye los casos con reporte positivo mediante la prueba con reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR) para el SARSCov-2. Se incluyen 11 casos con diagnóstico de COVID-19 (fase IIb y III), 7 del sexo masculino (64%), promedio de edad 51.9 años (desvío estándar 15.22 años), 59.86 años en varones y 38 años en mujeres.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se llegó alcanzar satisfactoriamente los objetivos propuestos en el presente trabajo de investigación:

- ❖ Mediante el método de Elisa realizado en el presente trabajo se determinó que la seroprevalencia de pacientes Covid-19 que asistieron al laboratorio Medicomp fue en un 78,4% de 449 pacientes estudiados; siendo más prevalente en el sexo masculino entre las edades de 31-60.
- ❖ El mes con más casos positivos para covid-19 fue en mes de Septiembre 2020 en un 38,06%.
- ❖ La información aquí mostrada arroja datos interesantes y prometedores en cuanto a la propagación de nuevos contagios de COVID-19 en personas con alta exposición de riesgo. Las evidencias de este estudio pueden contribuir a la toma de decisiones, tanto a nivel local como regional, para la adecuada planificación de la vacunación, así como también, para el manejo de la pandemia ante una posible tercera ola de casos en Bolivia (Tarija).

6.1 Recomendaciones

- ❖ Se recomienda dar continuidad al estudio y seguir recolectando datos de los nuevos casos de aquellos pacientes que sean sintomáticos o asintomáticos para Covid-19. Dado a que siguen apareciendo nuevos casos.
- ❖ Es necesario la identificación oportuna de pacientes con factores de riesgo, mediante controles serológicos respectivos.
- ❖ La posibilidad futura de una vacuna disponible plantearía un desafío en términos de poblaciones a las que sería prioritario inmunizar. El uso de pruebas serológicas de alta especificidad podría ayudar a identificar personas con serología negativa de grupos riesgo que sean candidatos a recibir la vacuna en una primera etapa.