

**SEROPREVALENCIA DE PARVOVIRUS HUMANO B19 EN PACIENTES
INMUNOCOMPROMETIDOS EN DOS INSTITUCIONES DEL VALLE DEL
CAUCA**



NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS DEL AUTOR O AUTORES

Maylee Ivete Hurtado Montaña

Hernán Gómez Moreno

Juan Camilo Ladino Pareja

Fabián Ricardo Laverde Vaca

DIRECTOR

Diego Fernando Lopez Muñoz

Beatriz Giraldo Ospina

UNIDAD CENTRAL DEL VALLE DEL CAUCA

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA MEDICINA

VALLE DEL CAUCA

TULUÁ

2022

(Dedicatoria o lema)

Dedicatoria para nuestra familia, Dios e institucion.

Agradecimientos

Agradecimientos a nuestro profesores de cabecera Diego Fernando López y Beatriz Giraldo, por confiar, persistir y formentar el area investigativa en nuestro formacion como médicos.

Resumen

La presente investigación se realizará en una institución médica de alta complejidad de la ciudad de Cali, en la cual se plantea hacer un estudio transversal descriptivo y exploratorio sobre la Seroprevalencia de *Parvovirus humano B19* en pacientes Inmunocomprometidos. Este virus posee ADN con genoma lineal monocatenario a su vez el agente infeccioso cobra importancia porque ataca a personas con deficiencia en su inmunidad y deja efectos deletéreos sobre la salud. Dentro del grupo de vulnerabilidad se encuentra el binomio madre e hijo, personas previamente diagnosticadas de Cáncer, Síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (VIH), Trasplantados y oncohematológicos, por citar parte de la población en riesgo. Este estudio de seroprevalencia y que a su vez es exploratorio, será de utilidad para determinar las características sociodemográficas de las poblaciones en riesgo para la enfermedad, para evaluar los mecanismos de transmisión, y para determinar los grupos de población que son críticos para mantener la transmisión de los agentes infecciosos y comparar la distribución del *Parvovirus humano B19* según tipo de inmunodeficiencia. El proyecto tiene como pertinencia la salud pública ya que la parvovirus en Colombia se considera un evento en salud, dado que afecta un grupo especial de población en riesgo de contraer el virus el cual modifica o incide en la situación de salud de una comunidad. Actualmente en nuestro país no existe un registro de casos de la enfermedad a pesar que su distribución es mundial y tampoco hay guías basadas en evidencias clínicas para llegar a su diagnóstico oportuno.

Palabras clave: Parvovirus B19 Humano, Infecciones Oportunistas, Seroprevalencia,

Anticuerpos.

Abstract

The present investigation will be carried out in a highly complex medical institution in the city of Cali, in which it is proposed to carry out a descriptive and exploratory cross-sectional study on the Seroprevalence of human Parvovirus B19 in immunocompromised patients.

This virus has DNA with a single-stranded linear genome; in turn, the infectious agent becomes important because it attacks people with deficient immunity and leaves deleterious effects on health. Within the vulnerability group is the mother and child pairing, people previously diagnosed with Cancer, Acquired Human Immunodeficiency Syndrome (HIV), Transplanted and oncohematological, to name part of the population at risk. This seroprevalence study, which in turn is exploratory, will be useful to determine the sociodemographic characteristics of the populations at risk for the disease, to evaluate the transmission mechanisms, and to determine the population groups that are critical for maintaining transmission. of infectious agents and compare the distribution of human Parvovirus B19 according to type of immunodeficiency. The project is relevant to public health since parvovirus in Colombia is considered a health event, since it affects a special population group at risk of contracting the virus, which modifies or affects the health situation of a community. Currently, in our country there is no registry of cases of the disease, despite the fact that its distribution is worldwide, and there are no guidelines based on clinical evidence to reach its timely diagnosis.

Keywords: Human Parvovirus B19, Opportunistic Infections, Seroprevalence, Antibodies.

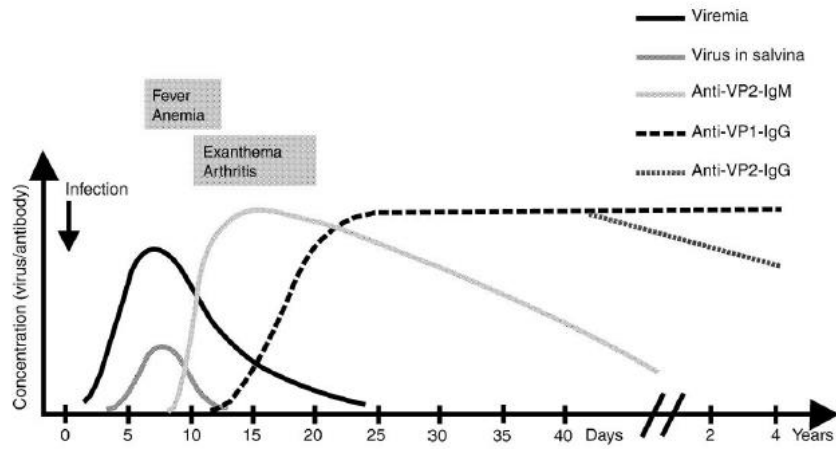
Tabla de Contenido

*La tabla de contenido se actualiza automáticamente. Para los textos **editados** en Microsoft Word se debe dar clic sobre con el botón derecho del mouse sobre la tabla de contenido y aparecerá el icono **Actualizar Campos**, luego aparecerá una ventana en la cual debe seleccionar la opción **Actualizar toda la tabla**, para finalizar da clic e el botón **Aceptar**.*

	Pág.
Resumen	V
Abstract	VI
Lista de Figuras	VIII
Lista de Tablas	X
Introducción	1
	1. 13
Bibliografía	5
Anexos	7

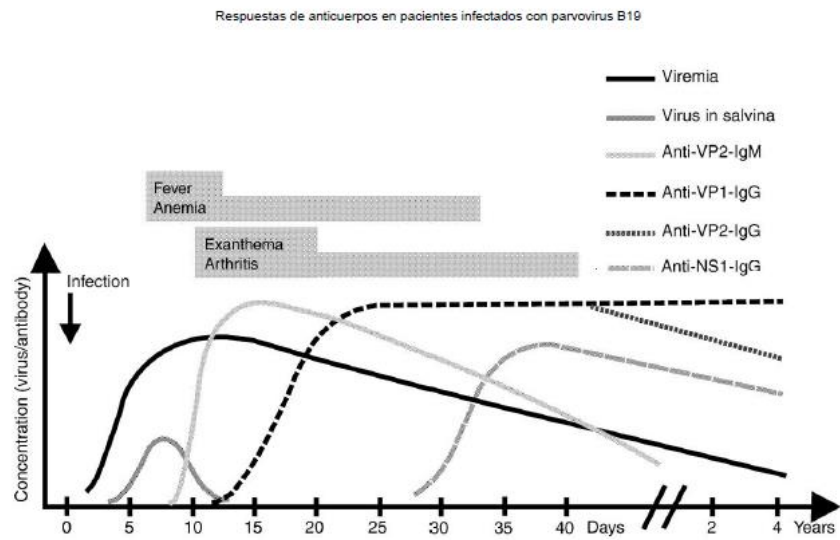
Lista de Figuras

Cinética anticuerpos en infección resuelta



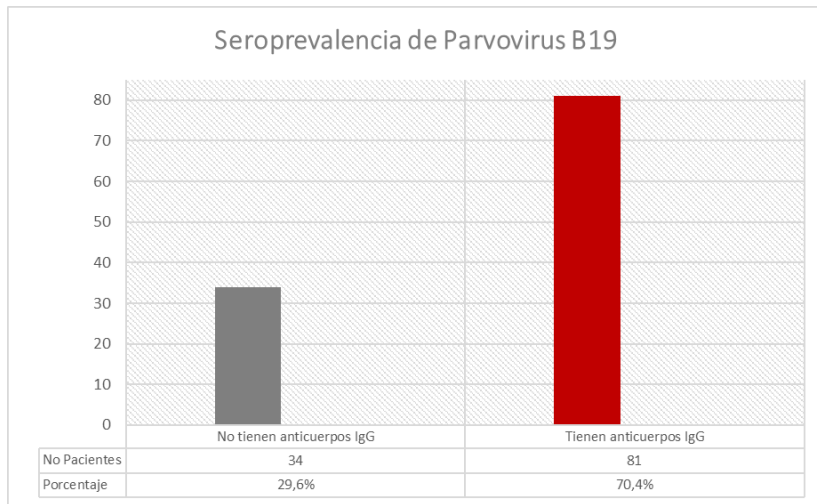
Parámetros serológicos encontrados en infecciones agudas y pasadas por B19 asociadas con la eliminación del virus de la sangre periférica.

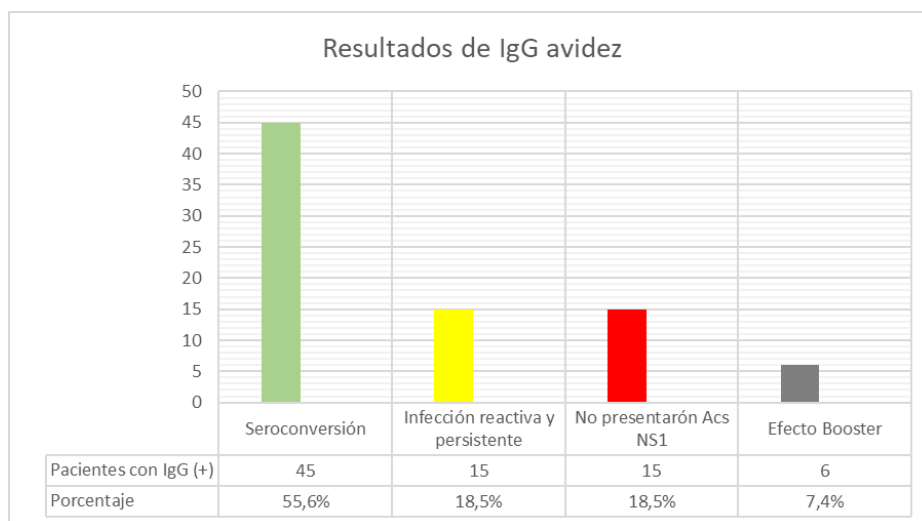
Cinética anticuerpos en no resuelta



Parámetros serológicos encontrados en infecciones persistentes por B19.

Lista de Tablas





Introducción

El parvovirus humano B19 (B19) es un pequeño virus de ADN con un genoma lineal monocatenario que codifica una proteína no estructural, NS-1 y dos proteínas de la cápside viral, VP1 (83 kDa) y VP2 (58 kDa), es iniciador del eritema infeccioso (quinta enfermedad de los niños), siendo los eritroblastos las células diana de la infección y asociado a crisis aplásicas (1,2).

El B19 utiliza como puerta de entrada las vías respiratorias altas aprovechando las secreciones orales y gotitas respiratorias, el cual se inocula para su replicación, se internaliza en células que se encuentran constantemente en proceso de mitosis como lo son las células precursoras eritroides y se disemina de persona a persona (contacto directo), posiblemente

por fómites y transfusión sanguínea, ha sido detectado en secreciones respiratorias, orina, sangre y derivados de ésta, así como en una variedad de tejidos (3).

Luego de su ingreso en la célula hospedadora se dirige al núcleo de esta para convertir su ADN monocatenario en DNA bicatenario haciendo uso de los factores de crecimiento expresados durante la fase S del ciclo celular como del ADN polimerasas. Las proteínas no estructurales de este virus se sintetizan en el citoplasma, luego las estructurales van al núcleo para formar parte del virión y este sale de la célula huésped causando destrucción de sus membranas tanto nuclear como plasmática (4)

En caso de transmisión vertical, se ha documentado hidropesía fetal y agente etiológico de un espectro de cuadro clínicos siendo una preocupación mundial, generalmente es inofensivo en individuos sanos, pero puede ser potencialmente mortal en individuos inmunocomprometidos, como pacientes con enfermedad de células falciformes, cáncer y VIH. La persistencia de la infección por B19 está relacionada con el grado de inmunodeficiencia del huésped, muestra un marcado tropismo en la médula ósea humana (5-7).

Según el plan decenal de salud clasificamos al Parvovirus Humano B19 como una enfermedad transmisible emergente y desatendida. Donde se define como el conjunto de intervenciones multisectoriales para reducir el impacto sobre la salud y el bienestar social y económico de la población colombiana de las enfermedades infecciosas consideradas desatendidas. Dicho esto, y debido a los pocos registros obtenidos a nivel nacional se realizará un estudio prospectivo, transversal y exploratorio. Pues la falta de vigilancia y la desatención de la enfermedad recae en mayor proporción a la población

inmunocomprometida, no solamente generando problemas de salud pública. Atendiendo a esto, nuestra investigación busca contribuir a los objetivos estipulados por el plan decenal en la dimensión “vida saludable libre de enfermedades transmisibles” en el componente “enfermedades emergentes, reemergentes y desatendidas” Lo cual dice:

- Reducir la carga de enfermedades transmitidas por vía aérea y de contacto directo, Infección respiratoria aguda.
- Vigilar y controlar las enfermedades generadas por patógenos que se consideran desatendidas(8).

El proceso investigativo del parvovirus B-19, aportará para el desarrollo y mejoramiento de la calidad de vida, ya que el virus en Colombia se ubica como una enfermedad desatendida por su falta de métodos diagnósticos para su conocimiento. La finalidad de este proyecto es contribuir al planteamiento de métodos diagnósticos de seroconversión en la parvovirus y así optimizar al bienestar integral del ciudadano, contribuyendo a políticas planteadas por el gobierno.

Desde el punto de vista epidemiológico, debido a su ubicuidad, la infección por B19 es común (40 a 60% de la población mundial), las personas se infectan a los 15 años de edad y aproximadamente el 80% de la población es seropositiva. Su máxima incidencia se encuentra en adultos jóvenes con evidencias del 50-60%, y en personas mayores de 50 años más del 80% tienen evidencias serológicas de infección pasada. Su incidencia se incrementa en temporadas de lluvia y en zonas de clima templado, aunque la infección puede ocurrir en cualquier época del año (9).

Con este estudio se plantea un nuevo procedimiento diagnóstico por WESTERN BLOT con una mayor sensibilidad y especificidad, para la confirmación de la parvovirus en pacientes

inmunocomprometidos, cabe resaltar que este método no se encuentra estipulado en Colombia, actualmente solo se utiliza pruebas por ELISA.

1. Desarrollo del trabajo de investigación o tesis

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de *Parvovirus humano B19* en pacientes inmunocomprometidos.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

1. Establecer las características sociodemográficas de la población objeto de estudio.
2. Identificar las características clínicas relacionados con el *Parvovirus humano B19* en la población y los factores asociados.
3. Comparar la distribución del *Parvovirus humano B19* según tipo de inmunodeficiencia.

3.3 Metodología

Diseño del estudio

Este es un estudio descriptivo –corte transversal- en el que se pretende evaluar el estado de Seroprevalencia, a través de un examen con Test recomLine Parvovirus B19 IgG IgM, prueba in vitro cualitativa con el uso de antígenos recombinantes altamente purificados.

Población de estudio

Personas a partir de 18 años de edad atendidas en la Clínica UCI del Rio, ciudad de Guadalajara de Buga. La institución de salud cuenta con la población cautiva sujeto de estudio y la Unidad Central del Valle del Cauca posee convenio docente-asistencial. Como selección de los participantes se espera un n=100 que cumplan con los criterios de inclusión teniendo presente el acompañamiento, diagnóstico y criterio médico por lo cual el tiempo de proyección para lo toma de las muestras es de 12 meses.

Materiales y equipo

Consumibles para la toma de muestra de sangre periférica. Reactivos Test recomLine Parvovirus B19 IgG IgM, prueba in vitro cualitativa para la detección de anticuerpos IgG, IgM a través del uso de antígenos recombinantes altamente purificados (Vp-2p, VP-N, VP-1S, Vp-2r, VP-C y NS-1) MIKROGEGEN DIAGNOSTIK.

Procedimientos**1. Población**

La Parvovirus humana se definirá con la identificación de anticuerpos específicos IgG e IgM frente a cada uno de los antígenos de *Parvovirus B19*, siendo por una parte una prueba confirmatoria para el esclarecimiento de resultados de screening poco claros, y por otro, puede proporcionar informaciones adicionales referentes al estado de la infección.

2. Toma de muestra

Con el fin de dar manejo a dicha investigación, las muestras serán tomadas por personal capacitado y entrenado por parte de la CLÍNICA UCI DEL RIO en toma de muestra, embalaje y transporte según lo reglamentado en la Guía del Instituto Nacional de Salud sobre transporte de sustancias infecciosas.

En estado de ayuno, para la extracción de 5 ml de sangre por sistema de vacío con gel sin anticoagulante (considerado riesgo mínimo), para su transporte por el equipo investigador al laboratorio de Microbiología Aplicada de la Unidad Central del Valle del Cauca, donde serán centrifugadas para obtener el suero y almacenarlos a -20°C hasta su uso.

En el caso de que la muestra al ser centrifugada el sobrenadante (suero) presente hemólisis, lipemia e ictericia es deber nuestro dar información al equipo interdisciplinar de la CLÍNICA UCI DEL RIO ya que estas muestras no se pueden procesar bajo estas variables biológicas las que pueden interferir con la sensibilidad de la prueba y se pueden excluir en gran medida interferencias potenciales de anticuerpos en reacciones cruzadas.

Al momento de procesar la muestra y obtenido el resultado, será de exclusividad el envío al médico tratante para su interpretación y conducta de acuerdo a la clínica del paciente.

3. Determinación Anticuerpos IgG [avidez], contra *Parvovirus B19*

Antígenos de Parvovirus B19 recombinantes altamente purificados (Vp-2p, VP-N, VP-1S, Vp-2r, VP-C y NS-1) se fijan en tiras de ensayo con una membrana de nitrocelulosa.

1. Las tiras de ensayo se incuban con una muestra diluida del suero o plasma. Se añaden anticuerpos específicos en los antígenos del agente en la tira de ensayo.
2. Los anticuerpos no ligados se aclaran a continuación.

3. En un segundo paso, las tiras se incuban con anticuerpos de inmunoglobulina (IgG, IgM) anti-humana que se han conjugado con peroxidasa de rábano.
4. Los anticuerpos conjugados no ligados se aclaran a continuación.
5. Con una reacción de color catalizado por la peroxidasa se comprueban los anticuerpos específicos ligados. Si ocurre una reacción antígeno-anticuerpo, aparecerá una barra oscura en el lugar correspondiente en la tira.

En el extremo superior de la tira de ensayo se encuentran las barras de control:

- a) El control de reacción, bajo el número de la tira, tiene que mostrar una reacción en cada suero o muestra de plasma.
- b) Controles de conjugado (IgG, IgM) permiten controlar el tipo de conjugado y de tira empleado (específico de clase Ig). Si se utiliza la tira de ensayo específica de IgG para la detección de anticuerpos IgG, la barra de control de conjugado IgG muestra claramente una reacción; en la prueba específica de IgM, la barra de control de IgM ha de mostrar una reactividad positiva.
- c) "Control de corte": La intensidad de esta barra permite evaluar de la reactividad de cada una de las barras de antígenos.

Plan de análisis

4. Los datos serán procesados en el software estadístico SPSS. La frecuencia de *Parvovirus B19* y la asociación entre la presencia de anticuerpos específicos IgG e IgM contra el *Parvovirus B19* y otros datos clínicos serán evaluados utilizando la prueba de Chi-cuadrado con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Criterios de inclusión: pacientes inmunosuprimidos mayores de 18 años, que de base tengan una inmunosupresión fisiológica, genética y adquirida, que presenten clínicamente signos de fiebre, cefalea intensa, exantema, artralgias en extremidades superiores e inferiores y evidenciar en el cuadro hemático anemia persistente, citopenia idiopática y hepatomegalia a la exploración física.

Criterios de exclusión: pacientes que no tengan inmunosupresión de base y pacientes inmunosuprimidos que estén en tratamiento con inmunoglobulinas intravenosas. Grupo de pacientes que ya se halla diagnóstico la parvovirus con anterioridad. Pacientes menores de 18 años. Muestras que al ser centrifugadas el sobrenadante (suero) presente hemólisis, lipemia e ictericia.

Discusion:

Moffatt et al, en su estudio La proteína no estructural (NS1) del parvovirus B19 humano induce la apoptosis en células de linaje eritroide, en dicha investigación asocian La infección de células de linaje eritroide por el parvovirus humano B19 se caracteriza por un efecto citocida gradual. La evidencia implica a la proteína no estructural (NS1) del virus en la citotoxicidad.

Hsu et al, en su estudio de La proteína no estructural (NS1) del parvovirus B19 humano induce la apoptosis a través de la ruta de muerte celular de las mitocondrias en células COS-7. Plantea que se ha encontrado parvovirus humano B19 en varios tejidos además de células de linaje eritroide, y se informa que la proteína no estructural (NS1) induce citotoxicidad y apoptosis en células de linaje eritroide.

Feng et al, plantea en su estudio Nuevos conocimientos sobre el parvovirus B19 humano en la modulación de la diferenciación de células progenitoras eritroides. La proteína no estructural NS1 se considera el principal factor patógeno, que se ha demostrado que inhibe la diferenciación y maduración de las células progenitores eritroides mediante la inducción de respuestas al daño del ADN viral y la detención del ciclo celular.

Feng et al, plantea: Dicha proteína puede afectar la vía de señalización de Notch o los factores transcripcionales GATA, que desempeñan un papel importante en la proliferación y diferenciación de células eritroides.

Conclusiones:

Se observó una seroprevalencia global de anticuerpos anti-Parvovirus B19 de 70.4% lo que refleja la importancia de realizar estudios serológicos para proporcionar nuevos conocimientos sobre la transmisión y el estado seropositividad o seroconversión, que de otro modo podría estar oculto en pacientes oncológicos dado su riesgo particular de infección que puede causar una enfermedad grave, donde se observó que 81/109 sueros fueron positivos para los antígenos VP-2p VP-N VP-1S VP-2r VP-C marcadores específicos indicadores de infección y seroconversión lo que se respalda con respuesta de anti-IgM y anti-IgG donde los marcadores VP-1S y VP-C.

Las técnicas que miden la avidéz de las IgG permiten una estimación más precisa del tiempo de infección que, junto con las técnicas de PCR, podrían aclarar las infecciones persistentes o secundarias en sujetos inmunodeprimidos y una prueba según la literatura no excluye la otra esto con el propósito de establecer un mejor diagnóstico.

Estimar el subdiagnóstico de Parvovirus humana B19 en los pacientes inmunosuprimidos con sintomatología sugestiva y cambiar el paradigma del diagnóstico clínico.

Uso de nuevas tecnologías para el diagnóstico Serológico.

Dar nuevos aportes en el diagnóstico de infecciones oportunistas para el manejo integral del paciente inmunosuprimido.

Bibliografía o Referencias

1. Heegaard ED, Brown KE. Human Parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev.* julio de 2002;15(3):485-505.
2. Chirambo-Kalolekesha M, Kaile T, Mwaba F, Daka V, Simakando M, Kowa S. Seroprevalence of parvovirus B19 in blood donors: the risks and challenges of blood transfusion in Zambia in the era of HIV/AIDS at the Kitwe Central Hospital, blood bank. *African Health Sciences.* 1 de enero de 2018;18(3):496-502-502.
3. García González R, Basilio Hernández D, Hernández Ramírez A. Diagnóstico de laboratorio del parvovirus B19. *Revista de la Facultad de Medicina (México).* abril de 2012;55(2):4-10.
4. Calvet A, Pujol MO, Bertocchi M, Bastien O, Boissonnat P, Mornex JF. Parvovirus B19 infection in thoracic organ transplant recipients. *Journal of Clinical Virology.* 1999;13(1-2):37-42.
5. Rodríguez Bandera AI, Mayor Arenal M, Vorlicka K, Ruiz Bravo-Burguillos E, Montero Vega D, Vidaurázaga Díaz-Arcaya C. Estudio retrospectivo de 49 casos de infección aguda por parvovirus B19 en adultos. *Actas Dermo-Sifiliográficas.* 1 de enero de 2015;106(1):44-50.
6. Eid AJ, Ardura MI, Practice the AIDC of. Human parvovirus B19 in solid organ transplantation: Guidelines from the American society of transplantation infectious diseases community of practice. *Clinical Transplantation.* 2019;33(9):e13535.
7. Rinkūnaitė I, Šimoliūnas E, Bironaitė D, Rutkienė R, Bukelskienė V, Meškys R, et al. The Effect of a Unique Region of Parvovirus B19 Capsid Protein VP1 on Endothelial Cells. *Biomolecules.* 19 de abril de 2021;11(4):606.
8. Marano G, Vaglio S, Pupella S, Facco G, Calizzani G, Candura F, et al. Human Parvovirus B19 and blood product safety: a tale of twenty years of improvements. *Blood Transfus.* abril de 2015;13(2):184-96.

Anexos

Nombre de Investigadores	Formación	Funciones dentro del proyecto	Tiempo dedicación Horas/semana	Duración/ meses	Costo /hora	Costo Total
1. Diego Fernando López Muñoz	Mg	<p>Coordinación y gestión institucional.</p> <p>Recopilación de información.</p>	4	10	32.000	5.120.000
2. Beatriz Giraldo Ospina	Mg	<p>Selección de muestra poblacional.</p> <p>Asistencia a convocatoria, capacitación y orientación a población objeto de estudio.</p> <p>Explicación de toma de muestras.</p> <p>Evaluar seroprevalencia de Parvovirus B19 IgG IgM por medio de prueba in vitro cualitativa para la detección de anticuerpos IgG, IgM a través del uso de antígenos</p>	10	10	32.000	10.240.000

		<p>recombinantes altamente purificados (Vp-2p, VP-N, VP-1S, Vp-2r, VP-C y NS-1) MIKROGEGEN DIAGNOSTIK.</p> <p>Parvovirus B19 IgG IgM, prueba in vitro cualitativa para la detección de anticuerpos IgG, IgM a través del uso de antígenos recombinantes altamente purificados (Vp-2p, VP-N, VP-1S, Vp-2r, VP-C y NS-1) MIKROGEGEN DIAGNOSTIK. Informe de resultados.</p> <p>Elaborar informes de avance.</p> <p>Participación en ponencia internacional.</p> <p>Construir artículos.</p>				
4. Hernán Gómez Moreno	Est. Monitor	Asistencia a convocatoria y orientación a población objeto de estudio.	20	10	5.850	4.680.000

		<p>Aplicación de encuesta y registro de consentimiento informado.</p> <p>Explicación de toma de muestras.</p> <p>Procesamiento de muestras.</p> <p>Realizar base de datos.</p> <p>Informes de avance.</p>				
5. Juan Camilo Ladino Pareja	Est.	Asistencia a convocatoria y orientación a población objeto de estudio.				
6. Fabián Ricardo Laverde Vaca	Est.	Aplicación de encuesta y registro de consentimiento informado.				
7. Maylee Ivetee Hurtado Montaña	Est.	<p>Explicación de toma de muestras.</p> <p>Procesamiento de muestras.</p> <p>Realizar base de datos.</p>				
TOTAL						\$20.040.000

Tipo de Materiales o insumos (describir todas las especificaciones técnicas)	Cantidad	Justificación (para que se necesita, utilidad en el proyecto)	Costo
Fotocopias	2.000	Formatos recolección de información. Consentimientos informados. Informes de avance. Informes interinstitucional.	\$100.000
Test recomLine MIKROGEGEN DIAGNOSTIK.	10	Consumibles para la toma de muestra de sangre periférica. Reactivos Test recomLine Parvovirus B19 IgG IgM, prueba in vitro cualitativa para la detección de anticuerpos IgG, IgM a través del uso de antígenos recombinantes altamente purificados (Vp-2p, VP-N, VP-1S, Vp-2r, VP-C y NS-1)	\$9.000.000
Total			\$9.100.000