



Estudio de marcadores de infección e inmunidad frente a parvovirus B19 en Córdoba, Argentina

Mauro Pedranti.

Tesis - Doctor en Ciencias de la Salud - Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Médicas. Secretaría de Graduados en Ciencias de la Salud, 2017.

Aprobada: 2017

Este documento está disponible para su consulta y descarga en RDU (Repositorio Digital de la Universidad Nacional de Córdoba). El mismo almacena, organiza, preserva, provee acceso libre y da visibilidad a nivel nacional e internacional a la producción científica, académica y cultural en formato digital, generada por los miembros de la Universidad Nacional de Córdoba. Para más información, visite el sitio <https://rdu.unc.edu.ar/>

Esta iniciativa está a cargo de la OCA (Oficina de Conocimiento Abierto), conjuntamente con la colaboración de la Prosecretaría de Informática de la Universidad Nacional de Córdoba y los Nodos OCA. Para más información, visite el sitio <http://oca.unc.edu.ar/>

Esta obra se encuentra protegida por una Licencia Creative Commons 4.0 Internacional



Estudio de marcadores de infección e inmunidad frente a parvovirus B19 en Córdoba, Argentina by Mauro Pedranti is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License.



Universidad Nacional de Córdoba

Facultad de Ciencias Médicas

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD

Tesis Doctoral

ESTUDIO DE MARCADORES DE INFECCIÓN E INMUNIDAD FRENTE A
PARVOVIRUS B19 EN CÓRDOBA, ARGENTINA

Bioq. Mauro Pedranti

Lugar de trabajo

Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella"

Córdoba

2017

Director

Prof. Dra. María Pilar Adamo

Comisión de Seguimiento de Tesis

Prof. Dra. María Pilar Adamo

Prof. Dra. Marta Zapata

Prof. Dr. Alberto Francisco Leoni

"LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS NO SE HACE SOLIDARIA CON LAS OPINIONES DE
ESTA TESIS"
RHCD N°53/02 y RHCS N°195/02

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a las personas que colaboraron a lo largo de este trabajo:

A la Dra. Marta Zapata, por la confianza que depositó en mí, por sus consejos y aliento, pero mucho más aún por su ejemplo de perseverancia.

A mi directora, Pilar Adamo, por su constante dedicación.

Al Dr. Alberto Leoni por sus consejos y aportes realizados.

A mis compañeros del Instituto de Virología por participar en debates sobre mis planteos.

A aquellos Profesores del Doctorado que me hicieron sentir que no sólo daban un curso, sino que intentaban transmitir su experiencia: Dr. Aldo Eynard, Dra. Ruth Fernández y Dr. Adrián Carbonetti.

A aquellos profesionales de la salud de diferentes instituciones que colaboraron con este proyecto: Dr. Manuel Jofré, Dra. Liliana Asís, Bioq. Natalia Romano, Bioq. Liliana Cervetta, Dr. Ariel Bertoldi, Tec. Olga Zorrila, Dr. Constancio Giraudo, Bioq. Esp. Brenda Ricchi, Dra. Cristina Wolff, Dra. María del Pilar Díaz, Dra. María Dolores Román, entre otros.

Al personal administrativo del Doctorado, que con su dedicación facilitaron la comprensión y el orden de los pasos a seguir: Pabla Sassatelli, Macarena Noya y Lorena Jones.

A Daniela por su apoyo y paciencia.

A mis hermanos.

A mis Padres.

Tabla de contenido

RESUMEN	8
ABSTRACT	10
ABREVIATURAS.....	12
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	14
Un breve repaso por su historia.....	14
Clasificación.....	14
Propiedades del virus	15
Replicación	17
Historia natural de la infección	18
Epidemiología.....	20
Patologías asociadas a B19V	20
Exantema febril	21
Manifestaciones articulares: artritis y artralgia	23
Patologías en el embarazo y la infección congénita	25
Pacientes con VIH/SIDA.....	28
B19V y enfermedades hematológicas.....	30
Hipótesis.....	31
Objetivo general.....	32
Objetivos específicos.....	32
MÉTODOS.....	34
Diseño del estudio.....	34
Ensayos serológicos.....	34
Detección de ADN de B19V	34
Cuantificación de ADN de B19V	35
Interpretación de parámetros virológicos / inmunológicos	36
Grupos de estudio	36
Pacientes con exantema febril	36
Pacientes con artritis y/o artralgia	37
Embarazadas sintomáticas.....	37
Pacientes neonatales	38
Pacientes con VIH-SIDA.....	38
Pacientes con enfermedades hematológicas.....	39
Individuos asintomáticos.....	40

Análisis estadístico	40
RESULTADOS	41
Pacientes con exantema febril	41
Marcadores de infección e inmunidad.....	41
Aspectos clínicos asociados.....	42
Aspectos epidemiológicos.....	43
Pacientes con artritis y/o artralgia	44
Embarazadas sintomáticas.....	47
Pacientes neonatales	49
Pacientes con VIH-SIDA.....	50
Pacientes con enfermedades hematológicas.....	54
DISCUSIÓN.....	56
CONCLUSIONES	71
RECOMENDACIONES.....	73
REFERENCIAS.....	74
ANEXOS	95
1_Declaración de consentimiento informado	96
2_Formulario de notificación de enfermedad febril exantemática	97

RESUMEN

El parvovirus B19 (B19V), descubierto en 1974, es un patógeno humano de distribución global. Si bien su infección puede transcurrir de manera asintomática, es conocido por ser capaz de causar un amplio espectro de manifestaciones clínicas como son el eritema infeccioso, artropatías, crisis aplásica en individuos con recambio acelerado de glóbulos rojos por una enfermedad de base, y anemia crónica en inmunocomprometidos, entre otras patologías en las que aún se investiga la causalidad del B19V. La infección durante el embarazo es un riesgo potencial para el feto. Con el **objetivo** de estudiar la presencia de B19V en Córdoba, Argentina, en este trabajo determinamos los marcadores de infección e inmunidad (ADN viral, IgM e IgG específicas) en diferentes grupos de individuos, en quienes podía incluirse el diagnóstico diferencial de B19V como agente causal por la presencia de sintomatología que puede asociarse a la infección. La población estudiada incluyó pacientes con exantema febril (EF), artritis y/o artralgia (AA), mujeres con sospecha de infección por B19V durante el embarazo (embarazadas y recién nacidos sintomáticos), adultos con VIH/SIDA con recuentos de linfocitos CD4+ (CD4+) <200, 200 - 500 y >500, y pacientes con enfermedades hematológicas preexistentes. Los marcadores serológicos y virológicos de la infección por B19V en estos grupos de estudio se compararon con los de grupos de referencia, constituidos por individuos asintomáticos con características demográficas similares.

Resultados: en el grupo de pacientes con EF la detección de IgM confirmó el diagnóstico de eritema infeccioso en 14,9% de los pacientes, en tanto que 18,4% tenían ADN del virus y 51,1% IgG específica. La mayor proporción de detección de ADN viral que de IgM específica fue acompañada por la misma tendencia en el grupo de asintomáticos: IgM 0%, ADN 9,7% e IgG 41,9%, siendo las frecuencias de detección de ADN significativamente diferentes ($p=0,003$). Los datos de 2005 a 2009 indican que el 2007 fue un año epidémico, con 39,1% de los casos de EF estudiados con B19V como agente etiológico confirmado por detección de IgM. Ningún parámetro fue significativamente diferente en los pacientes con AA (IgM 0%, ADN 25,0%, IgG 50,0%) con respecto al grupo de individuos sanos (IgM 0%, ADN 11,7%, IgG 62,8%). En el grupo de mujeres embarazadas, 21,1% tuvo infección por B19V confirmada por IgM, en tanto que se detectó ADN en 31,6% e IgG en 71,1%, similar al grupo de referencia. Entre los pacientes

neonatos se encontró IgM en 5,3%, ADN en 21,6% (todos con hidropesía) e IgG en 84,2%. En los pacientes con VIH-SIDA se detectó IgM específica en 5,1%, ADN en 15,3% e IgG en 68,4%. En ellos, considerando los recuentos de linfocitos CD4+, sólo fue significativa la diferencia en la prevalencia de IgG anti-B19V en el grupo con mayor concentración de células T frente al grupo de individuos sin VIH y no hubo asociación entre B19V y anemia en estos pacientes. En el grupo de pacientes con enfermedades hematológicas no se encontró IgM anti-B19V, 12,9% tenía ADN y 71,4% IgG, ninguno significativamente diferente del grupo de individuos sanos.

Conclusiones: los resultados muestran la amplia circulación de B19V en nuestro medio. La frecuente detección del ADN viral en cada grupo de estudio en mayor proporción que la detección de IgM específica y en individuos sanos, sugiere la persistencia del agente en el hospedador, al menos por un tiempo, transcurrida la etapa aguda de la infección. La confirmación de la infección por B19V en alta proporción en pacientes con exantema febril, embarazadas y recién nacidos sintomáticos, indica el impacto local del virus en estos grupos y sustenta la necesidad de incluir al mismo entre los patógenos a tener en cuenta en estos pacientes. La asociación entre la presencia de ADN y las artropatías estudiadas justifica futuras investigaciones a mayor escala y con series de casos más acotadas. Por otra parte, en los pacientes con VIH/SIDA (todos adultos) y en los pacientes con enfermedades hematológicas no se encontró al B19V en mayor prevalencia ni hubo mayor asociación con anemia, en comparación con los individuos de referencia respectivos (individuos con serología negativa para VIH y sanos). En general los resultados evidencian la necesidad de evaluar tanto la IgM específica como el ADN viral en las muestras para la confirmación diagnóstica de las patologías en grupos particulares de riesgo y en las que el B19V tiene una menor incidencia, dado que un solo marcador en una única muestra clínica puede no ser concluyente en la interpretación diagnóstica. Este trabajo, el primero de estas características realizado en Argentina, representa una contribución al conocimiento de la presencia de B19V en las diferentes patologías estudiadas.

ABSTRACT

Parvovirus B19 (B19V), discovered in 1974, is a pathogen of global distribution. While the infection can be asymptomatic, it is known for being able to cause a wide range of clinical manifestations such as erythema infectiosum (or fifth disease), arthropathy, aplastic crisis in persons with accelerated red blood cell renewal due to a base disease, and chronic anemia in immunocompromised individuals, among other pathologies in which B19V causality is still under research. In addition, infection during pregnancy is a potential risk for the fetus. With the **aim** of studying the presence of B19V in Córdoba, Argentina, in this work we determined the markers of infection and immunity (viral DNA, specific IgM and IgG) in different groups of individuals in whom B19V differential diagnosis could be included as the causal agent due to the presence of signs/symptoms that can be associated with the infection. The studied population included patients with febrile exanthema (FE), arthritis and/or arthralgia (AA), women with suspected B19V infection during pregnancy (symptomatic pregnant women and newborn), adults with HIV/AIDS with CD4+ lymphocyte count (CD4+) <200, 200 - 500 and >500, and patients with pre-existing hematologic diseases. Serological and virological markers of B19V infection in these study groups were compared to those in the reference groups, constituted of asymptomatic individuals with similar demographic characteristics.

Results: in the group of FE patients, detection of IgM confirmed the diagnosis of erythema infectiosum in 14.9% of patients, while 18.4% had the virus DNA and 51.1% had specific IgG. The greater proportion of detection of viral DNA in comparison to that of specific IgM was accompanied by the same tendency in asymptomatic individuals: IgM 0%, DNA 9.7% and IgG 41.9%, where the DNA detection frequencies were significantly different ($p=0.003$). Data from 2005 until 2009 show that 2007 was an epidemic year, with 39.1% of studied cases of FE with B19V as the etiological agent confirmed by detection of IgM. No parameters were significantly different in patients with AA (IgM 0%, DNA 25.0%, IgG 50.0%) when compared to the healthy individuals group (IgM 0%, DNA 11.7%, IgG 62.8%). In the pregnant women group, 21.1% had B19V infection confirmed by IgM versus none in the reference group ($p=0.017$), while DNA was detected in 31.6% (versus 11.1% in the reference group, $p=0,075$) and IgG in 71.1%,

similar to the reference group. Among neonatal patients, IgM was found in 5.3%, DNA in 21.6% (all with fetal hydrops) and IgG in 84.2%. In HIV/AIDS patients, specific IgM was found in 5.1%, DNA in 15.3% and IgG in 68.4%. Taking into consideration the CD4+ lymphocyte count, only the presence of anti-B19V IgG was significant in the group with greater concentration of T-cells compared to the group of individuals without HIV, and there was no association between B19V and anemia in these patients. In the group of patients with hematologic diseases, no anti-B19V IgM was found, 12.9% had DNA and 71.4% had IgG, none of which was significantly different from the healthy individuals group.

Conclusions: the results show the high prevalence of B19V in our environment. The frequent detection of viral DNA in each study group in a proportion greater than that of the detection of specific IgM and in healthy individuals suggest the persistence of the agent in the host, at least for a period of time after the acute stage of the infection. The confirmation of B19V infection in high proportion in patients with febrile exanthema, pregnant women and symptomatic newborn indicates the local impact of the virus in these groups and supports the need to include B19V diagnosis, among other possible etiologies of these clinical conditions. The association between the presence of viral DNA and arthropathies justifies larger-scale future research, with more limited case series. On the other hand, no causal association was found between B19V and anemia in patients with HIV-AIDS (all of them adults), like in patients with hematologic diseases. In general, the results show the need to evaluate both specific IgM and viral DNA, in order to accurately diagnose B19V infection causative role, particularly in risk groups, since only one marker in a single clinical sample could lead to an inconclusive interpretation of diagnostic results. This work, the first of its kind carried out in Argentina, represents a contribution to the knowledge of the presence of B19V in the different studied pathologies.

ABREVIATURAS

AA: artritis / artralgia

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADN-B19V: ADN de B19V

ANA: anticuerpos antinucleares

B19V: parvovirus B19

BFU-E: precursores primitivos del linaje eritroide

CD4+: linfocitos CD4+

CFU-E: precursores de la etapa tardía del linaje eritroide

DNA: deoxyribonucleic acid

EF: exantema febril

EPCs: progenitoras de la línea eritroide

Epo: eritropoyetina

FR: factor reumatoideo

GB: glóbulos blancos

Gb4Cer: globósido Gb4Cer

HAART: terapia antirretroviral altamente activa

HB: hemoglobina

HIV: human immunodeficiency virus

HNI: hidrops fetal no inmune

Hto: hematocrito

ICTV: Comité Internacional de Taxonomía de Virus

IFN- γ : Interferón gamma

IL1- β : Interleucina 1 Beta

IL6: Interleucina 6

MO: médula ósea

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

RN: recién nacidos

SRC: síndrome de rubéola congénita

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

VP1u: región única de VP1

VSG: velocidad de sedimentación globular o eritrosedimentación

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Un breve repaso por su historia

El parvovirus B19 (B19V) fue descubierto en el año 1974 y publicado por primera vez en el año 1975 por Ivonne Cossart, científica australiana que trabajando en Londres, testeaba sueros de donantes asintomáticos por inmunodifusión doble frente al antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, encontrando uno positivo en la muestra número 19 del panel B (Cossart, 1975).

En la inmunodifusión, el antígeno y el anticuerpo difunden en un gel desde orificios cercanos y cuando se encuentran, si reaccionan entre ellos, se puede observar un halo de precipitación; de lo contrario, si no hay reacción, la difusión continúa su camino y no se observa dicho halo. Dado que la concentración de antígeno debía ser alta para ser detectado por este método, Cossart lo aisló y lo fotografió usando un microscopio electrónico, donde observó diferencias con el virus de la hepatitis B. Este virus era de menor tamaño, más parecido a los parvovirus animales que ya se conocían, lo que junto a la clasificación de la muestra original, le darían su nombre durante casi 40 años.

Ya en esa primera publicación, testeó a cientos de personas, incluido su propio equipo de trabajo, con técnicas “*in house*” de baja sensibilidad y especificidad, encontrando una prevalencia de anticuerpos específicos creciente con la edad y superior al 30% en adultos.

Hasta ese momento, no se relacionaba al parvovirus B19 con ninguna enfermedad, pero esto cambiaría en 1981, cuando se asignó al B19V un papel etiológico en la crisis aplásica, durante un estudio en pacientes con anemia falciforme (Serjeant *et al*, 1981). Pocos años después el B19V se identificaría como causante del eritema infeccioso (Anderson *et al* 1983) y luego se lo vincularía con diferentes artropatías (White *et al*, 1985).

Clasificación

El Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) ha cambiado la denominación del parvovirus B19 a partir del año 2013. Este comité revisa

periódicamente la clasificación taxonómica según la evidencia acumulada, por lo que la denominación de B19V ha cambiado varias veces. En 1993 cambia del género *Parvovirus* a *Erythrovirus* manteniendo el nombre de especie, *virus B19*. En 2005 la especie se designó *parvovirus humano B19*, mientras que desde 2013 el género se renombró como *Erythroparvovirus* y la especie *Erythroparvovirus primate 1*. El B19V pertenece a la familia *Parvoviridae* (familia que junto a otras 81 no tienen un orden asignado), que posee dos subfamilias: *Densovirinae* y *Parvovirinae*, perteneciendo el B19V a esta última (Figura 1).

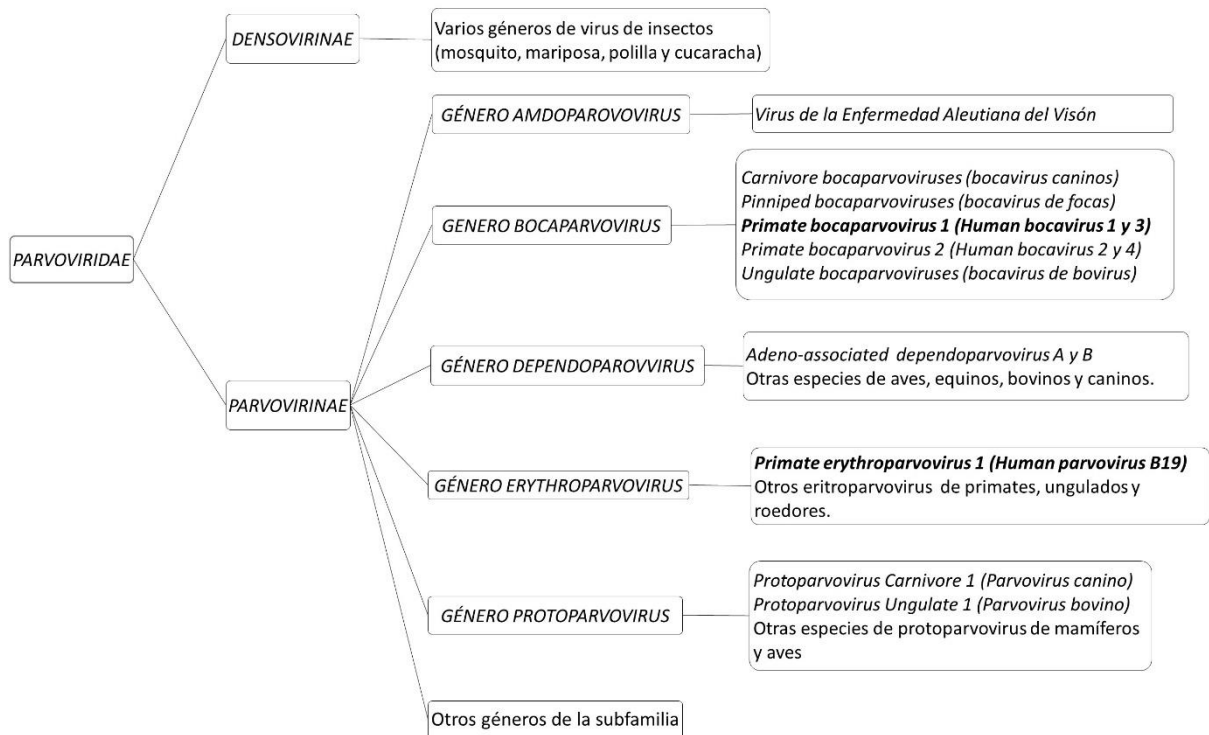


Figura 1. Clasificación taxonómica de B19V (ICTV 2015). En negrita, las dos especies de parvovirus actualmente consideradas patógenas para el humano.

Propiedades del virus

El B19V es un virus ADN de cadena simple, no envuelto, de simetría icosaédrica, con un diámetro de partícula de 22 a 24 nm. Posee dos proteínas estructurales: VP1 (83KD) y VP2 (58KD) que son idénticas salvo una porción extra de 227 amino ácidos

presentes sólo en VP1. Este fragmento, localizado en la parte externa de la cápside, se llama región única de VP1 (VP1u) y posee los principales epitopes neutralizantes del virus (Zhi *et al*, 2006). Las cápsides, sin embargo, están compuestas en un 95% por VP2 (Bonsch *et al*, 2008). Es usual encontrar cápsides vacías cuando se observa un preparado con tinción negativa al microscopio electrónico (Heegard y Brown, 2002). El virus es estable en condiciones ambientales normales por carecer de envoltura. Conserva la infectividad durante una hora a 56°C y los solventes para lípidos no le causan efecto (Schwarz *et al*, 1992).

Hasta la fecha, se han identificado 3 genotipos del B19V. Los genotipos 1 y 3 poseen a su vez dos sub-genotipos (Slavov *et al*, 2013; Figura 2).

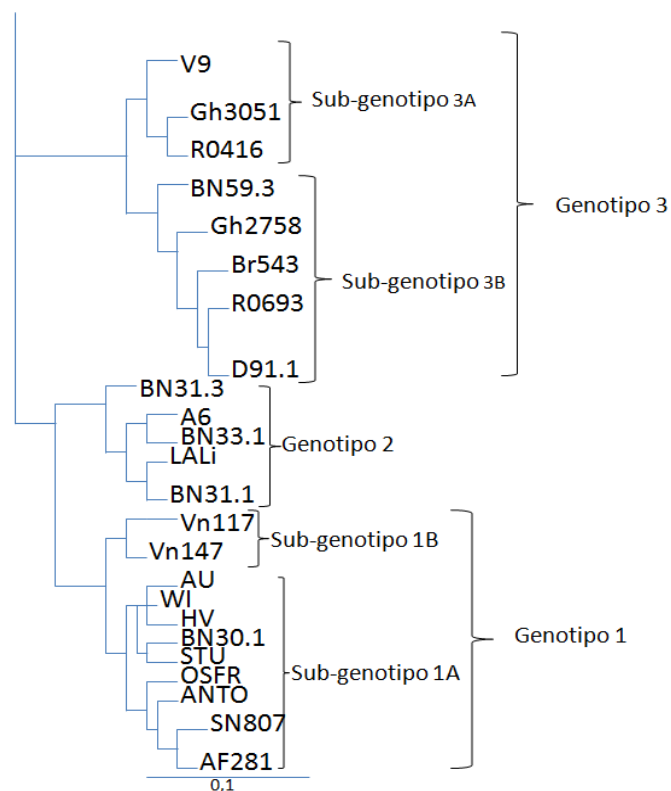


Figura 2. Genotipos del B19V (Adaptación de Slavov *et al*, 2013).

El genotipo 1A es el de mayor prevalencia en suero, mientras que algunos estudios encuentran al genotipo 2 mayormente asociado a tejidos (Tabla 1). No obstante, existe un solo serotipo del virus (Ekman *et al*, 2007).

Tabla 1. Genotipos de B19V reportados en diferentes publicaciones

Genotipo	Prevalencia	País y referencia
1A	80%	Brasil. Pereira <i>et al</i> 2014
1A	100%	Irán. Azadmanesh <i>et al</i> 2015
1A; 3B	62,5%; 37,5%	Brasil. Da Costa <i>et al</i> 2013
1; 2; 3	28%; 68%; 3% (en tejido)	Italia. Corcioli <i>et al</i> 2008
1; 3A	90%; 10%	India. Jain <i>et al</i> 2014

Replicación

El ADN del B19V tiene un tamaño de 5,6KB. Está compuesto por una secuencia interna de 4830 bases flanqueada por dos secuencias idénticas de 383 bases cada una (Deiss *et al*, 1990). Como en la mayoría de los parvovirus animales, este genoma posee dos grandes marcos de lectura, uno a la izquierda del genoma (extremo 5') para las proteínas no estructurales y el del lado derecho (extremo 3') para las proteínas estructurales. La transcripción origina al menos nueve RNA mensajeros superpuestos, todos desde el promotor P6 ubicado en el extremo 5' (Heegard, 2002). Las proteínas más importantes que se producen en la transcripción son las estructurales VP1 y VP2 y la no estructural NS1, que posee un rol principal en la replicación del ADN, estando además implicada en múltiples funciones: transactivación de genes virales y celulares, detención del ciclo celular, apoptosis, respuesta al daño del ADN, modulación de la respuesta inmune del huésped y empaquetamiento del ADN viral dentro de la cápside (Tewari *et al*, 2014). Además se identificaron dos proteínas de menor tamaño, de 11KD y 7,5KD. La proteína de 11KD se produce en una proporción 100 veces mayor que NS1 durante la replicación del virus y estaría más implicada en la inducción de la apoptosis de la célula infectada que la propia NS1, mientras que para la de 7,5KD no ha sido reportada aún función alguna en la infección por B19V (Chen *et al*, 2010). La proteína NS1 es un producto temprano de la replicación del B19V. En algunas líneas celulares no

permisivas, en las cuales el virus puede ingresar pero no logra completar la replicación y generación de la progenie, se puede detectar la producción de NS1 ligada con el desencadenamiento de la muerte celular apoptótica (Yaegashi *et al*, 1999).

Historia natural de la infección

El virus se transmite a través de los aerosoles de secreciones respiratorias, aunque también se debe mencionar que es posible su transmisión a través de transfusiones y productos derivados de la sangre (Chorba *et al*, 1986; Azzi *et al*, 1999). El B19V posee un tropismo especial hacia las células progenitoras de la línea eritroide (CPE) situadas en médula ósea o en el hígado fetal (Von Kietzell *et al*, 2014). La selectividad del B19V para reproducirse en las CPE se debe, en parte, a la expresión del antígeno P (Globósido Gb4Cer), presente en estas colonias celulares y que funciona como receptor del B19V. Mientras las células madre no son infectadas, las siguientes colonias en la línea de diferenciación son muy permisivas: son las llamadas precursores primitivos del linaje eritroide (BFU-E) y precursores de la etapa tardía del linaje eritroide (CFU-E), así como los proeritroblastos. Todas estas poblaciones celulares tienen en común la expresión del antígeno CD36 y provienen de la diferenciación de las células CD34+ (Wong *et al*, 2007). Gb4Cer está muy expresado en las CPE, que son el principal blanco del B19V, pero esto no alcanza por sí sólo para explicar la patogenicidad y el tropismo del virus. Así fueron identificadas dos moléculas más: Ku80, antígeno que funcionaría como co-receptor del virus y Alfa5Beta1, integrina que participa en su internalización (Bonsch *et al*, 2010). A su vez, la presencia de Eritropoyetina (Epo) así como la integridad de su receptor (EpoR) y la señal del mismo serían indispensables para la replicación del B19V en las CPE (Chen *et al*, 2010 b).

Por otro lado, se sabe que la región VP1u no se presenta accesible en la superficie de la cápside, pero queda expuesta por cambios conformacionales dependientes de la temperatura y el pH durante el tráfico de virus por la vía endocítica. Se cree que la exposición intracelular de VP1u es importante para el escape endosomal y la localización nuclear. En contraste con otros parvovirus, VP1u se hace accesible a los anticuerpos luego de la unión a Gb4Cer. La función específica de la temprana exposición de VP1u no se conoce, pero existe evidencia sólida de que la interacción entre la región N-terminal

de VP1u y la membrana de la célula huésped gatillarían la entrada del virus (Leisi *et al*, 2013).

La Figura 3 muestra el curso de los principales marcadores virológicos, serológicos y hematológicos en la primoinfección. Luego de la inoculación intranasal de B19V en adultos sanos susceptibles a la infección, se observó una intensa viremia una semana después, acompañado de una enfermedad leve con fiebre, malestar, mialgia, prurito y excreción de virus por el tracto respiratorio. Se ha observado una concentración de virus en sangre del orden de 10^7 UI/mL o mayor, que a los 4 o 5 días disminuye rápidamente hasta $10^3 - 10^4$ UI/mL para continuar descendiendo más lentamente en el tiempo (Lindblom *et al*, 2005). El estudio revela un descenso en el recuento de reticulocitos en los días siguientes, además de un ligero descenso en la concentración de hemoglobina, linfopenia, leucopenia y caída en el recuento de plaquetas. En personas inmunocompetentes y sin enfermedades hematológicas de base, el descenso de hemoglobina es mínimo o inapreciable: la anemia en estos casos es rara debido a la prolongada vida media de los glóbulos rojos (Pattison *et al*, 1981). Entre 2 y 3 semanas después de la inoculación, en una segunda fase de la enfermedad, se presentó exantema y artralgia (Anderson *et al*, 1985). Durante el período de máxima viremia, en el examen de médula ósea se pueden ver los proeritroblastos característicos, que están aumentados de tamaño y con vacuolizaciones del citoplasma (Potter *et al*, 1987).

Los individuos que cursan la infección pueden transmitir el virus entre los 5 y los 10 - 12 días posteriores al contagio (antes que se manifieste el exantema), en coincidencia con el pico de viremia. A partir de entonces comienzan a detectarse los anticuerpos específicos, primero la IgM y poco después la IgG (Figura 3). Tanto en los reportes de infecciones agudas, como en aquellas de curso persistente, todos los pacientes desarrollan IgG contra ambas proteínas de la cápside, VP1 y VP2. La mayoría de los anticuerpos neutralizantes que ofrecen protección a lo largo de la vida están dirigidos contra la región VP1u. En cambio, las inmunoglobulinas M están dirigidas principalmente contra VP2, y son de corta duración, con un rango promedio de 2 a 10 semanas (Modrow y Dorsch, 2002).

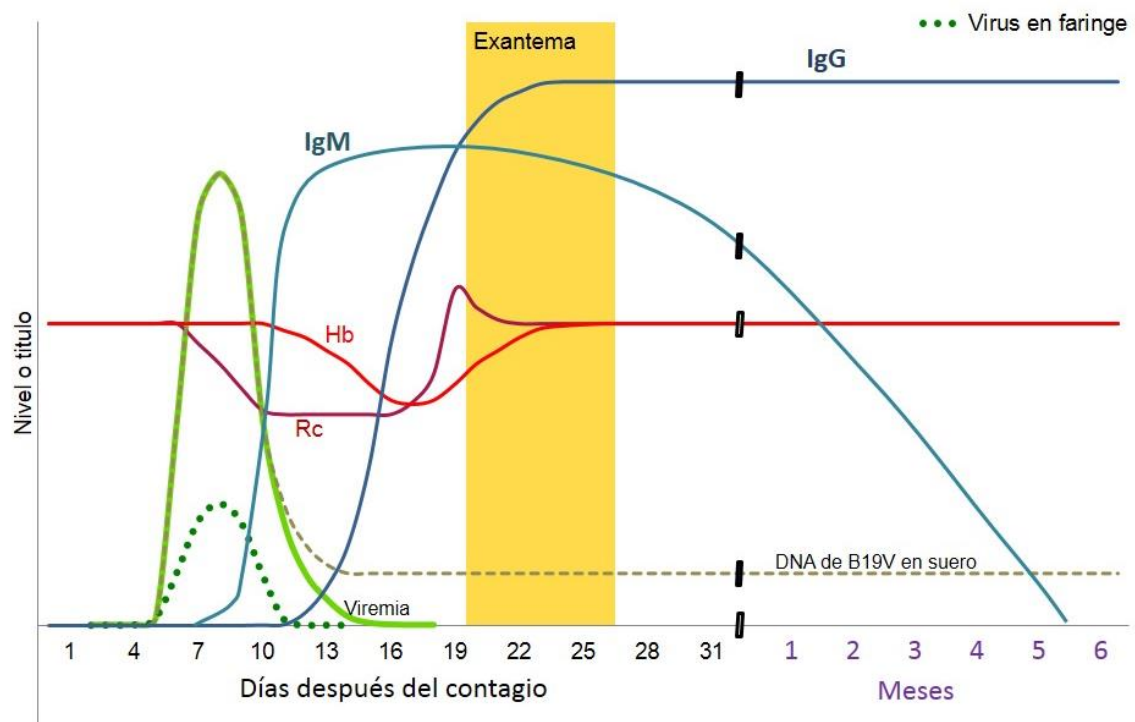


Figura 3. Cinética de marcadores y clínica de B19V post infección (Adamo *et al*, 2013)

Epidemiología

La distribución del B19V es global. Las tasas de infectividad inferidas a través de la prevalencia de anticuerpos IgG específicos son similares en todo el mundo. La incidencia es mayor en la infancia, de tal forma que a los 15 años la prevalencia de IgG es de alrededor del 50%. En climas templados la infección ocurre con mayor frecuencia en primavera, y presenta picos epidémicos cada pocos años (Young y Brown, 2004).

Patologías asociadas a B19V

Como se mencionó antes, el primer vínculo entre el B19V y una patología fue en 1981, cuando Serjeant y colaboradores lo establecen como uno de los agentes etiológicos en la crisis aplásica. A partir de allí se ha identificado como el agente etiológico en numerosas patologías, como en eritema infeccioso (Young y Brown, 2004), síndrome pápulo-purpúrico en guante y calcetín (Cherry y Schulte, 2009), artritis y artralgia (Servey *et al*, 2009), complicaciones en el embarazo, especialmente si la infección se da en las primeras 20 semanas de gestación (Crane *et al*, 2014), púrpura petequeal (Hashimoto y Yuno, 2011), miocarditis (Eid *et al*, 2006), disfunción endotelial

en pacientes con disfunción diastólica (Tschope *et al*, 2005), manifestaciones neurológicas muy variadas, desde neuropatías del sistema nervioso periférico, más común en adultos mayores, hasta patologías del sistema nervioso central, incluyendo convulsiones, meningitis y encefalitis, han sido demostradas en niños inmunocomprometidos (Cherry *et al*, 2009). También se ha identificado recientemente B19V en carcinoma papilar de tiroides, aunque aún resta confirmar su participación en el mismo (Wang *et al*, 2008). Completando un amplio espectro de patologías, en algunos casos de más frecuente asociación al B19V que en otros, también se lo ha relacionado a hepatitis (Bihari *et al*, 2013), nefritis (Ramirez *et al*, 2005) y se sabe que así como en anémicos crónicos causa una crisis aplásica que puede requerir transfusión sanguínea, la primoinfección en pacientes inmunocomprometidos puede causar anemia crónica (Eid *et al*, 2006).

A partir de lo mencionado, se puede reconocer un conjunto principal de patologías relacionadas al B19V:

Exantema febril. B19V infecta solamente a humanos, y tanto en niños como en adultos puede causar el eritema infeccioso, también conocido como “quinta enfermedad”, una enfermedad exantemática y febril de pronóstico benigno (Heegard y Brown, 2002; Broliden *et al*, 2006). Luego de la infección, en una primera fase se produce replicación del virus en médula ósea, viremia y presencia del virus en garganta. La segunda fase, asociada a signos y síntomas marcadores como exantema y artralgia, coincide con la aparición de los anticuerpos específicos y la presencia de complejos antígeno-anticuerpo circulantes los cuales estarían relacionados con ambas manifestaciones (Arulkumaran *et al*, 2009; Mussiani *et al*, 2005).

Previo al presente estudio, en Argentina sólo se tienen registros de B19V en relación a un brote escolar en Buenos Aires (Alonso *et al*, 2003) y la prevalencia de IgG específica en mujeres embarazadas (Pedranti *et al*, 2007) y en comunidades originarias de la provincia de Formosa (Alonso *et al*, 2004). Teniendo en cuenta el nuevo escenario de las enfermedades febriles exantemáticas, debido a los programas de eliminación de rubéola y sarampión en nuestra región, se plantea un importante interrogante acerca de la participación que se puede atribuir actualmente a B19V en los casos de exantema febril.

Como antecedentes, un trabajo de Inglaterra que tuvo como objetivo determinar agentes causantes del exantema en pacientes menores de 16 años de edad vacunados contra sarampión y rubéola encontró que el B19V era la principal causa, responsable del 17% de los casos, seguido de *streptococcus* grupo A (15%), virus herpes 6 (6%), enterovirus (5%), adenovirus (4%), y *streptococcus* grupo C (3%), no pudiendo asignar la etiología en los casos restantes (Ramsay *et al*, 2002). En un trabajo realizado en Japón en mayores de 18 años (Waza *et al*, 2007), donde el criterio de inclusión abarcaba a aquellos que tuvieran dos de los siguientes síntomas y/o signos: exantema, dolor articular o edema, se encontró una participación del B19V del 70%. Por lo tanto, B19V puede considerarse una causa frecuente en la etiología del exantema en situación de la marcada disminución de los casos de rubéola y sarampión por la inmunoprevención. Una diferencia entre estos países y el nuestro reside en el tiempo transcurrido desde el comienzo de la aplicación de la vacuna. En Inglaterra la triple viral se empezó a aplicar en 1988 (Public Health England, 2015) y Japón lo hizo en 1989, aunque ya se vacunaba contra rubéola desde 1976 (Kuno-Sakai *et al*, 1989) y contra sarampión desde 1971 (Isomura, 1993). En Argentina la vacuna antisarampionosa se aplica desde 1972, primero en forma de campañas y luego de manera regular, existiendo sin embargo importantes brotes epidémicos en 1984 y 1991 (Gentile A, 1996). En 1998 se incorpora al calendario nacional la triple viral, con dosis a los 12 meses y 6 años de edad, y en 2006, 2008 y 2014 se realizaron campañas de vacunación masivas para acelerar el alcance de la cobertura (MSAL, 2014)

Hasta la incorporación de la vacuna triple viral en calendario nacional, los casos de rubéola y sarampión en nuestro medio se contaban en decenas de miles, siendo ambos virus las principales causas de exantema. A partir de esa fecha, y también como consecuencia de las campañas complementarias mencionadas, se produjo un descenso drástico en el número de infectados (Figura 4; MSAL, 2014), habiéndose dado los últimos casos autóctonos de sarampión y rubéola en los años 2001 y 2009 respectivamente (PAHO-WHO 2010).

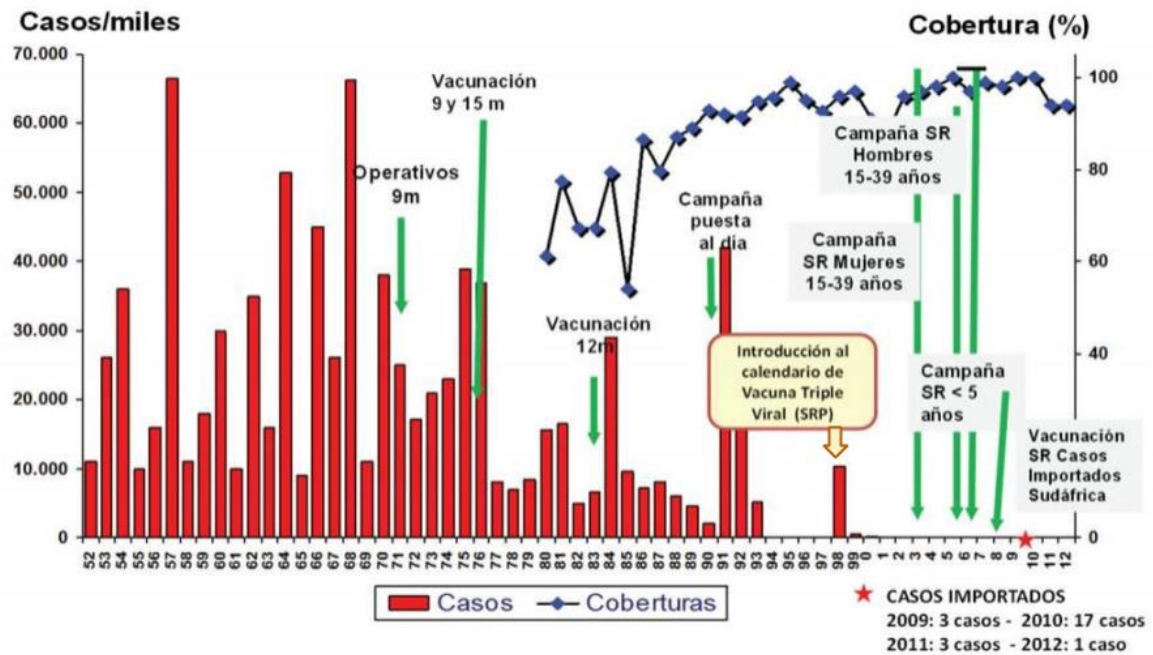


Figura 4. Casos notificados de sarampión y cobertura vacunal, Argentina, 1952 - 2012 (fuente: Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud, ProNaCEI, Ministerio de Salud de la Nación).

Por lo tanto, habiendo desaparecido de nuestro medio dos de las principales causas de exantema (Vega Alonso *et al*, 2003; de Moraes *et al*, 2011), los nuevos agentes principales productores de exantema febril sólo pueden conocerse mediante análisis específicos de los casos captados por la Red de Vigilancia Enfermedad Febril Exantemática (Red EFE), perteneciente al Programa Nacional de Control de Infecciones Inmunoprevenibles (ProNaCEI, Ministerio de Salud de la Nación), en los que se descartan ambos (sarampión y rubéola).

Manifestaciones articulares: artritis y artralgia. Las artritis agudas son de etiología viral en aproximadamente un 1% de los casos, pudiendo ser las mismas causadas por parvovirus B19, Hepatitis B o C, rubéola (en menor proporción debido a la vacunación), alfavirus y flavivirus entre otros (Marks y Marks, 2016). Si bien es conocida la relación entre afecciones articulares y diversos microorganismos los cuales incluyen algunas bacterias, virus, hongos y parásitos (Espinoza y García Valladares, 2011; Leonard y Calabrese, 2008), el B19V ha sido descrito como una causa relativamente frecuente en las mismas, aunque su grado de asociación ha sido muy variable en las diferentes

publicaciones (Colmegna y Alberts, 2009). En los niños la manifestación más común debida al B19V es el eritema infeccioso acompañado en el 10% de los casos de alguna patología articular (Nocton *et al*, 1993). En adultos, en cambio, la manifestación más frecuentemente encontrada es justamente la articular: se estima que aproximadamente 60% de las mujeres infectadas desarrollarán algún tipo de patología articular en tanto entre los hombres la proporción es menor, llegando a 30% (Woolf *et al*, 1989). Generalmente los síntomas se resuelven en el plazo de 1 a 3 semanas, aunque en algunos casos pueden persistir durante meses. La artritis relacionada a B19V no causa destrucción de la articulación (Speyer *et al*, 1998). En 1995 Cassinotti y colaboradores encontraron ADN de B19V en el 47% de los sueros provenientes de pacientes con sospecha de artritis viral, IgM específica en el 53% mientras que la IgG-B19V no se muestra en mayor proporción que en el grupo control en dicho estudio. En oposición a estos resultados, en un estudio similar en la misma época, en jóvenes con artritis crónica, Soderlund *et al* (1997) encontraron ADN viral en proporción similar a la del grupo control, por lo que sugirieron reconsiderar el rol del B19V en esta patología proponiendo que el sólo hallazgo de ADN de B19V en una persona sintomática no confirma la etiología del cuadro. Luego Lundqvist *et al* (2005) encontraron en pacientes reumáticos IgG-B19V en proporción similar a los controles asintomáticos, ninguno con IgM, pero si detectaron ADN de B19V en médula ósea en el 26% de dichos pacientes. Existen numerosos ejemplos además de los citados en los cuales cada estudio agrega discrepancia acerca de la participación del B19V en la etiología de artritis y artritis reumatoidea (AR). Kerr (2000) sugiere que esto se podría deber a la convergencia de más de un factor: la heterogeneidad en la definición de AR, diferencias en los tiempos de toma de las muestras respecto a la aparición de los síntomas en los diferentes estudios, posibles diferencias en las respuestas de los hospedadores de acuerdo a su origen étnico y el desconocimiento sobre los mecanismos que podrían activarse en las coinfecciones con el B19V. Respecto al origen étnico, Kerr (2000) propone que de acuerdo a las pruebas históricas como pinturas, escritos y análisis de esqueletos, el B19V habría sido propio del nuevo mundo ya que la primera descripción de eritema infeccioso en Europa ocurre recién en el año 1797 (Chorba y Anderson, 1989; Willan, 1801), lo que marcaría una diferencia en la respuesta inmune acorde al origen de cada raza y esto

también debería ser tenido en cuenta a la hora de seleccionar la población representativa.

Muy recientemente, un estudio mostró la presencia de IgM anti-B19V en 8,5% de los pacientes con artritis temprana, concluyendo que la serología es útil cuando este diagnóstico se aplica a sintomatología temprana (Mauermann *et al*, 2016).

Hace tiempo se conoce que la infección por B19V, al igual que la de otros virus, puede liderar la aparición transitoria de auto-anticuerpos y citoquinas independientemente a veces de otra manifestación clínica o funcionando como disparador de desórdenes inflamatorios siendo este uno de los mecanismos propuestos para explicar su participación en la etiología de AA (Tsay y Zouali, 2006). Así Sasaki *et al* (1989) demostraron la presencia de factor reumatoideo (FR) y anticuerpos anti-nucleares (ANA) luego de la infección por B19V, Soloninka *et al* (1989) demostraron la presencia de un perfil similar al Lupus con presencia de anticuerpos anti-ADN en el 68% de las muestras de infectados por B19V, mientras que Kerr (1996, 2015) demostró primero la presencia de anticuerpos ANA, anti-músculo liso, anti-células parietales gástricas, anti-reticulina y anti-antígenos mitocondriales, y también de IL1- β , IL6, IFN- γ , TNF- α y el incremento de FR correlacionado con el de IL6.

Si bien la asociación de B19V con artritis es frecuente, la asociación del B19V con AR es más difícil de fundamentar, ya que a partir de la revisión de la definición de AR hecha en el año 2010 (Aletaha *et al*, 2010) el criterio para AR incluye al menos una articulación con sinovitis clínica y lograr 6 puntos en un score en el cual la novedad fue la inclusión de anticuerpos anti-péptido cíclico citrulinado, además de la presencia de FR y la duración del cuadro, lo que le da un perfil autoinmune más notorio que la clasificación anterior. De esta manera, el hallazgo de AR provocada por el B19V es un evento raro o excepcional (Page *et al*, 2015).

Patologías en el embarazo y la infección congénita. El parvovirus se ha relacionado con complicaciones en el embarazo en numerosos estudios, siendo muy variable su grado de participación. Staroselsky *et al* (2009) mencionaron una tasa de transmisión vertical del 33% y que un 3% de las mujeres infectadas tendrían complicaciones fetales. Beigi *et al* (2008) detectaron el desarrollo de hidrops fetal en 12% de las embarazadas infectadas por B19V y 16% de muerte fetal. En contraste,

Enders *et al* (2004) hallaron un 6,3% de muerte fetal, la cual sólo ocurría cuando le infección se daba dentro de las primeras 20 semanas de gestación, y un riesgo de desarrollar hidrops fetal de 3,9%. Miller *et al* (1998) coincidieron en que si la infección se da en los dos primeros trimestres del embarazo sus consecuencias son más graves que si se da en el último. Bonvicini *et al* (2011) encontraron en 72 embarazadas diagnosticadas con B19V una tasa de transmisión vertical del 39%, 10,2% de muerte fetal y que la mayor tasa de muerte fetal se daba cuando la infección se producía en torno a las 20 semanas de gestación. En un extremo, sobre una investigación de 2714 embarazos en Japón, Yamada *et al* (2015) encontraron infección por B19V en 69 (2,5%) de ellos: 52/69 (71,0%) de esos embarazos terminaron en abortos o nacimientos de niños muertos; 17/69 (24,6%) nacieron vivos y 3 de ellos (17,6%) presentaron hidrops, anemia o cardiomegalia mientras que el resto fueron asintomáticos.

Se han postulado tres causas hipotéticas que ocasionan la muerte fetal cuando la infección se da en el primer trimestre: a) infección primaria en miocardio que causa miocarditis, la que a su vez genera hidrops a través de la falla cardíaca, b) crisis aplásica en médula ósea que genera anemia y esta ocasiona falla cardíaca congestiva, hidrops y muerte y c) placentitis sin infección fetal que causa una disfunción de la placenta, desencadenando la muerte fetal. Estas tres posibilidades se pueden dar solas o combinadas (Chalouhi *et al*, 2014).

El B19V puede aprovechar aquellas células susceptibles y detener el ciclo de las mismas al final de la fase S favoreciendo la replicación de su ADN (Luo *et al*, 2013). Los fetos tienen un gran número de células en mitosis, como por ejemplo las ya mencionadas CFU-E y BFU-E, que son destruidas por diferentes mecanismos durante la replicación del virus dentro de las mismas, lo cual termina ocasionando anemia (Chisaka *et al*, 2003). Los fetos son especialmente vulnerables durante la fase hepática de la hematopoyesis, la cual comienza en la sexta semana del embarazo aproximadamente (Jordan y DeLoia, 1999). Cuando esta anemia fetal es lo suficientemente grave, puede ocasionar insuficiencia cardíaca congestiva y desembocar en hidrops fetal (Shabani *et al*, 2015). La reducción severa de la hemoglobina (4-5 g/dL) está asociada con la retención de sodio y agua, la reducción del flujo sanguíneo renal y la activación del sistema neurohumoral, contribuyendo a la progresión de la insuficiencia cardíaca congestiva (Weiss, 2002). La expansión del volumen extracelular causa hemodilución y

menor concentración de hemoglobina. El incremento del volumen plasmático causa dilatación ventricular, con lo cual aumenta el estrés parietal y puede generar taquicardia. Hay hipertrofia ventricular izquierda que lleva a la muerte de las células de este tejido (Silverberg *et al*, 2000).

Se denomina hidrops fetal a la acumulación de líquido en dos o más compartimentos del feto o el recién nacido (derrame pericárdico, derrame pleural, ascitis, edema subcutáneo), y se clasifica de acuerdo a su origen en:

Inmune: se da en el 10% - 15% de los casos; es el caso de la incompatibilidad RH en donde los anticuerpos de una madre RH (+) provocarían una anemia en el feto RH (-) por la destrucción de sus glóbulos rojos.

No inmune: es la causa más frecuente de hidrops y tiene más de una etiología, como por ejemplo: infecciones, problemas cardíacos o pulmonares del feto, anemia fetal grave (por talasemia o infecciones), problemas genéticos o del desarrollo (Dahlke y Magann, 2015).

Existe la posibilidad de mitigar el cuadro mediante una transfusión intrauterina, la cual se ha ido extendiendo con el pasar de los años pero no deja de ser una intervención sumamente delicada (Garabedian *et al*, 2015). Originalmente se depositaban los glóbulos rojos en forma intraperitoneal (Liley, 1963), pero esta absorción podría estar inhibida en el caso de un hidrops severo (Nicolini *et al*, 1989). La transfusión intraperitoneal actualmente es una opción cuando falla la intravascular. En los embarazos muy comprometidos se puede combinar la transfusión intrauterina con la administración de inmunoglobulina intravenosa a la madre (Lindenburg *et al*, 2014). Por otra parte, la anemia es la complicación hematológica más frecuente durante el embarazo pudiendo abarcar hasta un 60% de los mismos (Olubukola *et al*, 2011). La causa más común de anemia en el embarazo es la falta de una buena cobertura nutricional, de hierro y de ácido fólico: se ha reportado que hasta un 95% de las anemias durante el embarazo responden a una deficiencia de hierro (Montoya *et al*, 2012; Vera *et al*, 2009). Por lo tanto, la definición de anemia para el caso de una mujer embarazada adopta un parámetro especial: se determina a partir de una concentración de hemoglobina menor de 11g/dL al nivel del mar, conforme a los criterios de la OMS (WHO, 2014).

Hidrops fetal no es la única patología del embarazo asociada al B19V: también se ha asociado a polihidramnios aunque con una participación menor al 1% (Pasquini *et al*, 2016). Existen casos puntuales donde se asocia el B19V a oligohidramnios y placentomegalia (Dickinson *et al*, 2006). Aún se necesitan más estudios para establecer si el B19V está implicado en la aparición de secuelas post nacimiento a largo plazo (Giorgio *et al*, 2010).

Pacientes con VIH/SIDA. Dado el tropismo del B19V por las células precursoras del linaje eritroide, el mismo puede causar anemia bajo determinadas condiciones hematológicas e inmunológicas del huésped. El B19V dispara la muerte de los precursores hematopoyéticos, pero normalmente esto no tiene un impacto clínico en un hospedador saludable e inmunocompetente. Sin embargo, cuando la respuesta inmune es deficiente o está ausente, el B19V puede causar anemia (Heegard y Brown, 2002). Así, a falta de una adecuada respuesta que controle la infección en individuos inmunocomprometidos, ellos pueden desarrollar una infección persistente asociada a una anemia crónica (Rivera Rodriguez y Cabanillas, 2008; Kelleher *et al*, 2015; Chernak *et al*, 1995). La aplasia pura de células rojas se presenta en el contexto de una deficiencia primaria o secundaria del sistema inmune, el cual no es capaz de producir anticuerpos neutralizantes contra el B19V (Florea *et al*, 2007; Tavit *et al*, 2009). Además de las inmunosupresiones primarias y las secundarias como el VIH, el sistema inmune puede verse afectado durante el curso de una leucemia, ya sea por la enfermedad en sí misma como por las drogas usadas en el tratamiento. Así se han observado casos de aplasias por B19V en niños que, cursando esta enfermedad, debieron interrumpir de manera prolongada la quimioterapia para restablecer la competencia del sistema inmune y superar la aplasia (Lindblom *et al*, 2008). En todos ellos las viremias son crónicas o intermitentes y producen episodios de anemia crónica. En concordancia con lo expuesto, desde que se comenzó a estudiar la presencia del B19V en el contexto de los pacientes VIH+ se han reportado casos de anemia crónica con replicación persistente del B19V en pacientes con SIDA (Fuller *et al*, 1996) y un estudio de pacientes con SIDA encontró mayor prevalencia de ADN de B19V en ellos que en pacientes no infectados saludables (Kerr *et al*, 1997). Otros autores, sin embargo, no pudieron replicar ese hallazgo (He *et al*, 2012). De todas maneras, la tasa esperada de casos en los cuales una

primoinfección por B19V causa anemia en pacientes adultos con SIDA es relativamente baja (Van Elsacker-Neyle *et al*, 1996), considerando que la máxima incidencia del B19V se da en niños y la prevalencia de anticuerpos específicos va aumentando con la edad, mientras que la mayor tasa de nuevos casos de VIH se suele dar a mayor edad. En Estados Unidos, por ejemplo, el monitoreo del año 2014 reveló la mayor incidencia de VIH en la franja de 40 a 49 años (CDC, 2015). En Argentina la edad en la que ocurre la mayor tasa de nuevos casos de infección por VIH es menor pero aún se trata de adultos; se da puntualmente entre los 30 y los 34 años (MSAL, 2014). A este hecho, se suma la ausencia de reinfecciones que pudieran ocurrir más allá de la etapa de la niñez, ya que existe un solo serotipo de B19V y la inmunidad generada confiere protección de larga duración, con lo cual en general la infección se produce una sola vez en la vida (Ekman *et al*, 2007).

La anemia inducida por el B19V en individuos VIH+ normalmente se resuelve satisfactoriamente luego del inicio de la terapia antirretroviral altamente activa (HAART), la cual al restablecer el sistema inmune permite limitar la replicación del B19V y lograr su control (Pereira *et al*, 2014). Por otra parte, han habido casos que se complicaron y requirieron transfusiones sanguíneas, aun habiendo recibido la terapia HAART adecuadamente (Gadwalkar *et al*, 2013; Morelli *et al*, 2007), lo cual podría sugerir un mecanismo que facilite la persistencia del B19V independientemente de la falla del sistema inmune. En concordancia con esto, el ADN del B19V ha sido observado durante períodos de tiempo prolongados luego de la infección aguda en individuos sanos. El mecanismo por el cual en estos casos la eliminación o *clearance* del virus se hace lento y se permite su persistencia no se conoce (Lindblom *et al*, 2005; Lefrere *et al*, 2005; Servant-Delmas *et al*, 2010).

Otras consecuencias de la disminución de los CD4+: existen una serie de enfermedades relacionadas a los diferentes grados de inmunodeficiencia del paciente VIH+ que pueden ser estratificadas de acuerdo al recuento de CD4+: entre 499 y 200 CD4+/mm³ estos pacientes presentan una susceptibilidad aumentada a los gérmenes comunes, en tanto que en aquellos con un recuento de CD4+ <200/mm³ el deterioro del sistema inmune posibilita el avance de numerosas patologías que normalmente tienen baja incidencia, por ejemplo las provocadas por microorganismos oportunistas como el *Herpesvirus humano 8* (causante del sarcoma de Kaposi, el cáncer más común

entre personas con VIH sin tratamiento), *Pneumocystis jirovecii* (antes llamado *Pneumocystis carinii*, agente de neumonía usual en pacientes con recuento de CD4+ <200/mm³), *Toxoplasma gondii* y *Cryptococcus neoformans* (oportunistas comunes en pacientes con recuentos de CD4+ <100/mm³) así como gérmenes del complejo *Mycobacterium avium complex* (MAC), frecuentes en pacientes con recuentos de CD4+ < 75-50/ mm³) (Crowe *et al*, 1991; Guiguet *et al*, 2009; Jung y Paauw 1998; Wang y Crothers 2009).

B19V y enfermedades hematológicas. Desde que se conoció que el B19V afectaba preferentemente a los precursores del linaje eritroide, ha habido una constante aparición de reportes donde se documentan una serie de enfermedades de la sangre y citopenias que afectan uno o varios linajes y que aparecen de manera infrecuente, ya sea durante la infección por B19V o posterior a la misma (Kerr, 2015). La asociación más obvia es la anemia, que sólo será importante en aquellas personas que tengan disminuida la vida media de sus eritrocitos por diferentes patologías como esferocitosis, talasemias, anemia autoinmune, etc. (Qari y Qadri, 1996). La trombocitopenia, también descrita desde los primeros estudios, puede ocurrir sola o coincidir con efectos en otros linajes celulares, ocurriendo preferentemente cuando la infección se hace persistente (Scheurlen *et al*, 2001). Debido a la toxicidad de la proteína NS1, durante la replicación del B19V en el linaje eritroide se pueden inhibir otro tipo de células mediante un efecto espectador. La infección de la médula ósea, normal por B19V, bloquea la formación de colonias de megacariocitos, un fenómeno asociado a un bajo nivel de expresión del B19V aún en células no permisivas (Gallinela *et al*, 2000). De esta manera, es posible enmarcar algunas de las manifestaciones hematológicas que se atribuyen al B19V de manera más o menos frecuente. En la crisis aplásica transitoria (CAT) el B19V tiene un efecto directo en la hematopoyesis y esta anemia es la manifestación hematológica más frecuente. La cesación de producción de glóbulos rojos con la consecuente caída de reticulocitos circulantes dura aproximadamente dos semanas. Mientras el linaje eritroide es el mayormente afectado, el linaje mieloide, que incluye a las células megacariocíticas, también puede verse suprimido (Kondo *et al*, 2002). En pacientes con anemia falciforme, eritrocitos con defectos de membrana o con trastornos enzimáticos, talasemias y en anemias hemolíticas adquiridas, anemias

ferropénicas y trasplantes de médula ósea, la infección por B19V se presenta con CAT (Brown, 2000) que es una anemia severa que puede requerir tratamiento con inmunoglobulina endovenosa y transfusión sanguínea (Alavi *et al*, 2015). El episodio de CAT termina con la desaparición de la viremia, la cual coincide con la recuperación del recuento normal de reticulocitos. La infección por B19V deberá ser considerada en todos los casos de anemia y reticulocitopenia de etiología desconocida y solicitar pruebas diagnósticas al laboratorio (Rodas Aguilar y Guevara Duncan, 2005). Más aún Yeltgin *et al* (2004) recomiendan no demorar la investigación de B19V y que la misma se debería hacer al momento de realizar el diagnóstico de la enfermedad maligna. El B19V es una importante causa de anemia y citopenia en niños con enfermedades hematológicas y/u oncológicas. En pacientes con citopenias sin explicación, el B19V debe ser considerado (Jitschin *et al*, 2011).

Por otra parte, se reporta que en aquellas personas con enfermedades hematológicas que están bajo tratamiento, el B19V puede aumentar los requerimientos de transfusiones, prolongar los períodos de interrupción de la quimioterapia y provocar que se requieran más exámenes de médula ósea (Jain *et al*, 2015). La prevalencia de ADN del B19V en pacientes con enfermedades hematológicas en la bibliografía abarca desde un 7% en niños con enfermedades hematológicas en general (Gustafsson *et al*, 2010) hasta un 17,3% en pacientes con síntomas hematológicos asociables a B19V (Sanabani *et al*, 2006).

Hipótesis

En función de lo descrito, planteamos como hipótesis que el B19V es un importante patógeno humano de amplia circulación en nuestro medio, existiendo la posibilidad de que su participación en patologías en las que está involucrado esté siendo subestimada.

Localmente no se conoce la epidemiología de este virus ni hay datos de casuística registrados que nos permitan apreciar el impacto de este agente en nuestro medio. Además, las reiteradas discrepancias que reporta la bibliografía mundial sobre la

participación del B19V en las distintas patologías con las que se asocia, indican no sólo que los datos locales son necesarios sino también que se requiere continuar profundizando los estudios al respecto, a fin aportar más datos que permitan dilucidar su espectro de patogenicidad. Por ello, hemos planteado los siguientes objetivos para este trabajo:

Objetivo general

Conocer la circulación del B19V en la ciudad de Córdoba y describir las características de la infección viral mediante la aplicación de metodologías serológicas y moleculares, analizando los resultados de los marcadores de infección e inmunidad.

Objetivos específicos

1. Determinar las infecciones recientes y el estado inmune frente a B19V a través de la detección de IgM e IgG específicas y la detección y cuantificación del genoma viral, en situaciones clínicas diferentes y en individuos asintomáticos.
2. Abordar el estudio de los marcadores de infección e inmunidad frente a B19V en individuos con las siguientes características y/o patologías:
 - a. Individuos que presentan manifestaciones muy comunes de la primoinfección, incluyendo pacientes con exantema febril y pacientes con artritis y/o artralgia.
 - b. Mujeres embarazadas y neonatos con posibles infecciones congénitas: embarazadas con signos/síntomas asociables a la infección por B19V y recién nacidos sintomáticos.
 - c. Individuos inmunocomprometidos: por una parte, pacientes con VIH y con diferentes recuentos de CD4+ y, por otra, pacientes con enfermedades hematológicas de base, cuyos tratamientos habitualmente pueden implicar una disminución de la competencia del sistema inmune.

3. Contextualizar con los datos obtenidos la presencia del B19V en las diferentes situaciones clínicas y analizar su importancia médica, así como comparar los datos locales con los de otras regiones del mundo.

MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio observacional, descriptivo, de corte transversal. Se determinó la presencia de infección por B19V y estado inmunitario mediante la detección de ADN viral e inmunoglobulinas específicas tipo M y G en una muestra de suero por individuo. Se estudiaron pacientes con manifestaciones clínicas asociadas a infección por B19V y participantes sanos.

El estudio fue aprobado por un Comité de Ética independiente (UNC-06200846379) y los Comités de Capacitación, Docencia e Investigación de los centros médicos colaboradores. Las muestras fueron obtenidas con consentimiento informado del participante (Anexo 1), con excepción de las del grupo de pacientes con exantema febril. Dichas muestras, provenientes del Programa de Vigilancia de enfermedades febriles exantemáticas (EFE) del Ministerio de Salud de la Nación, se encontraban almacenadas en el laboratorio de Rubéola del Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”, integrante de la Red para la vigilancia laboratorial de EFE en la Provincia de Córdoba.

Ensayos serológicos

Se realizó la detección de IgM e IgG anti-B19V con los equipos comerciales ELISA RIDASCREEN de la firma R-biopharm y BIOTRIN (DiaSorin desde 2012) siguiendo exactamente los protocolos de los fabricantes.

Detección de ADN de B19V

Los ácidos nucleicos se extrajeron a partir de alícuotas de 200 µl de suero, utilizando una técnica basada en el método de Boom (Boom *et al*, 1990). Brevemente, según este procedimiento la muestra de suero se somete a la acción lítica de la guanidina, lo cual, en un medio ácido (pH=2), permite la unión de los ácidos nucleicos a las partículas de sílice y su precipitación a 10.000xg. Las partículas se lavan dos veces con etanol 70% y luego una vez con acetona. Por último, los ácidos nucleicos se separan de la sílica, solubilizándolos en buffer TE (10mM Tris, 1mM EDTA; pH=8) y se almacenan a -20°C hasta la realización de los ensayos de PCR (Pedranti *et al*, 2012). La PCR cualitativa se realizó con primers diseñados para una región de NS1 comprendida entre los nucleótidos 2035 y 2276 del genoma con número de acceso en GenBank

NC_000883.2: primer forward 5' CACTATGAAAAGTGGGCAATAAAC (nt 2035 a 2058) y primer reverse 5' AATGATTCTCCTGAACTGGTCC (nt 2276 a 2255). Se utilizaron los siguientes reactivos y concentraciones finales: DMSO 5%, MgCl₂ 2,5 mM, mezcla de nucleótidos 0,8 mM, primers (Invitrogen) 0,4 μM y polimerasa de ADN Taq y su buffer de reacción 1x (Invitrogen) 0,02 U/μL. El programa de amplificación incluyó 35 ciclos de desnaturalización a 94°C, hibridación a 55°C y extensión a 72°C, más una extensión final de 4 minutos. Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 10%, teñidos con nitrato de plata 0,011 M, donde se identificó el fragmento amplificado de 242 pb utilizando como control positivo un estándar internacional [WHO/NIBSC UK EN63QG 1st International Standard 2000 Parvovirus B19 DNA 500.000 UI/Vial (código 99/800)], gentilmente cedido por el Bioq. Mgstr. Gonzalo Rodríguez (Laboratorio de Hemoderivados, Universidad Nacional de Córdoba).

Cuantificación de ADN de B19V

A fin de cuantificar el ADN de B19V en las muestras que previamente resultaron positivas por PCR cualitativa, se realizaron dos procedimientos. Primero, mediante una técnica de PCR semicuantitativa de punto final, efectuando diluciones seriadas de una muestra estándar internacional y de las muestras si fuera necesario. El límite de detección de la misma fue de 375 UI/mL (IC 95%: 202-1030 UI/mL), obtenido mediante validación realizada de acuerdo a la 7ma edición de la Farmacopea Europea (Ph.Eur. 7.0), con el material de referencia, el estándar internacional (SI) WHO/ NIBSC UK EN63QG 1st International Standard 2000 Parvovirus B19 DNA 500.000 UI/mL (código 99/800). Análisis estadístico aplicado para obtener el cut-off: método Probit. Para estos ensayos de PCR semicuantitativa se emplearon los reactivos del equipo GoTaq PCR Master Mix (Promega), con un volumen fina de muestra de extracto de 5 μl y un volumen total de reacción de 30 μL. Se usaron los primers forward y reverse complementarios a los nucleótidos 2082 a 2099 y 2254 a 2274, respectivamente, ubicados en la región NS1 del genoma de B19V (número de acceso en GenBank AF162273). Control interno endógeno: β-Actina proveniente de DNA humano presente en el plasma. El programa de ciclado fue el siguiente: activación inicial a 94°C por 2 minutos, seguida de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 15 segundos, hibridación a 50°C por 22 segundos y extensión a 72°C durante 30 segundos, para terminar con una extensión final a 72°C

durante 3,5 minutos. Los productos de PCR fueron visualizados en gel de agarosa teñido con nitrato de plata. El otro procedimiento de cuantificación fue un ensayo de PCR en tiempo real con sondas TaqMan, con un rango lineal de cuantificación entre 5×10^2 y 2×10^6 UI/mL de ADN de B19V. Estos ensayos fueron realizados en el equipo ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems), siguiendo el protocolo detallado por Koppelman *et al* (2007) con los mismos primers para la región de NS1 que se mencionan para el método de PCR semicuantitativa.

Interpretación de parámetros virológicos / inmunológicos

En función de la cinética de virus y anticuerpos específicos en la infección por B19V (Fig. 3), las diferentes combinaciones de resultados de determinación de ADN, IgM e IgG y el contexto clínico-epidemiológico del individuo se interpretaron de la siguiente manera:

- **IgG-/IgM-/ ADN-:** susceptible de contraer la infección.
- **IgG+/IgM-/ ADN-:** inmune (infección pasada).
- **IgG-/IgM-/ ADN+, IgG-/IgM+/ ADN+, IgG+/IgM+/ ADN+ e IgG-/IgM+/ ADN-:** infección aguda en curso o reciente.
- **IgG+/IgM-/ ADN+:** infección persistente.

Grupos de estudio

Pacientes con exantema febril

Las muestras de suero fueron recolectadas en el contexto del Programa Nacional de Vigilancia de enfermedad febril exantemática y síndrome de rubéola congénita (Red EFE). De acuerdo a dicho programa, todo caso sospechoso de sarampión o rubéola debe ser testeado para ambos virus. Se clasifica como caso sospechoso de sarampión a toda persona que tuviera fiebre ≥ 38 grados y exantema acompañado o no por uno o más de los siguientes síntomas: tos, rinorrea y conjuntivitis, mientras que caso sospechoso rubéola se denominó a todo aquel que tuviera fiebre y exantema, acompañado de uno o más de los siguientes síntomas: adenopatía cervical, sub-occipital o retroocular, artritis-artralgia. Es importante destacar que cada muestra es recolectada junto a un

formulario correspondiente en donde el profesional médico a cargo dispone de una sección para indicar las manifestaciones clínicas más probables que pudieran acompañar cada caso, así como datos de vacunación, viajes, residencia y si fuera mujer se debe dejar constancia de si está embarazada, todo ello a los fines de facilitar las posibles acciones de bloqueo y/o el eventual seguimiento del caso si fuera necesario (ANEXO 2).

Se estudiaron pacientes de un período de 5 años consecutivos, abarcando desde el 1 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2009, en la ciudad de Córdoba, donde el promedio de casos sospechosos derivados al laboratorio fue de 50 por año. Se incluyeron todas las muestras disponibles que fueron IgM negativas para rubéola y sarampión.

Pacientes con artritis y/o artralgia

Se extrajeron muestras de suero de pacientes que concurrían a la Fundación para el Progreso de la Medicina de la ciudad de Córdoba, así como al Hospital Infantil Municipal con artralgia y/o artritis sin diagnóstico etiológico conocido previamente. No se incluyeron pacientes con artropatías de origen mecánico o traumático. Además a estos pacientes se les realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: recuento de glóbulos blancos (GB), hemoglobina (HB), eritrosedimentación (VSG), factor reumatoideo (FR) y proteína C reactiva, todos ellos marcadores que suelen estar relacionados con artropatías en general o en el caso de la hemoglobina, con la infección por B19V, con el objetivo de evaluar los valores obtenidos en un contexto bioquímico más amplio además de la presencia o no de los marcadores de B19V.

Embarazadas sintomáticas

Pacientes embarazadas que tuvieran signos y/o síntomas que pudieran ser indicio de infección por B19V. Entre ellos se incluyeron: exantema, artritis, artralgia, anemia que exceda la descrita por la OMS como normal para la condición, y además las siguientes anomalías en el producto de concepción: hidrops, anemia fetal, aborto

espontáneo de etiología desconocida, aborto recurrente¹, polihidramnios, oligohidramnios y algunos diagnósticos por pedido expreso de médicos que habían descartado todas las patologías más comúnmente testeadas y aún tenían sospecha de que el B19V pudiera ser el agente etiológico. Este grupo de estudio estuvo constituido por pacientes del Hospital Materno Neonatal de la Provincia de Córdoba, el Hospital Materno Provincial Dr. Felipe Lucini y Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología.

Pacientes neonatales

Se estudiaron recién nacidos (RN) con signos / síntomas asociados a infección congénita por B19V, todos ellos dentro del período neonatal, es decir, dentro de los 28 días de edad (Gibson *et al*, 2016), atendidos en el Hospital Materno Neonatal de la Provincia de Córdoba y en el Hospital Materno Provincial Dr. Felipe Lucini. Entre las manifestaciones clínicas relacionadas se incluyeron: hidrops, hepatitis, miocarditis, insuficiencia renal sin etiología previamente conocida. También se estudiaron RN cuyas madres hubieran tenido infección por B19V sospechada o confirmada, según lo mencionado en el grupo de anterior. Las patologías en estudio incluyeron polihidramnios, anemia y sepsis, hepatitis, miocarditis no congénita, trastornos de coagulación asociada a disfunción hepática, hidropesía, hepatoesplenomegalia.

Pacientes con VIH-SIDA

Se estudió un grupo de pacientes VIH positivos que fueron atendidos en controles de rutina y seguimiento de tratamiento en la Fundación para el Progreso de la Medicina de Córdoba.

Junto con las muestras de suero se recabaron datos de otras valoraciones bioquímicas de cada paciente, incluyendo concentración de hemoglobina, carga viral, recuento de linfocitos CD4+. En los últimos 15 años, el recuento de linfocitos CD4+ que se considera necesario para comenzar el tratamiento antiretroviral en aquellos

¹Se denomina aborto recurrente a la condición de cualquier pareja que ha experimentado 3 o más abortos espontáneos consecutivos antes de las 20 semanas de gestación (Manzury, 2010).

individuos HIV+ asintomáticos ha ido creciendo, pasando de 350/mm³ en el período 2006 – 2009, a 500 en el período 2009 – 2013. Entre los años 2012 – 2015, las directrices internacionales fueron un paso más allá y se recomienda tratar a todos los individuos asintomáticos independientemente de su recuento de CD4+ (Eholié *et al*, 2016). Todos estos datos se emplean tanto para decidir el inicio de la HAART como para evaluar la respuesta al tratamiento, el pronóstico, la progresión clínica y los regímenes de tratamiento (Crowe *et al*, 1991; Kitchen *et al*, 2001; Guiguet *et al*, 2009).

A fin de evaluar la posible asociación entre B19V e inmunosupresión, los pacientes VIH+ fueron divididos en subgrupos según su recuento de linfocitos CD4+/mm³ (<200, 200 - 500, y >500), de acuerdo a la clasificación del CDC revisada en 1993 (MMWR-CDC 1993), según la cual un individuo con serología positiva para VIH y menos de 200 linfocitos CD4+/mm³ de sangre tiene diagnóstico de SIDA independientemente de otros parámetros, por lo que se presume inmunodeficiente. La anemia fue definida de acuerdo a los estándares de la OMS mencionados en la introducción, que identifica la presencia de anemia cuando el nivel de hemoglobina es inferior a 13 g/dL en adultos varones y 12 g/dL en mujeres adultas no embarazadas a nivel del mar. A fin de poder incluir en los test estadísticos aquellos pacientes con cargas virales indetectables se les asignó a los mismos un valor definido como la mitad del límite de detección del método. Ejemplo: cuando el límite de detección fue 50 copias/mL usamos el valor 25 copias/mL, que de todas maneras continúa siendo una carga viral sumamente baja.

Pacientes con enfermedades hematológicas

Las enfermedades hematológicas comprenden un amplio número de patologías contenidas en el capítulo III de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas relacionados con la Salud de la OMS (2016). Basados en la misma, en este grupo de estudio se incluyeron pacientes con diferentes diagnósticos (Tabla 17) que concurrían al Laboratorio Especializado del Servicio de Oncología y Hematología del Hospital Privado de la ciudad de Córdoba.

Individuos asintomáticos

Los participantes de este grupo se reclutaron en situaciones de control de rutina, admitiendo a quienes no presentaran signos/síntomas asociados a la infección por B19V al momento de la toma de la muestra ni en las dos semanas previas. Se incluyeron individuos sanos y algunos casos de consultas por patologías no relacionadas a infección por B19V, como sospecha de enfermedad celíaca o valoraciones pre-quirúrgicas para condiciones clínicas no relacionadas a B19V. Las muestras se recolectaron durante el mismo período de tiempo que las muestras de los pacientes a estudiar, constituyendo así grupos de referencia de asintomáticos.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron utilizando medidas de tendencia central y dispersión, frecuencias e intervalos de confianza del 95% (IC95%). La significancia de las diferencias observadas en las comparaciones realizadas fue evaluada mediante ANOVA, Test Chi² (χ^2), Test Exacto de Fisher y ODDS ratio según correspondiera en cada caso ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

Pacientes con exantema febril

Se analizaron 141 muestras de pacientes. El rango etario abarcó desde 2 meses hasta 44 años con una media de $8,99 \pm 9,56$ años y 91/141 (64,5%) de los pacientes fueron mujeres. En 118/141 de ellos las muestras se recolectaron entre el 2^{do} y el 7^{mo} día luego de la aparición del exantema. El número de pacientes analizado por cada año fue equitativo dentro del período estudiado, pero la mayoría de las muestras provenían de pacientes pediátricos y de las estaciones de invierno y primavera. Este sesgo podría obedecer a más de una causa: por un lado la vigencia de la noción sobre la estacionalidad del sarampión y la rubéola que hacía estar más alerta a los sistemas de vigilancia en dichos períodos junto al hecho que Argentina por esos años aún registraba algunos casos autóctonos de rubéola.

Marcadores de infección e inmunidad: las prevalencias de ADN, IgM e IgG específicas se muestran en la tabla 2. Los parámetros de la infección por B19 en pacientes con EF se compararon con los de un grupo de 31 individuos asintomáticos entre los que 19/31 fueron mujeres (62,1%) y con rango de edades de 8 meses hasta 57 años (promedio $12,83 \pm 12,66$ años). En el grupo de individuos asintomáticos, 13/31 (41,9%) tuvieron IgG, ninguno tuvo IgM y 3/31 (9,7%) tuvieron ADN de B19V+. La diferencia entre las prevalencias de ADN del grupo de individuos asintomáticos y del grupo de pacientes con EF fueron estadísticamente significativas ($P = 0,003$), no así las prevalencias de IgG ($p = 0,064$). El rango de edades de los pacientes IgM+ fue de 2 a 37 años. Sólo 10/21 de los sueros IgM+ fueron a su vez ADN+, mientras 19/21 (90,5%) de las muestras IgM+ fueron a su vez IgG+. Por otra parte, fue encontrado ADN de B19V en 16/53 (30,2%) pacientes IgM-/IgG+ (pacientes inmunes). En dichos pacientes inmunes, el ADN de B19V fue encontrado más frecuentemente en < 15 años, que en > 15 años ($p < 0,001$) y en pacientes masculinos más que en femeninos ($p < 0,001$).

Tabla 2. Prevalencia de marcadores de infección e inmunidad (ADN, IgM e IgG) en pacientes con exantema febril, 2005 a 2009, e individuos sanos como grupo de referencia.

	Pacientes con exantema febril						Individuos sanos
	2005	2006	2007	2008	2009	Total	
n/N	37/141 (26,2%)	20/141 (14,2%)	23/141 (16,3%)	30/141 (21,3%)	31/141 (22,0%)	141	31
ADN	3/37 (8,1%)	7/20 (35,0%)	9/23 (39,1%)	5/30 (16,7%)	2/31 (6,5%)	26/141 (18,4%)	3/31 (9,7%)*
IgM anti-B19V	0/37 (0%)	2/20 (10,0%)	9/23 (39,1%)**	7/30 (23,3%)	3/31 (9,7%)	21/141 (14,9%)	0/31 (0%)**
IgG anti-B19V	21/37 (56,8%)	10/20 (50,0%)	13/23 (56,5%)	17/30 (56,7%)	11/31 (35,5%)	72/141 (51,1%)	13/31 (41,9%)

P < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. *Significativamente diferente de la prevalencia global (p = 0,03). ** Significativamente diferente de la prevalencia global p = 0,016***Significativamente diferente de los otros años (p < 0,01)

Aspectos clínicos asociados: además de exantema y fiebre (manifestaciones clínicas requeridas para encuadrarse como casos sospechosos de sarampión y rubéola), la característica clínica más frecuente entre los pacientes IgM+ fue la adenopatía, observada en el 85,7% de los casos (Tabla 3). Ninguno de estos síntomas y signos estuvieron de manera estadísticamente significativa asociados a la presencia de IgM anti-B19V o de ADN del mismo. Sólo el 14,3% de los pacientes IgM+ tuvieron alguna manifestación articular como artritis-artralgia, siendo el 100% mujeres y el 67% adultos. Si tomamos sólo el año 2007, el porcentaje de pacientes IgM+ con artritis-artralgia se eleva al 22,2%. Por otra parte, de los 16 pacientes en los cuales se detectó ADN viral en ausencia de IgM específica, 9 (56,3%) mostraban adenopatía, mientras que sólo 1 (6,3%) presento artritis/artralgia.

Tabla 3. Manifestaciones clínicas en pacientes con eritema infeccioso (IgM anti-B19V+) y en pacientes con exantema febril de etiología desconocida (IgM anti-B19V-).

Signos y síntomas	Pacientes con IgM anti-B19V (n=21)	Pacientes sin IgM anti-B19V (n=120)	Total (N=141)	P
Artritis / artralgia	3/21 (14,3%)	8/120 (6,7%)	11/141 (7,8%)	0,212
Adenopatías	18/21 (85,7%)	90/120 (75,0%)	108/141 (76,6%)	0,405
Conjuntivitis	4/21 (19,0%)	19/120 (15,8%)	21/141 (16,3%)	0,519
Congestión nasal	5/21 (23,8%)	26/120 (21,7%)	31/141 (22,0%)	0,781
Tos	5/21 (23,8%)	36/120 (30,0%)	41/141 (29,1%)	0,795

P < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo

Aspectos epidemiológicos: 13/21 (61,9%) de los pacientes con infección aguda (IgM+), fueron mujeres, paralelo al 62,4% del grupo estudiado. Considerando sólo los adultos del grupo, todos los pacientes en los que se detectó IgM fueron mujeres aunque en la diferenciación con los pacientes varones no fue significativa. La prevalencia de ADN y de anticuerpos específicos por grupo etario se muestra en la tabla 4.

A partir de que el ADN de B19V puede persistir más tiempo que la IgM específica en algunos individuos luego de una infección, la detección de IgM en los pacientes sintomáticos fue tomada como parámetro indicativo de infección aguda activa o reciente. Sobre esta base, los adolescentes de entre 10 y 19 años fueron el grupo etario en el cual la infección aguda fue más prevalente (Tabla 4), y la mayoría de los casos ocurrieron durante el invierno y la primavera (Figura 5). Existe evidencia como para considerar al año 2007 como epidémico. Durante este año 8/9 (88,9%) casos ocurrieron en niños menores de 5 años ($p < 0,001$), 7/9 (77,8%) se presentaron en primavera y los restantes en Invierno, mientras que el 77,8% de los pacientes fueron mujeres ($p < 0,001$). En el año post-epidémico la frecuencia de infecciones por B19V en adultos fue casi del doble, que en los años previos.

Tabla 4. Marcadores de infección e inmunidad de B19V por grupo etario en pacientes con EF

	0 – 4 años	5 – 9 años	10 -19 años	> 20 años	Total
B19V ADN	6/58 (10.3%)	9/41 (21.9%)	5/21 (23.8%)	6/21 (28.6%)	26/141 (18.4%)
IgM anti-B19V	7/58 (12.1%)	6/41 (14.6%)	5/21 (23.8%)	3/21 (14.3%)	21/141 (14.9%)
IgG anti-B19V	19/58 (32.8%)	20/41 (48.8%)	15/21 (71.4%)	18/21 (85.7%)	72/141 (51.1%)

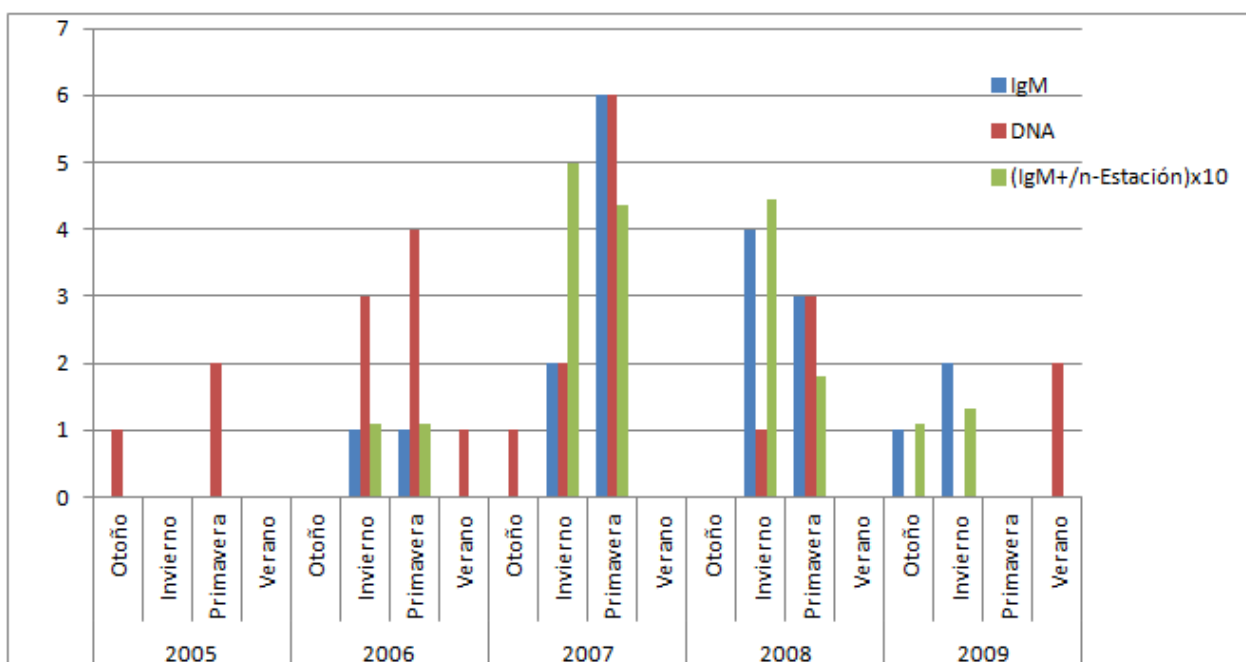


Figura 5. Marcadores de infección por B19V por año y estación en pacientes con exantema febril de Córdoba, 2005-2009. Se indican en azul el número de muestras que resultaron positivas en la determinación de IgM anti-B19V, en rojo la frecuencia de detección del ADN de B19V, y en verde el número de pacientes IgM anti-B19V+ dividido por el número de pacientes estudiados en cada estación.

Pacientes con artritis y/o artralgia

Se analizaron sueros de 36 pacientes correspondientes a individuos de 1 – 65 años de edad, promedio de $24,8 \pm 17,5$ años. En este grupo 6/36 (16,7%) fueron varones y 32/36 (83,3%) fueron mujeres. Este grupo incluyó individuos con los diagnósticos que se resumen en la tabla 5. A estos pacientes se los comparó con individuos asintomáticos

que conformaron un grupo con las siguientes características: N = 86, 50% de sexo femenino, rango etario de 8 meses a 57 años, promedio de $25,2 \pm 15,3$ años. En este grupo no se encontraron muestras positivas en los ensayos de detección de IgM, 10/86 (11,6%) fueron ADN+ y 54/86 (62,8%) fueron IgG+ para B19V.

Tabla 5. Diagnósticos incluidos en grupo de pacientes con artritis/artralgia.

Diagnóstico	N
Artritis	15
Artralgia	12
Poliartritis	5
Poliartralgia	3
Gonartritis Bilateral	1
Total	36

Las proporciones de pacientes varones y mujeres con ADN de B19V reflejó las de la población de estudio: 16,7% y 83,3%, respectivamente. En lo que respecta a la edad de estos pacientes, 3/9 (33%) fueron menores de 18 años y 6/9, mayores de 18 años. Todas las muestras positivas correspondientes a individuos mayores de 18 años fueron de mujeres.

En el grupo de asintomáticos también se identificaron algunos individuos con infección por B19V determinada por la presencia de ADN viral, ninguno con IgM detectable, y la prevalencia de IgG no fue significativamente diferente de la prevalencia en los pacientes (Tabla 6). La subclasificación de los individuos según la patología, artritis (n=21) o artralgia (n=15), tampoco arrojó una asociación significativa con la presencia de ADN viral ($p = 0,167$ y $0,216$, respectivamente). Por otra parte, la concentración de ADN de B19V encontrada fue, en todos los casos, inferior a 10^3 UI/mL.

En cuanto a las determinaciones bioquímicas analizadas, 5/28 pacientes (17,9%) a los cuales se les pudieron realizar las determinaciones bioquímicas tuvieron sus glóbulos blancos elevados (rango de referencia $4500 - 9500 /\text{mm}^3$) pero ninguno de ellos tenía ADN de B19V. En 5 pacientes la velocidad de sedimentación globular (VSG) estuvo

elevada (valor de referencia < 20mm/hora), uno fue FR positivo (valor de referencia < 15 UI/mL) y 2 mostraron elevada la proteína C reactiva (valor de referencia: < 0,5 mg/dL). En ninguna de estas determinaciones no se observó una asociación estadísticamente significativa con la presencia de ADN de B19V (Tabla 7). Sin embargo, en la comparación entre los pacientes ADN+ y ADN-, hubo 5 pacientes anémicos (Tabla 7), en los cuales la presencia de ADN viral fue significativa respecto al resto de los pacientes del grupo. Además el ODDS ratio en este caso fue elevado (OR = 8,70, IC 95% = 1,15 – 65,94).

Tabla 6. Comparación entre individuos asintomáticos y grupo de pacientes con artritis-artralgia.

Marcador	Asintomáticos	Pacientes con artritis/artralgia	P
IgM anti-B19V	0/86 (0%)	0/36 (0%)	-
ADN B19V	10/86 (11,7%)	9/36 (25%)	0,063
IgG anti-B19V	54/86 (62,8%)	18/36 (50%)	0,228

P < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

Tabla 7. Comparación entre determinaciones bioquímicas de pacientes ADN+ vs ADN-.

Determinación	n/N	ADN+	ADN-	P
GB elevados	6/36	0/6	6/19	0,303
GB disminuidos	1/36	1/9 ¹	0/24	-
VSG elevada	5/36	1/5	4/20	0,567
Anemia	5/36	3/5	2/19	0,042*
Factor Reumatoideo +	1/36	0/1	2/28	-
Proteína C Reactiva	2/36	0/2	2/24	-

¹ El paciente además presentaba anemia. *p < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo. GB: glóbulos blancos. VSG: velocidad de sedimentación globular.

Embarazadas sintomáticas

Se procesaron muestras de suero de 38 mujeres gestantes con edades comprendidas entre los 16 y 40 años (media: $26,8 \pm 7,0$ años) en las que se determinaron los tres marcadores de B19V. Los resultados pueden verse en la Tabla 8.

Tabla 8. Marcadores de infección e inmunidad en embarazadas sintomáticas para B19V.

Marcador	Embarazadas sintomáticas
IgM anti-B19V	8/38 (21,1%)
ADN de B19V	12/38 (31,6%)
IgG anti-B19V	27/38 (71,1%)

En las tablas 9 y 10 pueden verse las comparaciones entre los diferentes diagnósticos y la determinación en dichos pacientes de IgM específica y ADN viral. La asociación entre polihidramnios y presencia de IgM anti-B19V fue significativa (0,023) mientras que no hubo asociación causal entre la misma patología y la presencia de ADN viral ($p = 0,084$) con un ODDS ratio = 8,33 (IC 95% 0,77 – 90,77).

Las muestras de este grupo se recolectaron a partir el año 2009, destacándose el año 2013 como el de mayor incidencia de infección por B19V, ya que 6 muestras fueron IgM+ de las 8 en total que resultaron positivas para este marcador en este grupo, mientras 6 fueron ADN+ sobre las 12 muestras ADN+ (tabla 9). La edad promedio de las pacientes IgM anti-B19V+ fue de $26,5 \pm 8,8$ años y la de las pacientes ADN+ fue $29,7 \pm 7,1$ años.

Tabla 9. Comparación de diagnósticos en pacientes embarazadas IgM+ vs IgM⁻¹.

Diagnósticos	Embarazadas sintomáticas	IgM anti-B19V	IgM anti-B19V	p
Hidrops fetal	15/38 (39,5%)	4/8 (50,0%)	11/30 (36,7%)	0,687
Aborto recurrente	12/38 (31,6%)	1/8 (12,5%)	11/30 (36,7%)	-
Polihidramnios	4/38 (10,5%)	3/8 (37,5%) ²	1/30 (3,3%)	0,024
Oligohidramnios	2/38 (5,3%)	0/8	2/30	-
Hidrocefalia	1/38 (2,6%)	0/8	1/30	-
Higroma quístico	1/38 (2,6%)	0/8	1/30	-
Ventrículos laterales dismórficos	1/38 (2,6%)	0/8	1/30	-
Malformación sin especificar	1/38 (2,6%)	0/8	1/30	-
Exantema recurrente	1/38 (2,6%)	0/8	1/30	-

¹Se evaluaron diferencias mediante test estadístico solo en subgrupos con mayor tamaño muestral. ²En estos tres pacientes IgM+ también se detectó ADN de B19V. p < 0,05 fue considerado estadísticamente significativo.

Tabla 10. Comparación de los diagnósticos en pacientes ADN-B19V+ vs ADN-B19V¹.

Diagnósticos	Embarazadas Sintomáticas	Pacientes ADN+	Pacientes ADN-	P
Hidrops fetal	15/38 (39,5%)	5/12 (41,7%)	10/26 (38,5%)	0,326
Aborto recurrente	12/38 (31,6%)	3/12 (25%)	9/26 (34,6%)	0,709
Polihidramnios	4/38 (10,5%)	3/12 (25%) ²	1/26 (3,8%)	0,084
Oligohidramnios	2/38 (5,3%)	0/12 (0%)	2/26 (7,6%)	-
Hidrocefalia	1/38 (2,6%)	1/12	0/26	-
Higroma quístico	1/38 (2,6%)	0/12	1/26	-
Ventrículos laterales dismórficos	1/38 (2,6%)	0/12	1/26	-
Malformaciones sin especificar	1/38 (2,6%)	0/12	1/26	-
Exantema recurrente	1/38 (2,6%)	0/1	1/1	-

¹Se evaluaron diferencias mediante test estadístico solo en subgrupos con mayor tamaño muestral. ²Los tres pacientes ADN+ fueron también IgM+. P < 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

Pacientes neonatales

Se estudiaron los marcadores de B19V en 19 RN según los criterios descriptos. Estos resultados se muestran de manera global en la Tabla 11. En uno de los RN con hidrops se detectó una concentración de ADN de B19V similar al límite de detección (375 UI/mL). Su madre, durante la gestación y ya con el cuadro de hidrops fetal instalado, tenía en su sangre una concentración de ADN de B19V similar. Los demás recién nacidos que se estudiaron fueron casos individuales en donde no había antecedentes diagnósticos maternos de infección, pero que presentaron ellos mismos alguna o varias de las manifestaciones que pueden asociarse a infección congénita por B19V, con excepción de uno en el cual su madre presentó una anemia marcada durante el embarazo. En la tabla 12 se pueden observar los diferentes diagnósticos y los resultados de los marcadores de B19V. No se identificó asociación significativa entre la presencia de ADN de B19V y el diagnóstico de hidrops fetal ($p = 0,255$).

Tabla 11. Marcadores de B19V en los pacientes neonatales.

Marcador	Pacientes neonatales
IgM anti-B19V	1/19 (5,3%)
ADN	4/19 (21,6%)
IgG anti-B19V	16/19 (84,2%)

Tabla 12. Marcadores de B19V según el diagnóstico en el estudio de los pacientes neonatales.

Diagnóstico	n/N	IgM	ADN	IgG
Hidrops fetal	13/19	1/1	4/4	11/15
Hapatoesplenomegalia	1/19	0/1	0/1	1/1
Polihidramnios	1/19	0/1	0/1	1/1
Hepatitis	1/19	0/1	0/1	1/1
Disfunción hepática	1/19	0/1	0/1	1/1
Miocarditis no congénita	1/19	0/1	0/1	1/1
Madre con anemia durante el embarazo	1/19	0/1	0/1	0/1

Pacientes con VIH-SIDA

La muestra estuvo constituida por 98 individuos con VIH subclasificados de acuerdo al recuento de linfocitos CD4+ (<200, 200-500 y >500). Las características de estos pacientes se indican en la tabla 13.

La carga viral promedio fue mayor entre los pacientes del subgrupo con menor recuento de CD4+ y, en general, la concentración de hemoglobina no mostró una tendencia marcada en función de la variación de la carga viral, pero si fue menor a medida que disminuyó el recuento de CD4+ (Figura 6). Once pacientes VIH+ tenían anemia, todos ellos con una recuento bajo de linfocitos CD4+, y los 98 pacientes del grupo estaban bajo tratamiento HAART al momento de la toma de la muestra.

Tabla 13. Características demográficas y clínicas de los pacientes del Grupo VIH-SIDA.

CD4+ cel/mm³	<200	200-500	>500	Total
N	37	31	30	98
Edad (años)				
Rango	26 – 80	25 – 81	25 – 65	25 – 81
Media ± SD	43.8 ± 14.5	50 ± 15.9	43.2 ± 10.9	46 ± 14.1
Sexo				
Mujeres	5/37 (13.5%)	14/31 (45.2%)	7/30 (23.3%)	26/98
Hombres	32/37 (86.5%)	17/31 (54.8%)	23/30 (76.7%)	72/98
<i>Parámetros Bioquímicos</i>				
CD4+/mm³				
Rango	5 – 198	204 – 472	505 – 1207	
Media ± SD	100 ± 60	345 ± 39	737 ± 175	
VIH-carga viral (copias de genoma/mL)				
Detectable	23/37 (62.2%)	10/31 (32.3%)	8/30 (26.6%)	42/98 (43%)
Indetectable	12/37 (32.4%)	19/31 (61.3%)	20/30 (66.7%)	50/98 (51%)
Sin datos	2/37 (5.4%)	2/31 (6.4%)	2/30 (6.7%)	6/98 (6%)
Rango	82 – 3.3x10 ⁶	349 – 2.42x10 ⁵	43 – 2.73x10 ⁵	
Media ± SD	1.9x10 ⁵ ± 5,8x10 ⁵	1.3x10 ⁴ ± 4,5x10 ⁴	1.3x10 ⁴ ± 5.2x10 ⁴	
Anemia	9/37 (24.3%)	2/31 (6.5%)	0/30 (0%)	11/98 (11.2%)

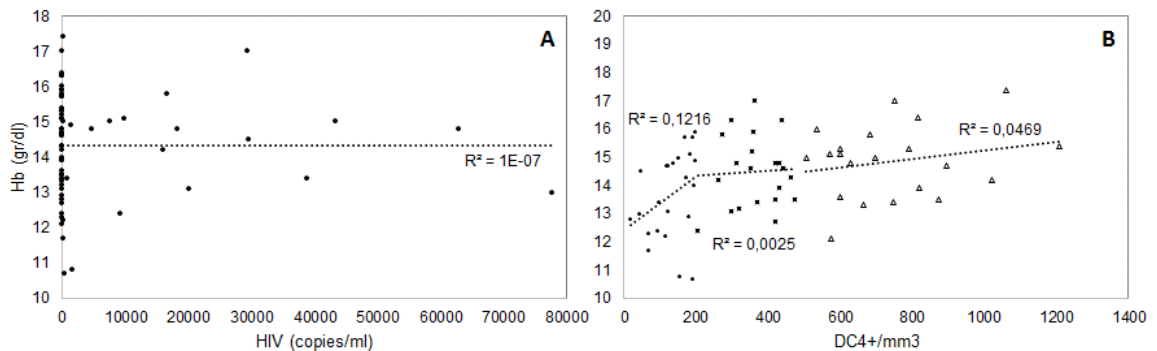


Figura 6. Correlación entre carga viral de VIH y concentración de HB (A) y entre recuento de linfocitos CD4+ y concentración de HB (B).

Los marcadores de infección por B19V en el grupo de pacientes con la infección retroviral se compararon con los de un grupo de individuos adultos asintomáticos con serología negativa para VIH. Las características del grupo de referencia fueron las siguientes: N = 52, 50,0% varones, rango etario de 18 a 57 años, promedio de edad de $35,7 \pm 10,1$ años. Los resultados se muestran en la tabla 14, donde se observa que no fueron significativamente diferentes.

Tabla 14. Marcadores de infección por B19V en individuos con y sin infección por VIH.

Marcador	Pacientes VIH+	Individuos VIH-	p
IgM anti-B19V	5/98 (5,1%)	0/52	0,164
ADN	15/98 (15,3%)	5/52 (9,6%)	0,451
IgG anti-B19V	67/98 (68,4%)	41/52 (78,8%)	0,186

p < 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

Las concentraciones de ADN-B19V encontradas en 15 de los pacientes VIH+ así como en 5 muestras del grupo de referencia, fueron en todos los casos inferiores a 10^3

UI/mL. Tres pacientes dentro de los ADN+ tenían anemia. Los 3 tenían recuentos de CD4+ inferiores a 200/mm³ y uno a su vez fue IgM anti-B19V+ (Tabla 15). Por otra parte, 8/75 (10,7%) pacientes ADN- fueron anémicos, resultando la presencia de anemia en los pacientes ADN-B19V+ vs ADN-B19V- no significativamente diferente (p = 0,366). Además 3/4 pacientes ADN+ pero IgM e IgG negativos, no fueron anémicos (1, 6, 9 y 11; tabla 15). Por último no hubo diferencia en cuanto a la presencia o no de ADN de B19V y la condición de carga viral detectable o indetectable del virus VIH en los pacientes del grupo VIH-SIDA.

Las frecuencias de IgM anti-B19V y ADN viral tampoco fueron significativamente diferentes entre los pacientes con distinto recuento de linfocitos CD4+ (Tabla 16), sin embargo los pacientes con un recuento de CD4+ > 500 tuvieron una prevalencia de IgG-B19V significativamente mayor que los otros dos grupos (Figura 7 y Tabla 16) y a su vez también mayor que el grupo de individuos asintomáticos VIH negativos (p = 0,046).

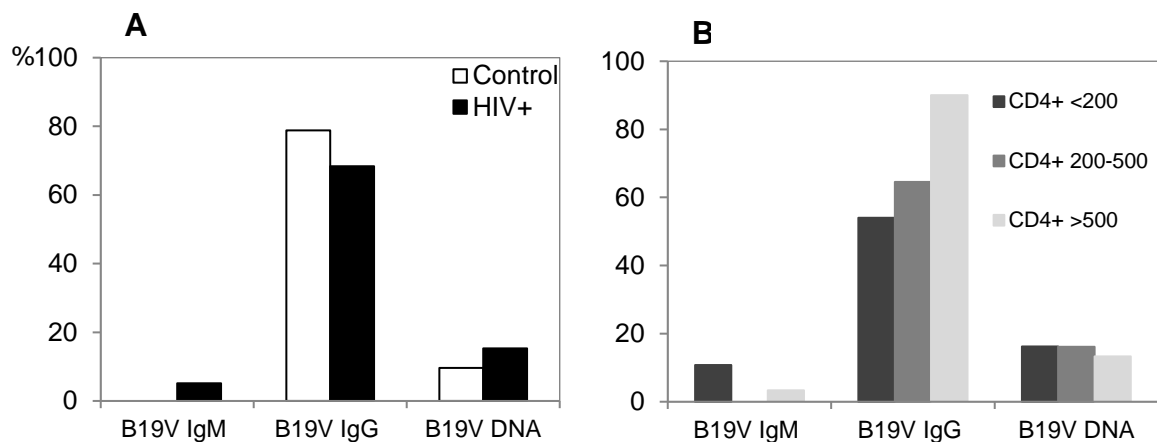


Figura 7. Frecuencia de detección (%) de marcadores de B19V en A) Individuos VIH-asintomáticos vs VIH+ B) Pacientes VIH+ divididos según recuento de linfocitos CD4+. CD4+: linfocitos que expresan el marcador CD4.

Tabla 15. Características de los pacientes VIH+ y ADN-B19V positivos.

Paciente	Edad	Sexo	B19V load	Carga VIH	CD4+ cell/mm3	IgM-B19V	IgG-B19V	Anemia
1	35	M	<10 ³ IU/mL	102800	<200	-	-	+
2	42	M	<10 ³ IU/mL	318500	<200	+	+	-
3	37	M	<10 ³ IU/mL	772800	<200	+	+	+
4	51	M	<10 ³ IU/mL	77800	<200	-	+	-
5	58	M	<10 ³ IU/mL	1580	<200	-	+	+
6	36	M	<10 ³ IU/mL	29600	<200	-	-	-
7	47	F	<10 ³ IU/mL	-	200-500	-	+	-
8	53	F	<10 ³ IU/mL	349	200-500	-	+	-
9	73	M	<10 ³ IU/mL	15989	200-500	-	-	-
10	45	F	<10 ³ IU/mL	20100	200-500	-	+	-
11	68	F	<10 ³ IU/mL	-	200-500	-	-	-
12	41	F	<10 ³ IU/mL	-	>500	-	+	-
13	46	M	<10 ³ IU/mL	-	>500	-	+	-
14	28	M	<10 ³ IU/mL	-	>500	-	+	-
15	25	M	<10 ³ IU/mL	272535	>500	-	+	-

M: masculino F: femenino

Tabla 16. Marcadores de infección por B19V en pacientes VIH+ según el recuento de CD4+.

Marcadores	Recuentos de CD4+ cell/mm3			p
	<200	200-499	>500	
IgM ant-B19V	4/37 (10.8%)	0/31 (0%)	1/30 (3.3%)	0.155
ADN de B19V	6/37 (16.2%)	5/31 (16.1%)	4/30 (13.3%)	0.937
IgG anti-B19V	20/37 (54.1%)	21/31(67.7%)	27/30 (90.0%)	0.004

p < 0,05 se consideró estadísticamente significativo

Pacientes con enfermedades hematológicas

Se estudiaron 70 pacientes con los diagnósticos que se indican en la tabla 17. Diecisiete de ellos (24,3%) estaban bajo tratamiento con las siguientes drogas, solas o combinadas (cuyo uso se asocia con una disminución de la eficiencia en la función del sistema inmune): metotrexato, ciclofosfamida, etopóxido más citarabina, mercaptopurina, esquema AVBD y cladribina. La edad promedio de los pacientes fue 28,1 años \pm 23,0, rango de edades de 0,8 a 77 años. Veinticuatro de los 70 pacientes (34,3%) eran varones.

Los resultados de la determinación de ADN viral, IgM e IgG específicas en este grupo de pacientes con enfermedades hematológicas previas se indican en la tabla 17. Los mismos se compararon con las determinaciones en un grupo de referencia constituido por individuos asintomáticos con las siguientes características: N = 86, la mitad mujeres, rango etario de 8 meses a 57 años, edad promedio de 25,2 \pm 15,3 años. No se observaron diferencias significativas entre ambas muestras (Tabla 18).

Tabla 17. Tipos de anemia en pacientes con enfermedades hematológicas.

Diagnóstico	N
Anemia	34
<i>Ferropénica</i>	13
<i>En estudio</i>	8
<i>Talasemia</i>	6
<i>De las enfermedades crónicas</i>	5
<i>Esferocitosis</i>	1
<i>Hemolítica refractaria a tratamiento</i>	1
Leucemia linfoblástica aguda	9
Púrpuras	8
Linfoma de Hodgkin	3
Leucemia Mieloide Aguda	2
Plaquetopenia	2
Linfocitosis	2
Linfoma no Hodgkin	2
Leucemia Mieloide Crónica	2
Neutropenia Autoinmune	1
Neutropenia	1
Tricoleucemia	1
Síndrome mielodisplásico	1
Leucopenia	1
Linfoma	1

Tabla 18. Comparación de marcadores de infección por B19V en pacientes con enfermedades hematológicas y en individuos asintomáticos.

Marcador	Pacientes	Individuos asintomáticos	P
IgM anti-B19V	0/69 ¹	0/86	-
ADN de B19V	9/70 (12,9%)	10/86 (11,6%)	0,812
IgG anti-B19V	50/70 (71,4%)	54/86 (62,8%)	0,307

¹Uno de los pacientes tuvo resultado de IgM anti-B19V indeterminado y ADN de B19V positivo. $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo

En una paciente de 8 años de edad con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda se detectó ADN de B19V, siendo indeterminado el resultado del ensayo de IgM específica. Su historia clínica registra un evento de anemia severa con requerimiento de transfusión sanguínea 5 meses antes, continuando anémica (Hemoglobina 10,1g/dL) al momento de la extracción de la muestra para este estudio, aunque ya sin necesidad de transfusión

La tabla 19 muestra la comparación de los diagnósticos más prevalentes en pacientes con o sin infección por B19V definida en función de la presencia de ADN viral: no se observó una asociación significativa entre la presencia del genoma viral y anemia ni leucemia linfoblástica aguda. Sin embargo, 4 de 6 pacientes con anemia y detección de ADN de B19V eran mujeres con una edad promedio de $42,3 \pm 14,3$ años (rango 15 a 61 años).

Tabla 19. Diagnósticos en pacientes con enfermedades hematológicas con o sin infección por B19V.

Diagnósticos	Total de pacientes	Pacientes ADN+	Pacientes ADN-	p
Anemia	34/70 (48,6%)	6/9 (66,7%)	28/61 (45,9%)	0,300
Leucemia linfoblástica aguda	9/70 (12,9%)	2/9 (22,2%)	7/61 (11,5%)	0,326
Púrpuras	8/70 (11,4%)	1/9 (11,1%)	7/61 (11,5%)	-

$p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

DISCUSIÓN

En este estudio describimos la presencia de B19V en Córdoba, Argentina, mediante el estudio de los marcadores inmunológicos de infección e inmunidad frente al virus en distintos grupos de pacientes con manifestaciones clínicas asociadas a la infección.

Dado que la patología más frecuente en la infección por B19V es el eritema infeccioso, en primer lugar comunicamos un seguimiento durante 5 años de B19V en Córdoba, Argentina, en individuos con EF. Este objetivo se abordó mediante la pesquisa del virus en casos notificados al sistema de vigilancia de salud, mediante el “Programa Nacional de Vigilancia para el Control y la Eliminación de Sarampión, Rubéola y Síndrome de la Rubéola Congénita”. El número de casos de sarampión y rubéola reportados por año a partir de 1998 siempre tuvo tendencia en baja por la inclusión ese año de la vacuna triple viral el Calendario Nacional de Vacunación y la ejecución de campañas masivas de inmunización como parte de las medidas para control acelerado de rubéola, aunque cabe destacar que en el año 2007 se produjo en Argentina el último brote de rubéola, con algo más de 2000 casos (Ministerio de Salud de la Nación, 2011). Las determinaciones serológicas confirman que el B19V es un agente etiológico significativo en pacientes con exantema febril, ya que representa aproximadamente un 15% del total de los casos estudiados y casi 40% en año epidémico (Tabla 2). Esta diferencia en la frecuencia de detección de IgM específica en años epidémicos y en las diferentes estaciones refleja los porcentajes variables reportados en la región, los cuales van de 3,3% a 31,8%, con valores frecuentes registrados entre 12% y 13% (Oliveira *et al*, 2002; de Oliveira *et al*, 2009; Wermelinger *et al*, 2002; Oliveira *et al*, 2008; Mendonca *et al*, 2005; Larrañaga *et al*, 2007). La mayoría de las infecciones agudas se observaron en adolescentes, pero el B19V contribuye como agente causal del exantema febril en todos los grupos etarios. Los porcentajes de participación del B19V en los casos de exantema febril muestran que la población se encuentra constantemente expuesta al mismo, especialmente en las estaciones de invierno y primavera, y más aún en años donde el virus aumenta su incidencia, como ocurrió durante el 2007 en Córdoba y en Europa

(Exindari *et al*, 2011). El aumento en la incidencia en años definidos debería ser tenido en cuenta por los profesionales médicos, particularmente los que atienden pacientes de grupos de riesgo en quienes B19V puede ocasionar complicaciones de gravedad, como por ejemplo mujeres embarazadas e inmunosuprimidos susceptibles. En estos individuos la infección no puede prevenirse, ya que no existe una vacuna contra el virus y, por otra parte, la etapa de transmisión antecede a las manifestaciones clínicas, con lo cual evitar el contacto con enfermos no impide el contagio. Teniendo en cuenta los datos de la bibliografía mundial, que indican una circulación de B19V con picos epidémicos cada 4 a 6 años (Oliveira *et al* 2002; Nicolai y Cotter, 2009; Mossong *et al*, 2008), y el brote epidémico en 2007 detectado en este trabajo, cabía esperar un próximo brote epidémico local entre 2012 y 2013. Aunque el muestreo para este grupo de estudio se terminó antes de estos años, cabe destacar que a partir de este estudio se optimizó e implementó en nuestro laboratorio el servicio de diagnóstico de B19V, y el registro del diagnóstico asistencial señala que 2013 fue el siguiente año de brote epidémico en Córdoba (datos no mostrados). Asimismo, en concordancia con nuestros datos, se han documentado brotes de mayor magnitud a los estacionales en 2012 – 2013 en Israel y Escocia (Mor *et al*, 2016; Al Shukri *et al*, 2015; HPS, 2013).

La prevalencia de IgG global en los pacientes con exantema fue comparable a la reportada previamente para población general, pero al desagregar la muestra por grupos etarios, se observa que la misma se va incrementando con la edad (Tabla 4). Estos hallazgos coinciden con observaciones realizadas en distintos países de Europa y en Latinoamérica (Mossong *et al*, 2008; Abarca *et al*, 2002; Vyse *et al*, 2007; Huatuco *et al*, 2008; Rohrer *et al*, 2008). Un estudio de pacientes con diagnóstico presuntivo de infección por B19V en Brasil reporta frecuencias similares a las presentadas aquí (Wermelinger *et al*, 2002). En ambos casos, sin embargo, se estudiaron pacientes con exantema febril; aquellos sin fiebre o erupción no fueron incluidos, de manera que, conociendo que cierta proporción de individuos cursa la infección de manera asintomática (Chisaka *et al*, 2006) los datos reflejan la circulación e incidencia de B19V en ese grupo sintomático definido. En adultos, se observó mayor proporción de IgM anti-B19V en mujeres y la diferencia no fue significativa. La detección de IgM específica fue acompañada por la detección de ADN viral en 48% de los casos, lo que implica que para el momento en que se han elevado los anticuerpos en sangre, el ADN de B19V aún

permanece detectable en casi la mitad de los infectados. Cuando los pacientes ADN+ son examinados de acuerdo al rango de edades, la proporción de individuos ADN+ parece incrementarse con la edad. Sin embargo, esta imagen puede verse influenciada por el número de individuos de los distintos grupos etarios analizados. Se ha reportado la persistencia de ADN de B19V durante meses e incluso años (Lindblom *et al*, 2005; Cassinotti y Siegl, 2000). En este trabajo encontramos ADN en 30% de los pacientes inmunes (IgG+ / IgM-). Sólo uno de estos pacientes tenía artropatía. También se detectó ADN viral en una proporción de individuos asintomáticos en este y en otros estudios (Larrañaga *et al*, 2007; Soderlund-Venermo *et al*, 2002; Corcioli *et al*, 2008). Por lo tanto, aunque la persistencia de ADN viral no necesariamente está relacionada con manifestaciones clínicas, es probable que exista una relación entre la persistencia, la replicación del virus y la generación de un proceso inflamatorio en una proporción de tales individuos infectados (Mitchel, 2002; Isa *et al*, 2007). La detección de ADN viral en pacientes con exantema febril (ADN+/IgM+: 48%; ADN+/IgM-/IgG+, 30%) y en individuos asintomáticos (ADN+/IgM-/IgG+: 10%), indica que el ADN de B19V puede persistir por un periodo relativamente prolongado, más allá de la etapa de aguda, en aproximadamente el 10% de las personas que contraen la infección. También encontramos una proporción significativamente mayor de pacientes ADN+ con infección pasada (IgM-/IgG+) varones frente a mujeres ($p=0,001$). El significado de esta asociación no está claro aún, pero podría estar relacionada al hecho de que las mujeres tienen una respuesta de IgG de mayor concentración contra la infección por B19V en comparación con los hombres (Vyse *et al*, 2007). Ello aumentaría la frecuencia de manifestaciones clínicas ligadas a la formación de complejos inmunes, como la artritis y la artralgia (Woolf *et al*, 1989; Oiwa *et al*, 2010).

El análisis de la presentación clínica en los pacientes con EF e infección aguda en curso o reciente por B19V confirmada (casos IgM+) no arrojó ninguna asociación particular entre el agente y los signos y síntomas evaluados (Tabla 3), en coincidencia con algunos reportes previos con series de casos parecidas (Oliveira *et al*, 2002; Wermelinger *et al*, 2002; Mendonca *et al*, 2005). Esto resalta el valor del ensayo de B19V en el diagnóstico diferencial de rubéola, sarampión y en las presentaciones con exantema febril en general.

Con respecto a rubéola y sarampión (dos patologías para las cuales muchos países cuentan con programas de control y vigilancia) la Organización Panamericana de la Salud otorgó a la Argentina y el resto de los países americanos la certificación de la eliminación de la circulación endémica de virus rubéola en abril de 2015, y de virus sarampión en septiembre de 2016 (PAHO WHO, 2016). Sin embargo estos virus no han sido erradicados y todavía circulan cepas salvajes en diversas regiones del mundo, no sólo aquellas que no cuentan con programas de control y eliminación (algunos países de África y Asia) sino también en países desarrollados con programas de control de larga data pero en donde han caído las coberturas de vacunación, como Inglaterra, España y Francia (Masa Calles *et al*, 2015). En este contexto, el mantenimiento de la cobertura de vacunación adecuada y la vigilancia virológica activa son dos pilares fundamentales para evitar la importación de estos virus y el resurgimiento de brotes ocasionales. Es en este escenario de baja incidencia de sarampión y rubéola, donde cobra relevancia el diagnóstico diferencial en los casos sospechosos.

Otras patologías frecuentes en la infección sintomática por B19V involucran a las articulaciones: artritis y artralgia. En el grupo de pacientes estudiados con estas manifestaciones no se identificó ningún caso de infección aguda en curso o reciente. En cambio, el hallazgo del ADN viral en 25% tiende a ser mayor que en el grupo de asintomáticos de referencia. Aunque no resultó significativa ($p=0,063$), esta tendencia justifica profundizar el estudio de este grupo con una muestra de mayor tamaño. La frecuencia de detección de ADN de B19V en suero de nuestros pacientes con artritis / artralgia es similar a lo hallado por Lundqvist *et al* (2005) en médula ósea de pacientes con AR, aunque en su trabajo no se detectó ADN viral en el suero de los pacientes. Por otra parte, ninguno de los pacientes con artropatías en quienes se detectó ADN de B19V de nuestro estudio fue positivo para FR, coincidiendo con lo hallado por Lundqvist *et al* (2005), lo que aporta evidencia para colocar al B19V fuera de la lista de agentes relacionados a AR. Si bien el FR no está presente en el 100% de las personas con AR, diferentes estudios lo detectan en un 70% - 85% de las mismas (Matuszewska *et al*, 2016; Hwang *et al*, 2016). En la AR, precisamente, el FR parece estar envuelto en la activación del complemento y la producción de factores quimiotácticos y mediadores inflamatorios, creando una condición que puede ser sostenida en el tiempo (Tan y

Smolen, 2016) En nuestro grupo de pacientes con artritis/artralgia sí se encontró una asociación significativa entre la presencia del ADN de B19V y anemia ($p = 0,042$) definida en función del valor de hemoglobina (Tabla 7). Este hallazgo aporta evidencia en favor de hipótesis que plantea que la persistencia de B19V, aún en baja concentración, puede ser causante de anemia en algunos individuos, quienes poseerían alguna característica desconocida hasta el momento que los hace más susceptibles. Otros parámetros determinados en los pacientes no mostraron asociación significativa con la presencia o ausencia del ADN de B19V.

La atribución de un caso o un desorden articular específico al B19V se dificulta cuando no se tiene la confirmación del comienzo de la infección. Esto se vuelve cada vez más evidente ante el descubrimiento de nuevos virus o el hallazgo de virus conocidos en nuevas situaciones en el organismo. Trabajos recientes siguen encontrando asociaciones entre B19V y artritis crónica (Kakurina *et al*, 2015). Mientras que en los últimos 20 años se ha sugerido el vínculo entre B19V y las manifestaciones articulares crónicas, la evidencia que apoya una asociación causal entre el virus y la artritis crónica todavía es circunstancial y no concluyente. El estudio de la interacción entre el B19V y el huésped se ha visto obstaculizado por la dificultad que existe para propagar al B19V *in vitro*, debido en parte a la citotoxicidad de la proteína NS1 (Corcoran y Doyle, 2004). Sin embargo, en 2008 se reportó la generación de células progenitoras de la línea eritroide CD36+ a partir de células CD34+, lo cual provee una línea permisiva para la investigación del B19V *in vitro* (Wong *et al*, 2008). Las primeras pruebas sobre la infección por B19 de cultivos de células de esta línea se reportaron recientemente (Bonvicini *et al*, 2013; Bonvicini *et al*, 2015; Bonvicini *et al*, 2016; Bua *et al*, 2016), a partir de lo cual es posible esperar un modelo *in vitro* que permita conocer datos precisos sobre los mecanismos moleculares durante la infección por B19V y la interacción entre el virus y componentes celulares. La persistencia del virus parece ser un factor determinante en su capacidad de provocar patologías articulares. Quedan por responder importantes interrogantes, como por ejemplo: ¿cómo el virus evade al sistema inmune? y también ¿por qué en algunos pacientes la persistencia funciona como un disparador hacia la autoinmunidad? (Colmegna y Alberts-Grill, 2008).

Con respecto al grupo de mujeres embarazadas sintomáticas, la presencia de IgM específica en 21,1% (Tabla 8) y del ADN viral en 31,6% de estas pacientes señala al virus B19 como un agente etiológico frecuente en las patologías estudiadas. Estos resultados concuerdan con otros reportes sobre la participación de B19V en la etiología de las complicaciones durante el embarazo (Voleva *et al*, 2016) y por otra parte representan una alternativa a los datos publicados por otros autores, quienes, por el contrario, evidencian escasa implicación del virus (Staroselsky *et al*, 2009).

Considerando los diagnósticos que presentaron las pacientes evaluadas en este grupo, cabe resaltar que en 3 de las 4 gestantes con polihidramnios, se detectó tanto IgM específica como ADN viral (Tablas 9 y 10). La presencia de IgM anti-B19V fue significativa, y merece ser tenida en cuenta no sólo en estudios futuros a mayor escala sino también en el diagnóstico diferencial en la práctica clínica. El B19V ha sido mencionado como posible agente etiológico de este cuadro clínico, aunque generalmente se le otorga una participación menor (Pasquini *et al*, 2016).

Como se expone más arriba, nuestros resultados en el grupo de pacientes con exantema febril demuestran que la circulación del B19V es sustancial. Además, con anterioridad reportamos que el número de mujeres en edad gestacional susceptibles a la infección puede alcanzar un porcentaje tan alto como 34% (Pedranti *et al*, 2007). Por lo tanto la frecuencia de B19V encontrada en este grupo de embarazadas sintomáticas concuerda con los datos acumulados. También se han descrito infecciones confirmadas por B19V en embarazadas en las cuales no fue posible detectar IgM anti-B19V (Nadimpalli *et al*, 2015). Uno de los motivos de esto sería el tiempo transcurrido entre la infección y la instalación de los síntomas, que se ha descrito superior a las 3 semanas (Enders *et al*, 2004), y la detección de los mismos por parte del personal de salud, período dentro del cual la IgM específica podría comenzar a descender en su concentración y tornarse indetectable (de Jong *et al*, 2005), aunque la frecuencia con la que se ha informado esta situación ha sido muy variable en los diferentes estudios: la seronegatividad de IgM anti-B19V en embarazadas con presencia de la infección que además son IgG anti-B19V positivas varía entre 14,9% y 62,5% (Enders *et al*, 2008).

En Europa se estimó el riesgo de infección por B19V durante el embarazo encontrando los siguientes valores: Bélgica (0,61%), Inglaterra/Gales (0,69%), Finlandia (1,24%), Italia (0,92%) y Polonia (1,58%), aún con porcentajes de mujeres en edad fértil

susceptibles a la infección uniformes y similares a los de nuestra región (Mossong *et al*, 2008). Esta variabilidad justifica estudios locales que contribuyan a caracterizar la presencia del agente en nuestro medio, la clínica asociada y su relación causal en las patologías de nuestros pacientes, a fin de avanzar en las mejoras del diagnóstico, tratamiento y prevención.

En el grupo de los recién nacidos sintomáticos, sólo los que tenían diagnóstico de hidrops fetal mostraron marcadores de infección activa (IgM anti-B19V y ADN viral), no así los otros RN con 8 diagnósticos diferentes (Tabla 12). Los datos no permitieron establecer asociaciones estadísticamente significativas entre la presencia de los marcadores de infección activa y el diagnóstico de hidrops fetal, aunque esto podría deberse al pequeño tamaño de la muestra. En tal sentido vale aclarar que se trata de una muestra poco accesible, no sólo por tratarse de población vulnerable sino también por las vías de las cuales se extrae la sangre (generalmente se efectúa la extracción del talón haciendo una incisión con una lanceta o bisturí) y los escasos volúmenes que se obtienen, lo cual afecta directamente la posibilidad de realizar todas las técnicas requeridas (extracción de ácidos nucleicos, y enzimoimmunoensayos para detección de IgM e IgG).

Considerando los casos de hidrops fetal, podemos resaltar algunas particularidades. Se ha reportado que las causas infecciosas originan el 5% de los casos de HNI y que dentro de las mismas el B19V es el agente con mayor participación (3,9%) (Enders *et al*, 2004). Fritsch y colaboradores (2012) atribuyen a las causas infecciosas un 12,1% del total de HNI, y al B19V en particular una participación del 5,1%. Nuestro trabajo encontró en embarazadas con diagnóstico de hidrops fetal una participación superior, ya que en 3 de 15 casos (20%) se confirmó la infección por B19V mediante IgM específica. Además, en 5 casos (33%) se detectó el genoma viral, 3 de ellos en concomitancia con la IgM específica (Tablas 10 y 11). Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Yaegashi *et al* (1999 b) y Voleva *et al* (2016) quienes encontraron que 8/48 (16,7%) y 2/14 (14,3%) de las embarazadas con diagnóstico de infección por B19V desarrollaron hidrops fetal respectivamente. Si bien las concentraciones de ADN de B19V halladas en todos los casos fueron inferiores a 10^3 UI/mL, nuestros resultados tienen relevancia clínica: en una paciente de este grupo se pudo seguir el caso desde el embarazo, cuando el feto evidenciaba el diagnóstico de hidrops. El RN de esta paciente

presentó hidropesía, y aunque tanto la muestra de la madre tomada cuando el cuadro clínico del feto era evidente, como la del RN fueron IgM anti-B19V negativas, en ambas se detectó la presencia de ADN de B19V. La concentración de ADN en ambas muestras fue inferior a $1 \cdot 10^3$ UI/mL, hecho que revela que el hallazgo de ADN de B19V en la madre embarazada, aún en baja concentración, podría evidenciar la etiología del hidrops. Conclusiones similares al respecto han podido elaborarse a partir de los resultados de De Haan *et al* (2007).

La presencia de ADN de B19V en un RN sólo tiene explicación si se produjo la transmisión vertical. Por ello es notable que 4/13 (30,8%) de los RN con hidrops de este grupo contengan el marcador. Estos resultados están en concordancia con los reportados por algunos autores que asignan al B19V una participación significativa en la etiología del hidrops fetal: Li *et al* (2015), describieron que B19V era el agente causante del 5% al 15% de los HNI, mientras que Puccetti *et al* (2008) hallaron que el 12,7% de los fetos infectados desarrollan hidrops, habiendo detectado un porcentaje de transmisión vertical de la infección del 31,7%. La detección de IgM anti-B19V en solo un paciente de los 4 que tenían ADN viral se puede explicar, al menos en parte, por la inmadurez del sistema inmune fetal, que puede ocasionar escasa producción de anticuerpos o incluso su ausencia (Dieck *et al*, 1999; de Haan *et al*, 2007), algo que se observa también para otros diagnósticos perinatales (Mahon *et al*, 2014). Un trabajo reciente posiciona al B19V como responsable del 4% de los hidrops en general en los recién nacidos (Hartge *et al*, 2015) y relaciona el mayor porcentaje a defectos genéticos y cromosómicos, aclarando que hasta 25% de los hidrops en recién nacidos tienen etiología desconocida. En dicho estudio el diagnóstico fue hecho a través de la detección de anticuerpos anti-B19V en las madres, por lo que, si se tuviera en cuenta la detección molecular del virus, sería factible esperar encontrar al B19V involucrado con mayor frecuencia en estos casos. Nuestros datos interpretados en este contexto justifican continuar profundizando la investigación sobre la participación del B19V en las patologías que se le asignan durante el embarazo y en los recién nacidos, sobre todo ampliando el tamaño muestral de este grupo de estudio y realizando una selección estricta y prospectiva de los casos.

Pacientes con VIH-SIDA. Los parámetros de infección por B19V en los pacientes con VIH no fueron diferentes a los del grupo de referencia, con excepción de la

prevalencia de IgG anti-B19V en el subgrupo de pacientes con recuentos de CD4+ > 500/mm³, la cual fue significativamente mayor que en el resto de los grupos ($p=0,004$) y en el grupo de referencia ($p=0,046$) (Tabla 16).

La disminución del nivel de HB cuando disminuye el recuento de CD4+ (Tabla 13 y Figura 6) puede atribuirse tanto al tratamiento como al deterioro de la condición inmunológica y hematológica de estos pacientes. La Zidovudina o AZT es la droga antirretroviral más comúnmente usada en nuestra población de estudio y es conocida por tener el potencial de causar anemia entre otros efectos secundarios (Sharma, 2010). También hay que señalar que una de las complicaciones características de las etapas avanzadas de la infección puede implicar la pérdida de hasta un 10% de la masa corporal; esto sumado a las infecciones oportunistas pueden contribuir a generar un estado anémico (Liu *et al*, 2011; Sudfeld *et al*, 2013). Por lo tanto, hemos tenido estos factores en cuenta a la hora de buscar casos de anemia en nuestro estudio. En el total del grupo VIH-SIDA, la presencia de B19V no tuvo una asociación significativa con anemia, independientemente de la etapa de la infección en la que se encontrara el paciente. Las concentraciones en las que se encontró el genoma del virus en las muestras positivas, nunca superaron las 10³ UI/mL, lo cual sugiere que el B19V no es capaz de replicarse a mayor escala a pesar de la condición inmunológica comprometida de estos pacientes (especialmente en los pacientes con <200 linfocitos CD4+ y alta carga viral de VIH). La frecuencia de IgM anti-B19V encontrada en el grupo con recuento de linfocitos CD4+ <200 fue 10,8% (Tabla 17). Esto coincide con lo reportado por Raguin *et al* (1997) pero es menor que el 50% mencionado por Calvet *et al* (1999), quien estudió pacientes inmunosuprimidos trasplantados de corazón o pulmón. En nuestra serie, es probable que estos pacientes no representen casos de infección primaria por B19V por diferentes razones: una de ellas es que la incidencia más elevada de la primoinfección por B19V se produce antes de los 15 años de edad, mientras que este grupo de estudio incluyó adultos exclusivamente, con una media de edad superior a 40 años (Tabla 13); otra es que sólo dos de los pacientes con IgM anti-B19V tenían además ADN de B19V, en ambos casos en baja concentración (Tabla 15). Además, se ha demostrado que la detección de ciertos marcadores inmunológicos puede estar ligada a la activación policlonal que acontece en la progresión de la infección por VIH (Mizuma *et al*, 1988; Lane *et al*, 1983). Una parte de las detecciones de IgM anti-B19V podría atribuirse también a la dificultad

que aún circunscribe la interpretación de los resultados de las pruebas de detección de este parámetro serológico. Se ha señalado antes que factores tales como la falta de estandarización de los procedimientos así como la alta concentración de complejos antígeno-anticuerpo circulantes cuando existe una alta carga viral pueden alterar el resultado del ensayo (Marano, 2015).

La presencia de ADN de B19V en los pacientes con VIH de nuestro trabajo no mostró una asociación frente a la mayor o menor carga viral del retrovirus y la tasa fue similar a la del grupo de referencia (Tabla 14), también compuesto íntegramente por adultos. La prevalencia de ADN de B19V en nuestro grupo de referencia fue mayor que la descrita para individuos asintomáticos de Chile, Bélgica, Francia y Estados Unidos (Levican *et al*, 2011), sin embargo estos reportes no son necesariamente comparables con nuestro grupo de referencia, pues en aquellos se testearon sueros provenientes de donantes de sangre. La baja prevalencia en donantes de sangre es al menos en parte esperable, ya que ellos concurren voluntariamente y entienden la esencia del acto de donación, observando un comportamiento acorde a la situación además de respetar las reglas exigidas en lo referente al cuidado de la salud. Además, como ya mencionamos, la prevalencia detectada puede verse influenciada por el período de muestreo. Gran parte del muestreo de nuestro grupo de referencia tuvo lugar durante los años 2012 y 2013, coincidiendo con un período epidémico predicho, como se describió anteriormente y fue convalidado por publicaciones de diferentes regiones del mundo (Mor *et al*, 2013; HPS, 2013). En cuanto a la prevalencia de IgG anti-B19V en los pacientes con VIH, esta fue mayor a medida que aumentaba el recuento de linfocitos CD4+ (Tabla 16). Esto está en concordancia con lo reportado por Azadmanesh *et al* (2015) y opuesto a lo encontrado por Abdolahi *et al* (2015). El primer estudio reportó una prevalencia de IgG anti-B19V de sólo el 11,1%, pero la misma iba en aumento a medida que aumenta el recuento de CD4+, mientras que el segundo reportó una prevalencia de IgG anti-B19V del 81,1% y esta fue más alta en pacientes con un recuento de CD4+ inferior a 200/mm³. Respecto a los dos estudios mencionados, es importante destacar que se realizaron en el mismo país, en la misma región, el mismo año, que las edades de sus respectivas poblaciones de estudio fueron similares y sus metodologías y reactivos fueron iguales. Ello pone en evidencia la complejidad relativa a la realización e interpretación de los resultados de las pruebas de serología de B19V a la cual nos hemos referido

anteriormente. La frecuencia significativamente menor de IgG en el grupo de menos de 200 células CD4+/mm³ en comparación con el grupo con el recuento de células CD4+ por encima de 500/mm³ observada en nuestro estudio podría tener una explicación en la disminución de la inmunidad humoral específica que se sabe que se produce en las etapas avanzadas de la infección por VIH. Este hecho no contradice los niveles más altos de inmunoglobulinas totales que se suelen hallar cuando la infección por VIH está avanzada, ya que esto último es consecuencia de la activación policlonal y nosotros nos estamos refiriendo a pérdida de inmunidad específica. Cuando el recuento de linfocitos T CD4+ disminuye, las células B de memoria también disminuyen; entonces, como la infección progresa y el recuento de CD4+ cae por debajo de 200, el individuo comienza a perder la respuesta inmune humoral específica (Pitcher *et al*, 1999; Nagase *et al*, 2001). El recuento promedio de linfocitos CD4+ en nuestro grupo más comprometido en términos inmunológicos fue de 100/mm³, por lo tanto se puede inferir que una porción de los pacientes se encontrarían en la situación antes mencionada. De acuerdo a esto, nuestros resultados son consistentes con los de Bucher Praz *et al* (2012), que de hecho informaron la presencia de ADN de B19V en ausencia de IgG específica en un paciente con VIH y 75 CD4+/mm³. Watanabe *et al* (2011) describieron resultados similares y más aún, que los anticuerpos IgG anti-B19V comienzan a ser detectables luego del inicio de la HAART. El grupo intermedio de pacientes, con un recuento de linfocitos CD4+ entre 200 y 500/mm³, presumiblemente esté representado por aquellos que comenzaron su tratamiento antes de llegar a la etapa de SIDA y no han tenido una disminución significativa de sus linfocitos B de memoria y también por aquellos que habiendo llegado a la etapa de SIDA, respondieron bien al tratamiento y estaban recuperando sus recuentos celulares. Finalmente, el grupo de pacientes con un recuento de linfocitos CD4+ > 500, con una mayor prevalencia de IgG anti-B19V que el grupo de referencia, tendría la prevalencia esperada en inmunocompetentes más el aporte de la estimulación policlonal ya descrita. Por lo tanto, de acuerdo a nuestros resultados, las prevalencias de B19V en pacientes con VIH no serían mayores a las de otros grupos de referencia, y el virus no constituye una causa importante de anemia en los pacientes que reciben HAART. De todas maneras, a fin de discernir el significado de la presencia de IgM específica y ADN de B19V en los pacientes con VIH (aún en baja concentración), será necesario reunir esfuerzos para estandarizar las pruebas de detección, ya que en la

actualidad los estudios con diseños similares continúan arrojando resultados ampliamente variables o en franca discrepancia.

En el grupo de pacientes con enfermedades hematológicas se encontraron frecuencias de ADN viral y de IgG anti-B19V similares a los del grupo de referencia (Tabla 18). Si bien a nivel de grupo no se observó asociación estadísticamente significativa entre la presencia de ADN de B19V y las patologías incluidas en la muestra, sólo se detectó ADN viral en pacientes con los siguientes diagnósticos: anemia, leucemia linfoblástica aguda y púrpura trombocitopénica idiopática. En estos diagnósticos la asociación con B19V no llegó a ser significativamente diferente de otros diagnósticos. Sin embargo, a nivel individual se puede destacar el caso de la paciente con leucemia linfoblástica aguda, a la cual se le detectó ADN viral acompañado por un resultado indeterminado de IgM específica. Esta paciente desarrolló anemia severa con requerimiento de transfusión sanguínea e interrupción en la aplicación normal de la terapia establecida, constituyendo un cuadro típico de depleción de progenitores eritroides producto de la replicación de B19V en estos pacientes (Jain *et al*, 2015). El B19V ha sido considerado la principal causa de anemia persistente en tratamiento con quimioterapia o en pacientes inmunosuprimidos (McNall *et al*, 2001; Pamidi *et al*, 2000) y algunos autores refieren que es común su hallazgo en pacientes con diferentes tipos de leucemias (da Costa *et al*, 2013). Se ha encontrado un 20% de ADN de B19V en un estudio con muestras mixtas, tanto de suero como de médula ósea de niños con enfermedades hematológicas (malignas y benignas) y/u oncológicas (Jitschin *et al*, 2010) mientras que el mismo estudio encuentra IgM específica en 4,5% del total de las muestras. Por último Us *et al* (2007) encontraron en un trabajo sobre 79 pacientes con enfermedades hematológicas un 12,6% de pacientes IgM anti-B19V pero el doble (25,3%) de prevalencia de ADN, por lo que recomiendan también la detección de anticuerpos conjuntamente con la detección del ADN del virus para establecer un diagnóstico. También encuentran mayor prevalencia en aquellos pacientes que por su tratamiento están en mayor o menor medida inmunosuprimidos. En nuestro estudio hemos encontrado frecuencias menores que en los dos últimos mencionados, y las mismas no fueron significativamente diferentes de las encontradas en nuestro grupo de referencia. Es probable que las distintas prevalencias reportadas tengan relación con las

tasas de circulación de B19 variables con los años y las series de casos estudiadas, junto a otros factores demográficos como la edad de los pacientes. Los pacientes con enfermedades hematológicas aquí analizados fueron reclutados en los años 2009 y 2010, siendo este un período interepidémico y por lo tanto de menor circulación del B19V de acuerdo a nuestros resultados. Por eso, el B19V debe ser tenido en cuenta desde el inicio como una posible complicación durante el tratamiento de las enfermedades hematológicas.

Sobre la interpretación de los resultados de los ensayos para determinación de los marcadores de infección por B19, es importante aclarar algunos aspectos técnicos. La infección por B19V se da principalmente en la niñez. La incidencia observada en menores durante un año epidémico sumado a la persistencia del virus pueden elevar sensiblemente las prevalencias de marcadores en los controles. Se conoce que luego de una infección por B19V, algunas personas no desarrollarán toda la sintomatología clásica, y solo tendrán algunas de las manifestaciones clínicas de manera más o menos leve, pudiendo incluso ser asintomáticos en un número variable que según algunos autores alcanza al 51% de los casos (Chisaka *et al*, 2006), con lo cual se estarían incluyendo muestras con IgM anti-B19V+ y ADN-B19V+ por primoinfecciones subclínicas y también ADN-B19V+ por persistencia viral durante el período epidémico y el inmediatamente posterior. En un trabajo reciente, habiendo medido la duración y las concentraciones del ADN-B19V en donantes de sangre, se encontró una persistencia promedio del virus de 21,5 meses (Observado 2,3 – 52,4 meses; IC 95%: 19,1 – 23,9 meses). En el mismo trabajo se menciona que de las 411 muestras de donantes de sangre con presencia de ADN de B19V, el 79,6% tuvieron una concentración de entre 75 y 1000 UI/mL (Juhl *et al*, 2014). Es factible que en esta proporción tan elevada de muestras dentro de ese rango de baja y muy baja concentración radique una parte de las discrepancias que se observan en los trabajos en general: la sensibilidad de la PCR que se use tendrá una incidencia directa en el número de positivos que se encuentren en las muestras analizadas.

En lo que respecta a la determinación de IgM anti-B19V con los ensayos autorizados para el diagnóstico disponibles en el mercado, es importante destacar que el antígeno del virus para la elaboración del test se obtiene mediante expresión de las

proteínas estructurales del B19V en virus de insectos. El proceso de expresión mediante técnicas de ingeniería molecular conlleva mayor dificultad que para otros virus que crecen con relativa facilidad en cultivos de células susceptibles, como por ejemplo el virus rubéola (Wolfisberg *et al*, 2013), lo cual incrementa considerablemente los costos de producción (la determinación serológica de infección por B19V está entre de las más costosas). En el mercado se ofrecen diferentes opciones. Los equipos comerciales más convencionales tienen el esquema clásico de ELISA indirecta, en el cual se fija el antígeno al cual están dirigidos los anticuerpos en estudio en el interior del pocillo de reacción, se enfrenta al suero del paciente y, si este posee anticuerpos específicos para dicho antígeno, los mismos se unen y son revelados con un anticuerpo anti-porción Fc (cadena *mu* para determinación de IgM) marcado con una enzima. Este tipo de ensayos se ven especialmente afectados por la presencia de FR, el cual al estar constituido en su mayoría por IgM anti-porción Fc de las inmunoglobulinas tipo G, si se encuentra en gran concentración puede obstaculizar la detección de IgM específica a pesar de los lavados que se realizan durante el ensayo, provocando resultados falsos positivos (Li *et al*, 2014; Lakos y Teodorescu, 2011). De hecho, en algunos casos se recomienda tratar las muestras previamente con un precipitante de FR (no provisto por todas las marcas de reactivos). El FR se encuentra habitualmente en concentraciones bajas o indetectables, por lo que se ha establecido un valor de referencia máximo que oscila entre 15 UI/mL y 20 UI/mL, por debajo del cual no estaría asociado a patologías (Qin *et al*, 2013), pero también se ha encontrado que hasta un 5,6% de la población saludable posee concentraciones de FR superiores al valor de referencia (Mordinov y Mordinova, 2000; Atabonkeng *et al*, 2015). En este tipo de situaciones se podrían obtener resultados de detección de IgM falsos positivos, tanto para B19V como para otros patógenos, especialmente en concentraciones extremas de FR. También encontramos equipos para detección de IgM con el formato llamado “de captura”, que con una etapa extra de incubación y la inclusión del sistema avidina-biotina aumentan la especificidad siendo estos los más costosos y de mejor calidad diagnóstica (Crowder, 1995; Prince *et al*, 2016). En las determinaciones de IgM se deben tener en cuenta estos factores para minimizar las variables que pudieran dar lugar a resultados erróneos, además de continuar los esfuerzos para contribuir a la estandarización y mejora tanto en la fabricación de los equipos diagnósticos como en la aplicación del protocolo del ensayo.

Finalmente, los ensayos serológicos y moleculares disponibles actualmente para el diagnóstico de la infección por B19V no sólo requieren una interpretación cuidadosa de los resultados en el contexto de una historia clínica completa, sino que también en muchos casos deben analizarse conjuntamente.

CONCLUSIONES

- Este es el primer estudio realizado en Argentina sobre la presencia de marcadores de infección e inmunidad del B19V en las patologías más comúnmente asociadas al mismo.
- El B19V circula habitualmente y es un virus frecuente en todos los grupos estudiados de nuestro medio. Según nuestros resultados, el virus se encuentra con mayor frecuencia en los pacientes con EF, luego en forma decreciente en los pacientes con AA, en embarazadas sintomáticas y neonatos sintomáticos, y por último se encuentra en menor proporción en los dos grupos de pacientes inmunocomprometidos (VIH-SIDA y enfermedades hematológicas).
- Dentro de las patologías más comunes causadas por el B19V, la prevalencia encontrada en pacientes con EF se ubica dentro del rango que se ha publicado para poblaciones similares en otras regiones del mundo y se coloca así, en el grupo de los patógenos más habituales en la etiología del EF. Se debe destacar la importancia del diagnóstico diferencial de B19V en el contexto actual de eliminación de rubéola y sarampión. La infección por B19V en estos pacientes no se asoció significativamente con ninguna otra condición clínica. La estacionalidad de la infección fue muy definida (invierno – primavera) así como su carácter cíclico: en nuestro estudio observamos que 2007 y 2013 fueron dos años con mayor circulación del virus. En los pacientes con artritis/artralgia, si bien no se encontró IgM específica, la presencia de ADN viral fue importante y debe ser tomada en cuenta ante la ausencia de otra etiología. La elevada frecuencia de ADN en la muestra estudiada así como la asociación encontrada entre la presencia de ADN y anemia en estos pacientes justifica la continuidad del estudio para profundizar sobre la relación causal en esta patología.
- En lo que respecta al B19V en la infección congénita, la presencia estadísticamente significativa de IgM en embarazadas sintomáticas así como de ADN en el 31,6% de las mismas confirma la amplia circulación del virus (observada previamente en los pacientes con EF) y que existe un riesgo verdadero para la embarazada susceptible de contraer la infección. De acuerdo a nuestros

resultados, la participación del B19V en la infección congénita podría estar siendo subestimada.

- En el caso de los pacientes con VIH-SIDA (todos adultos), observamos que el B19V no constituye un patógeno de riesgo en los individuos que inician y responden al tratamiento antirretroviral. En el caso de los pacientes con enfermedades hematológicas con y sin inmunosupresión por tratamiento médico, si bien la presencia del B19V no fue significativamente mayor que en el grupo de referencia, se observó que la infección por B19V puede ocasionar la interrupción del tratamiento y obligar a transfundir al paciente, por lo que el diagnóstico del B19V debería estar entre los de primera línea ante la aparición de sintomatología compatible.
- La elección y estandarización de la metodología es esencial para la obtención e interpretación de los resultados. Los rangos de detección de las pruebas moleculares así como la especificidad de los ensayos de detección de anticuerpos son determinantes a la hora de evaluar la información aportada por los resultados.
- Esta Tesis puede ser el punto de partida para continuar los estudios de algunos aspectos aquí abordados, ya que además de las asociaciones significativas encontradas, existen potencialmente otras que se podrían establecer en función de la detección molecular del virus, en particular en pacientes con artropatías, embarazadas y recién nacidos sintomáticos.

RECOMENDACIONES

- Nuestro trabajo confirma la existencia de años con mayor circulación del virus (períodos epidémicos) intercalando con años de menor circulación. Este patrón cíclico debería ser tenido en cuenta por los profesionales a la hora de evaluar un posible diagnóstico, especialmente en la infección congénita por B19V y también en los pacientes con artritis-artralgia en los cuales no se logra determinar la causa de la dolencia.
- En el caso puntual de la infección congénita, el B19V debería ser tenido en cuenta de manera temprana como patógeno probable ante la aparición de sintomatología relacionada, especialmente en dos diagnósticos en particular como son hidrops fetal y polihidramnios, sin desestimar un resultado de PCR positivo aunque el mismo muestre una baja concentración de ADN-B19V.
- Los resultados presentados abren interrogantes a partir de los cuales continuar investigando mediante el abordaje que combine tanto los aspectos laboratoriales como los clínicos, aunque será preciso focalizar futuros estudios en grupos particulares de pacientes (con una cuidadosa selección y seguimiento de los casos), sin perder de vista las limitaciones de técnicas que aún se plantean en el diagnóstico de B19V.

REFERENCIAS

- Abarca K, Cohen BJ, Vial PA. Seroprevalence of parvovirus B19 in urban Chilean children and young adults, 1990 and 1996. *Epidemiol. Infect* 2002; 128: 59–62
- Abdollahi A, Shoar S, Sheikhbahae S, Mahdavian B, Rasoulinejad M, Status of immunity against PVB19 in HIV-infected patients according to CD4 + cell count, and antiretroviral therapy regimen groups. *Niger Med J.* 2014 ;55:20-3
- Al Shukri I, Hamilton F, Evans M, Cooper S, McKenzie G, Willocks L, Templeton K, Harvala H. Increased number of parvovirus B19 infections in southeast Scotland in 2012-2013. *Clin Microbiol Infect.* 2015 Feb;21(2):193-6
- Alavi S, Arabi N, Yazdi MK, Arzanian MT, Zohrehbandian F. Hereditary Spherocytosis Unmasked by Human Parvovirus B19 Induced Aplastic Crisis in a Family. *Iran. J. Med. Sci.* 2015;40(5):461-464
- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO 3rd, BirnbaumNS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, EmeryP, Ferraccioli G, Hazes JM, Hobbs K, Huizinga TW, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Ménard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawski-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovský J, Wolfe F, Hawker G. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569-81
- Alonso A, Distefano A, Carlino O. Polito A. Exanthematous outbreak caused by human parvovirus B19 in a school in Banderoló, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 2003; 35: 171-174
- Alonso AM, Distefano AL, Ritler M, Barbero P. Evolución de la infección por Parvovirus Humano B19 durante el embarazo. *Rev. Soc. Obstet. Ginecol. Prov. B. Aires XXI Jornadas de Obstetricia y Ginecología.* Mayo 2003. Vol 82, Nº 955, Resumen Nº 89, p. 42
- Alonso AM, Rodríguez CE, Basualdo M, Distefano AL. Seroprevalencia de parvovirus humano B19 (PVH) en la provincia de Formosa 2001-2004. *XXIV Jornadas*

Científicas Anuales de la Sociedad Argentina de Virología. Córdoba 2004; Resumen 45, p. 45

Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, Pattison JR, Tyrrell DA.

Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis.* 1985;152(2):257-65

Anderson MJ, Jones SE, Fisher-Hoch SP, Lewis E, Hall SM, Bartlett CL, Cohen BJ, Mortimer

PP, Pereira MS. Human parvovirus, the cause of erythema infectiosum(fifth disease)? *Lancet.* 1983;1(8338):1378

Arulkumaran S, Gopalan S, Kumar P. Obstetrics and gynaecology for postgraduate.

Volume 2. Published by Orient BlackSwan/Universities Press, 2009 ISBN 10: 8173716919 / ISBN 13: 9788173716911

Atabonkeng E, Adiogo D, Emmanuel E, Hervé O, Manga Owono A, Okomo Assoumou M.

*ArchRheumatol.*2015.4567. Volume 30, issue 3; 226-230

Azadmanesh, K., Mohraz, M., Kazemimanesh, M., Aghakhani, A., Foroughi, M., Banifazl,

M., Eslamifar, A. and Ramezani, A. (2015), Frequency and genotype of human parvovirus B19 among Iranian patients infected with HIV. *J. Med. Virol.*, 87: 1124–1129

Azzi A, Morfini M, Mannucci PM. The transfusion-associated transmission of parvovirus

B19. *Transfus Med Rev* 1999;13: 194-204

Beigi RH, Wiesenfeld HC, Landers DV, Simhan HN. High Rate of Severe Fetal Outcomes

Associated with Maternal Parvovirus B19 Infection in Pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2008;2008:524601

Best JM, O'Shea S, Tipples G, Davies N, Al-Khusaiby SM, Krause A, Hesketh LM, Jin L,

Enders G. Interpretation of rubella serology in pregnancy--pitfalls and problems. *BMJ.* 2002 Jul 20;325(7356):147-8

Bihari C, Rastogi A, Rangegowda D, Chowdhury A, Saxena P, Garg H, Sarin SK. Parvovirus

B19 associated acute hepatitis and hepatosplenomegaly. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2014;38(1):e9-10

Bonsch C, Kempf C, Ros C. Interaction of parvovirus B19 with human erythrocytes alters

virus structure and cell membrane integrity. *J. Virol.* 2008;82:11784–1179

Bönsch, C., Zuercher, C., Lieby, P., Kempf, C., & Ros, C. The Globoside Receptor Triggers

Structural Changes in the B19 Virus Capsid That Facilitate Virus Internalization . *J. Virol*, 2010;84(22), 11737–11746

- Bonvicini F, Bua G, Manaresi E, Gallinella G. Antiviral effect of cidofovir on parvovirus B19 replication. *Antiviral Res.* 2015;113:11-8
- Bonvicini F, Bua G, Manaresi E, Gallinella G. Enhanced inhibition of parvovirus B19 replication by cidofovir in extendedly exposed erythroid progenitor cells. *Virus Res.* 2016 Jul 15;220:47-51
- Bonvicini F, Mirasoli M, Manaresi E, Bua G, Calabria D, Roda A, Gallinella G. Single-cell chemiluminescence imaging of parvovirus B19 life cycle. *Virus Res.* 2013 Dec 26;178(2):517-21
- Bonvicini F, Puccetti C, Salfi NC, Guerra B, Gallinella G, Rizzo N, Zerbini M. Gestational and fetal outcomes in B19 maternal infection: a problem of diagnosis. *J Clin Microbiol.* 2011 Oct;49(10):3514-8.
- Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, van derNoordaa J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol.* 1990 Mar;28(3):495-503.
- Broliden K, Tolfvenstam T, Norbeck O. Clinical aspects of parvovirus B19 infection. *J Intern Med* 2006; 260:285–304
- Brown KE. Haematological consequences of parvovirus B19 infection. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000;13:245-59
- Bua G, Manaresi E, Bonvicini F, Gallinella G. Parvovirus B19 Replication and Expression in Differentiating Erythroid Progenitor Cells. *PLoS One.* 2016;11(2):e0148547
- Bucher Praz C, Dessimoz C, Bally F, Reymond S, Troillet N. Guillain-Barré Syndrome Associated with Primary Parvovirus B19 Infection in an HIV-1-Infected Patient. *Case Rep Med.* 2012;2012:140780
- Calvet, A., Pujol, MO, Bertocchi, M., Bastien, O., Boissonnat, P., Mornex, J.F. Parvovirus B19 infection in thoracic organ transplant recipients. *J Clin Virol.* 1999;13:37-42
- Cassinotti P, Bas S, Siegl G, Vischer TL. Association between human parvovirus B19 infection and arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1995;54(6):498-500
- Cassinotti P, Siegl G. Quantitative evidence for persistence of human parvovirus B19 DNA in an immunocompetent individual. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:866–867

- Chalouhi GE1, Benedetti S, Alby C, Benzina N, Ville Y. Cause of fetal demise in first-trimester parvovirus infection: anemia, placentitis or myocarditis?. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014 Nov;44(5):618-9
- Chen AY, Zhang EY, Guan W, Cheng F, Kleiboeker S, Yankee TM, Qiu J. The small 11 kDa nonstructural protein of human parvovirus B19 plays a key role in inducing apoptosis during B19 virus infection of primary erythroid progenitor cells. *Blood.* 2010 Feb 4;115(5):1070-80
- Chen, A. Y., Guan, W., Lou, S., Liu, Z., Kleiboeker, S., & Qiu, J. Role of Erythropoietin Receptor Signaling in Parvovirus B19 Replication in Human Erythroid Progenitor Cells. *J Virol.* 2010. 84(23), 12385–12396
- Chernak E, Dubin G, Henry D, Naides S, Hodinka RL, MacGregor R, Friedman H. Infection due to parvovirus B19 in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 1995 Jan;20(1):170-3
- Cherry JD, Schulte DJ. Human Parvovirus B19. Feigin RD, Cherry JD, Demmler-Harrison GJ, Kaplan SL. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases.* Eds. Feigin & Cherry's. 6th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2009. Vol 2: 1902-1920
- Chao TT, Sheffield JS, Wendel GD, Ansari MQ, McIntire DD, Roberts SW. Risk Factors Associated with False Positive HIV Test Results in a Low-Risk Urban Obstetric Population. *J Pregnancy.* 2012;2012:841979
- Chisaka H, Morita E, Yaegashi N, Sugamura K. Parvovirus B19 and the pathogenesis of anemia. *Rev Med Virol.* 2003;13(6):347–59
- Chisaka H, Ito K, Niikura H, Sugawara J, Takano T, Murakami T, Terada Y, Okamura K, Shiroishi H, Sugamura K, Yaegashi N. Clinical manifestations and outcomes of parvovirus B19 infection during pregnancy in Japan. *Tohoku J Exp Med.* 2006 Aug;209(4):277-83
- Chorba T, Anderson LJ. Erythema infectiosum (fifth disease). *Clin Dermatol* 1989;7:65–74.
- Chorba T, Coccia P, Holman R, et al. The role of parvovirus B19 in aplastic crisis and erythema infectiosum (fifth disease). *J Infect Dis* 1986;154:383-93
- Colmegna I., Alberts-Grill N. Parvovirus B19: its role in chronic arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2009; 35: 95-110

- Corcioli F, Zakrzewska K, Rinieri A, Fanci R, Innocenti M, Civinini R, De Giorgi V, Di Lollo S, Azzi A. Tissue persistence of parvovirus B19 genotypes in asymptomatic persons. *J. Med. Virol.* 2008. 80:2005–2011
- Corcoran A, Doyle S. Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19. *J Med Microbiol.* 2004 Jun;53(Pt 6):459-75
- Cossart Yvonne. Human parvovirus B19. Department of Infectious Diseases and Immunology University of Sydney. PDF. Disponible en <https://www.rcpa.edu.au/getattachment/b2102f16-3cd2-4c60-a6b1-45a523873d5a/Yvonne-Cossart-Human-Parvovirus-B19.aspx> acceso 10/09/2016
- Cossart YE, Field AM, Cant BR, Widdows D. Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet.* 1975;1(7898):72–7
- Crane J, Mundle W, Boucoiran I; Maternal Fetal Medicine Committee., Gagnon R, Bujold E, Basso M, Bos H, Brown R, Cooper S, Gouin K, McLeod NL, Menticoglou S, Mundle W, Pylypjuk C, Roggensack A, Sanderson F. Parvovirus B19 infection in pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can.* 2014 Dec;36(12):1107-16
- Crowder, J. ELISA: Theory and Practice. Springer. Science & Business Media, 1995 - 223 p.
- Crowe SM, JB Carlin, KI Stewart, CR Lucas, JF Hoy. Predictive value of CD4 lymphocyte numbers for the development of opportunistic infections and malignancies in HIV-infected persons. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 1991;4:770–76
- da Costa A, Bendit I, de Oliveira A, Kallas E, Sabino E, Sanabani S. Investigation of human parvovirus B19 occurrence and genetic variability in different leukaemia entities *Clin Microbiol Infect.* 2013 Jan;19(1):E31-43
- de Moraes JC, Toscano CM, de Barros EN, Kemp B, Lievano F, Jacobson S, Afonso AM, Strebel PM, Cairns KL; VigiFex Group. Etiologies of rash and fever illnesses in Campinas, Brazil. *J Infect Dis.* 2011 Sep 1;204 Suppl 2:S627-36
- Dahlke JD, Magann EF. Immune and non-immune hydrops fetalis. In: Martin RJ, Fanaroff AA, Walsh MC, eds. *Fanaroff and Martin's Neonatal-Perinatal Medicine.* 10th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015:chap 24

- de Haan TR, Beersma MFC, Oepkes D, de Jong EP, Kroes ACM, Walther FJ. Parvovirus B19 infection in pregnancy: maternal and fetal viral load measurements related to clinical parameters. *Prenat Diagn* 2007;27:46–50
- de Jong EP, de Haan TR, Kroes AC, Beersma MF, Oepkes D, Walther FJ. Parvovirus B19 infection in pregnancy. *J Clin Virol*. 2006 May;36(1):1-7
- Deiss, V., J. D. Tratschin, M. Weitz, Siegl G. Cloning of the human parvovirus B19 genome and structural analysis of its palindromic termini. *Virol J*. 1990. 175:247–254
- de Oliveira SA, Bastos Camacho LA, Fernandes Bruno L, de Gusmão RC, de Medeiros Pereira AC, Coca Velarde LG, Mendonça Siqueira M. Acute arthropathy in patients with rash diseases: a comparative study. *Clin Rheumatol*. 2009;28(9):1067-71
- Dickinson JE1, Keil AD, Charles AK. Discordant fetal infection for parvovirus B19 in a dichorionic twin pregnancy. *Twin Res Hum Genet*. 2006 Jun;9(3):456-9
- Dieck D, Shild RL, Hansmann M, Eis-Hubinger AM. Prenatal diagnosis of congenital parvovirus B19 infection: value of serological and PCR techniques in maternal and fetal serum. *Prenat Diagn* 1999;19: 1119–23
- Eholié SP, Badje A, Kouame GM, N'takpe JB, Moh R, Danel C, Anglaret X. Antiretroviral treatment regardless of CD4 count: the universal answer to a contextual question. *AIDS Res Ther*. 2016 26;13:27
- Eid A, Brown R, Patel R, Razonable R. Parvovirus B19 infection after transplantation: a review of 98 cases. *Clin Infect Dis*. 2006 Jul 1. 43(1):40-8
- Ekman A, Hokynar K, Kakkola L, Kantola K, Hedman L, Bondén H, Gessner M, Aberham C, Norja P, Miettinen S, Hedman K and Söderlund-Venermo M. Biological and immunological relations among human parvovirus B19 genotypes 1 to 3. *J Virol* 2007; 81:6927–35
- Enders M, Weidner A, Zoellner I, Searle K, Enders G. Fetal morbidity and mortality after acute human parvovirus B19 infection in pregnancy: prospective evaluation of 1018 cases. *Prenat Diagn*. 2004 Jul;24(7):513-8
- Enders M, Weidner A, Rosenthal T, Baisch C, Hedman L, Söderlund-Venermo M, Hedman K. Improved diagnosis of gestational parvovirus B19 infection at the time of non immune fetal hydrops. *J Infect Dis*. 2008 Jan 1;197(1):58-62
- Espinoza LR, García Valladares I. Microbios y Articulaciones: la relación entre infección y articulaciones. *Reumatol Clin*. 2013; 9 (4): 229-238

- European Farmacopoeia Online. Validation of Nucleic Acid Amplification Technology (NAT) for the quantification of B19 virus (B19V) DNA in Plasma Pools: guidelines. <http://online.edqm.eu/EN/entry.htm>. Con acceso 10/0602017
- Exindari M, Chatzidimitriou D, Melidou A, Gioula G, Ziogou L, Diza E. Epidemiological and clinical characteristics of human parvovirus B19 infections during 2006-2009 in Northern Greece. *Hippokratia*. 2011 Apr;15(2):157-60
- Florea AV, Ionescu DN, Melhem MF. Parvovirus B19 infection in the immunocompromised host. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:799-804
- Fritsch A, Müller A, Sanseverino M, Kessler R, Barrios P, Patusco L. Nonimmune hydrops fetalis: two decades of experience in a university hospital. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2012; 34(7): 310-315
- Fuller A, Moaven L, Spelman D, Spicer WJ, Wraight H, Curtis D, Leydon J, Doultree J, Locarnini S. Parvovirus B19 in HIV infection: a treatable cause of anemia. *Pathology*. 1996 Aug;28(3):277-80
- Gadwalkar SR, Deepa DV, Katageri A, Murthy PR, Dhar R. Primary human parvovirus B19 infection in an HIV infected patient on antiretroviral therapy. *J Assoc Physicians India*. 2013 Dec;61(12):910-2
- Gallinella G, Manaresi E, Zuffi E, Venturoli S, Bonsi L, Bagnara GP, Musiani M, Zerbini M. Different patterns of restriction to B19 parvovirus replication in human blast cell lines. *Virology*. 2000 Dec 20;278(2):361-7
- Garabedian C, Rakza T, Thomas D, Wibaut B, Vaast P, Subtil D, Houfflin-Debarge V. Neonatal outcome after fetal anemia managed by intrauterine transfusion. *Eur J Pediatr*. 2015 Nov;174(11):1535-9
- Gentile, A. Sarampión: ¿Qué actitud se debe tomar con esta vieja enfermedad? *Arch Arg Pediatr*. 1998; Vol 96, p 147 - 149
- Gibson CS, Scott H, Haan E, Scheil W. Age range for inclusion affects ascertainment by birth defects registers. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2016 Jun 21 [Epub ahead of print]
- Giorgio E, De Oronzo MA, Iozza I, et al. Parvovirus B19 during pregnancy: a review. *Journal Prenat Med*. 2010;4(4):63-66

- Guiguet M, Boue F, Cadranel J. Effect of immunodeficiency, HIV viral load, and antiretroviral therapy on the risk of individual malignancies (FHDH-ANRS CO4): a prospective cohort study. *Lancet Oncol.* 2009;10:1152–9
- Gustafsson I, Kaldensjö T, Lindblom A, Norbeck O, Henter JI, Tolfvenstam T, Broliden K. Evaluation of parvovirus B19 infection in children with malignant or hematological disorders. *Clin Infect Dis.* 2010 May 15;50(10):1426-7
- Hartge DR, Weichert J, Gembicki M, Krapp M. Confirmation of etiology in fetal hydrops by sonographic evaluation of fluid allocation patterns. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015 Dec;195:128-32
- Hashimoto H, Yuno T. Parvovirus B19-associated purpuric-petechial eruption. *J Clin Virol.* 2011;52:269–271
- He M, Zhu J, Yin H, Ke L, Gao L, Pan Z, Yang X, Li W: Human immunodeficiency virus/human parvovirus B19 co-infection in blood donors and AIDS patients in Sichuan, China. *Blood Transfus* 2012, 27:1–13
- Health Protection Scotland (HPS). Increased parvovirus B19 activity in Scotland. Volume 47 No. 2013/16 ISSN 1753-4224 (Online <http://www.documents.hps.scot.nhs.uk/ewr/pdf2013/1316.pdf>). Con acceso 10/09/2016
- Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:485–50
- Huang L, Crothers K. HIV-associated opportunistic pneumonias. *Respirology.* 2009 May;14(4):474-85
- Huatuco, E M M, Durigon, E L, Lebrun, F L A S, Passos, S D, Gazeta, R E, Azevedo Neto, R S, & Massad, E. Seroprevalence of human parvovirus B19 in a suburban population in São Paulo, Brazil. *Rev. Saúde Pública.* 2008. 42(3), 443-449
- Hwang J, Song J-U, Ahn JK. Decline of Pulmonary Function Is Associated With the Presence of Rheumatoid Factor in Korean Health Screening Subjects Without Clinically Apparent Lung Disease: A Cross-Sectional Study. Oussalah. A, ed. *Medicine.* 2016;95(19):e3668
- ICD-10. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision. (<http://www.who.int/classifications/icd/en/>) Con acceso 11 de septiembre de 2016

- Isa A, Lundqvist A, Lindblom A, Tolfvenstam T, Broliden K. Cytokine responses in acute and persistent human parvovirus B19 infection. *Clin Exp Immunol.* 2007 Mar;147(3):419-25
- Isomura S. Measles and measles vaccine in Japan. *Nagoya J Med Sci.* 1993 Mar;55(1-4):23-32
- Jain P, Jain A, Prakash S, Khan DN, Singh DD, Kumar A, Moulik NR, Chandra T. Prevalence and genotypic characterization of human parvovirus B19 in children with hematological disorders in North India. *J Med Virol.* 2015 Feb;87(2):303-9.
- Jitschin R1, Peters O, Plentz A, Turowski P, Segerer H, Modrow S. Impact of parvovirus B19 infection on paediatric patients with haematological and/or oncological disorders. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Sep;17(9):1336-42
- Jordan JA, DeLoia JA. Globoside expression within the human placenta. *Placenta.* 1999;20(1):103-8
- Juhl D, Görg S, Hennig H. Persistence of Parvovirus B19 (B19V) DNA and humoral immune response in B19V-infected blood donors. *Vox Sang.* 2014 Oct;107(3):226-32
- Jung AC, Paauw DS. Diagnosing HIV-Related Disease: Using the CD4 Count as a Guide. *J. Gen. Intern. Med.* 1998;13(2):131-136
- Kakurina N, Kadisa A, Lejnieks A, Mikazane H, Kozireva S, Murovska M. Use of exploratory factor analysis to ascertain the correlation between the activities of rheumatoid arthritis and infection by human parvovirus B19. *Medicina (Kaunas).* 2015;51(1):18-24
- Kelleher E, McMahon C, McMahon C. A case of parvovirus B19-induced pure red cell aplasia in a child following heart transplant. *Cardiol Young.* 2015;25:373-5
- Kerr J., Coyle P., DeLeys R, Patterson C., Follow-up study of clinical and immunological findings in patients presenting with acute parvovirus B19 infection, *J. Med. Virol.* 48 (1996) 68-75
- Kerr J, Kane D, Crowley B, Leonard N, O'Briain S, Coyle P and Mulcahy F. Parvovirus B19 infection in AIDS patients *J. R. Int J STD AIDS* 1997; 8:184-186
- Kerr, J R. Pathogenesis of human parvovirus b19 in rheumatic disease. *Ann Rheum Dis,* 59. 2000 pp. 672-683

- Kerr, J. A review of blood diseases and cytopenias associated with human parvovirus B19 infection. *Rev. Med. Virol.* 2015; 25: 224–240
- Kitchen CM, Kitchen SG, Dubin JA, Gottlieb MS. Initial virological and immunologic response to highly active antiretroviral therapy predicts long-term clinical outcome. *Clin Infect Dis.* 2001;33:466–472
- Kondo Y, Kakami M, Kawaguchi H, Miyake F, Urisu A, Asano Y, Kojima S. Transient pancytopenia associated with parvovirus infection in a healthy child. *Pediatr Int* 2002;44:695-7
- Koppelman MH, Rood IG, Fryer JF. Parvovirus B19 genotype 1 and 2 detection with real-time polymerase chain reaction assays. *Vox Sang.* 2007;93:208–15
- Kuno-Sakai H, Ozaki K, Kimura M. Two doses of measles mumps rubella (MMR) vaccine *Acta Paediatr Jpn.* 1989 Dec;31(6):690-7
- Lakos G, Teodorescu M. IgM, but not IgA rheumatoid factor interferes with anti-cardiolipin and anti β 2 glycoprotein I measurements: a quantitative analysis. *Lupus.* 2011 May;20(6):614-9
- Lane H., Masur H, Edgar L, Whalen G, Rook A, Fauci A. Abnormalities of B-cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1983; 309(8), 453–458
- Larrañaga C, León O, Díaz P, Miranda M, Norambuena X, Pérez M, Gaggero A. Parvovirus B19 infection in Chile: markers of infection and immunity in patients with clinical symptoms. *J Med Virol.* 2007 Dec;79(12):1927-34
- Lefrère JJ, Servant-Delmas A, Candotti D, Mariotti M, Thomas I, Brossard Y, Lefrère F, Giroit R, Allain JP, Laperche S. Persistent B19 infection in immunocompetent individuals: implications for transfusion safety. *Blood.* 2005;106(8):2890-5
- Leisi R, Ruprecht N, Kempf C, Ros C. Parvovirus B19 uptake is a highly selective process controlled by VP1u, a novel determinant of viral tropism. *J Virol.* 2013 Dec;87(24):13161-7
- Leonard H, Calabrese, DO. Infectious Disorders, B. Viral Arthritis. En: Klippel JH, Stone JH, Crofford LJ, White PH, Editores. Primer on the rheumatic diseases. Thirteenth Edition. Atlanta, EEUU: Editorial Springer; 2008. p. 277-81

- Lévican J, Torres M, Gaggero N, Corvalán R, Gaggero A. Parvovirus B19 among blood donors from three hospitals in Santiago, Chile. *Rev Med Chil.* 2011 Feb;139(2):143-9
- Li JJ, Henwood T, Van Hal S, Charlton A. Parvovirus infection: an immunohistochemical study using fetal and placental tissue. *Pediatr Dev Pathol.* 2015;18(1):30-9
- Li YC, Yang F, Ji XY, Fang ZJ, Liu J, Wang Y. False human immunodeficiency virus test results associated with rheumatoid factors in rheumatoid arthritis. *Chin Med Sci J.* 2014 Jun;29(2):103-6
- Liley, A. Intrauterine transfusion of foetus in haemolytic disease. *Br Med J.* 1963 Nov 2;2(5365):1107-9
- Lindblom A, Heyman M, Gustafsson I, Norbeck O, Kaldensjö T, Vernby A, Henter JI, Tolfvenstam T, Broliden K. Parvovirus B19 infection in children with acute lymphoblastic leukemia is associated with cytopenia resulting in prolonged interruptions of chemo-therapy. *Clin Infect Dis* 2008;46:528-36
- Lindblom A, Isa A, Norbeck O, Wolf S, Johansson B, Broliden K, Tolfvenstam T. Slow clearance of human parvovirus B19 viremia following acute infection. *Clin Infect Dis.* 2005 Oct 15;41(8):1201-3
- Lindenburg IT1, van Kamp IL, Oepkes D. Intrauterine blood transfusion: current indications and associated risks. *Fetal Diagn Ther.* 2014;36(4):263-71
- Liu E, Spiegelman D, Semu H, Hawkins C, Chalamilla G, Aveika A, Nyamsangia S, Mehta S, Mtasiwa D, Fawzi W. Nutritional status and mortality among HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy in Tanzania. *J Infect Dis* 2011;204:282–90
- Lundqvist A, Isa A, Tolfvenstam T, Kvist G, Broliden K. High frequency of parvovirus B19 DNA in bone marrow samples from rheumatic patients. *J Clin Virol.* 2005;33(1):71-4
- Luo Y, Kleiboeker S, Deng X, Qiu J. Human parvovirus B19 infection causes cell cycle arrest of human erythroid progenitors at late S phase that favors viral DNA replication. *J Virol.* 2013;87(23):12766-75
- Manzury, A. Aborto Recurrente. *Rev. Med. Clin. Condes -* 2010; 21(3) 416 – 423
- Marano, G. Human parovirus B19 and blood product safety: a tale of twenty years of improvements. *Blood Transf* 2015; 13: 184-96

- Mahon C, Lehman D, Manuselis Jr G. Textbook of Diagnostic Microbiology. Elsevier Health Sciences, 25 mar. 2014 – p 202 – 203
- Marks M, Marks J. Viral Arthritis. Clin Med (Lond). 2016 Apr;16(2):129-34
- Masa Calles J, López Perea N, de Viarce Torres M. Rev Esp Salud Pública 2015;89: 365-379
- Matuszewska A, Madej M, Wiland P. Immunological markers of rheumatoid arthritis. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2016 Mar 25;70:251-7
- Mauermann M, Hochauf-Stange K, Kleymann A, Conrad K, Aringer M. Parvovirus infection in early arthritis. Clin Exp Rheumatol. 2016 Mar-Apr;34(2):207-13
- Mc Nall RY, Head DR, Pui CH, Razzouk BI. Parvovirus B19 infection in a child with acute lymphoblastic leukemia during induction therapy. Am J. Pediatr Hematol 2001;23: 309-311
- Mendonca, MCL; Ribeiro, SB; Couceiro, JNSS and Von Hubinger, MG. Parvovirus B19 infections in state of Rio de Janeiro, Brasil: 526 sera analyzed by IgM-enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2005, vol.100,n.8.pp.847-852. Disponible online en: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074 . Con acceso 20/09/2016
- Miller E, Fairley CK, Cohen BJ, Seng C. Immediate and long term outcome of human parvovirus B19 infection in pregnancy. Brit J Obstet Gynaecol 1998; 105: 174–8.
- Ministerio de Salud de la Nación. Boletín sobre el VIH-SIDA N° 31. Diciembre 2014.
- Ministerio de Salud de la Nación. Programa nacional de control de enfermedades inmunoprevenibles. Alerta Rubéola. 22/05/2001. Semana epidemiológica 22. <http://www.msal.gob.ar/images/stories/epidemiologia/inmunizaciones/alerta-sarampion/alerta-rubeola-n-c2-ba-11-2011.pdf> Con acceso 25/08/2016
- Mitchell LA. Parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein as a transactivator of interleukin-6 synthesis: common pathway in inflammatory sequelae of human parvovirus infections? J. Med. Virol. 2002; 67: 267–274
- Mizuma H, Litwin S, Zolla-Pazner S. B-Cell Activation in HIV infection: relationship of spontaneous immunoglobulin secretion to various immunological parameters. Clin Exp Immunol.1988. 71, 410-416

- MMWR-CDC. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR Recomm Rep. 1992 Dec 18;41(RR-17):1-19
- Modrow S, Dorsch S. Antibody responses in parvovirus B19 infected patients. Pathol Biol 2002; 50:326–31
- Montoya RJJ, Castelazo ME, Valerio CA, y col. Opinión de un grupo de expertos en diagnóstico y tratamiento de la anemia en la mujer embarazada. Ginecol Obstet Mex 2012; 80: 563-80
- Mor O, Ofir I, Pavel R, Bassal R, Kra-Oz Z, Cohen D, Shohat T, Mendelson E. Parvovirus B19V infection in Israel: prevalence and occurrence of acute infection between 2008 and 2013. Epidemiol. Infect. 2016. 144, pp 207-214
- Mordvinov GV, Mordvinova IV. [Prevalence of rheumatoid factor in the healthy population of Moldova Republic]. Klin Lab Diagn. 2000 Dec;(12):33-5
- Morelli P, Bestetti G, Longhi E, Parravicini C, Corbellino M, Meroni L. Persistent parvovirus B19-induced anemia in an HIV-infected patient under HAART. Case report and review of literature. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2007; 26:833–837
- Mossong, J., Hens, N., Friederichs, V., Davidkin, I., Broman, M., Litwinska, B., Gabutti, G. Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. Epidemiol. Infect. 2008. 136(8), 1059–1068
- MSAL Ministerio de Salud de la Nación. Campaña nacional de vacunación contra rubéola, sarampión y poliomielitis. Lineamientos técnicos. 2014 http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000532cnt-2014-08_lineamientos-sarampion.pdf Con acceso 25 de agosto de 2016
- Musiani M , Manaresi E, Gallinella G, Cricca M, Zerbini M. Recurrent Erythema in Patients with Long-Term Parvovirus B19 Infection Clin Infect Dis. (2005) 40 (12): e117-e119
- Nadimpalli SS, Miller RS, Kamath VM, Farkouh CR, Nhan-Chang CL, Rathe JA, Collins A, Duchon JM, Neu N, Simpson LL, Ratner AJ. Congenital Parvovirus B19 Infection: Persistent Viremia and Red Blood Cell Aplasia. Open Forum Infect Dis. 2015;2(2):ofv049

- Nagase H, Agematsu K, Kitano K, Takamoto M, Okubo Y, Komiyama A, Sugane K. Mechanism of hypergammaglobulinemia by HIV infection: circulating memory B-cell reduction with plasmacytosis. *Clin Immunol.* 2001 Aug;100(2):250-9
- Nicolay N, Cotter S. Clinical and epidemiological aspects of parvovirus B19 infections in Ireland, January 1996-June 2008. *Euro Surveill.* 2009 Jun 25;14(25)
- Nicolini U, Kochenour N, Greco P, Letsky E, Rodeck C. When to perform the next intra-uterine transfusion in patients with Rh allo-immunization: combined intravascular and intraperitoneal transfusion allows longer intervals. *Fetal Ther.* 1989;4(1):14-20
- Nocton JJ, Miller LC, Tucker LB, Schaller JG. Human parvovirus B19-associated arthritis in children. *J Pediatr* 1993;122:186-90
- Oiwa H, Shimada T, Hashimoto M, Kawaguchi A, Ueda T, Sugiyama E, Kamiya T. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod Rheumatol.* 2011 Feb;21(1):24-31
- Oliveira SA, Camacho LA, Pereira AC, Faillace TF, Setubal S, Nascimento JP. Clinical and epidemiological aspects of human parvovirus B19 infection in an urban area in Brazil (Niterói city area, State of Rio de Janeiro, Brazil). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002 Oct;97(7):965-70
- Oliveira MJ, Cordeiro MT, Costa FM, Murakami G, Silva AM, Travassos RC, Magalhães V. Frequency of measles, rubella, dengue and erythema infectiosum among suspected cases of measles and rubella in the State of Pernambuco between 2001 and 2004 *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008 Jul-Aug;41(4):338-44
- Olubukola A, Odunayo A, Adesina O. Anemia in pregnancy at two levels of health care in Ibadan, south west Nigeria. *Ann Afr Med* 2011; 10:272-7
- Page C, François C, Goëb V, Duverlie G. Human Parvovirus B19 and autoimmune diseases. Review of the literature and pathophysiological hypotheses. *J Clin Virol* 2015; 72: 69- 74
- Pamidi S, Friedman K, Kampalath B, Eshoa C, Hariharan S. Human parvovirus B19 infection presenting as persistent anemia in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2000, 69: 266-269
- Panamerican Organization of Health (PAHO-WHO). Region of the Americas is declared free of measles. De paho.org. Disponible

enhttp://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12528%3Aregion-americas-declared-free-measles&Itemid=1926&lang=es Con acceso 15/10/2016

Pan American Health Organization–World Health Organization (PAHO-WHO). Measles and rubella surveillance in the Americas. *Measles/Rubella Weekly Bulletin*. vol. 16, no. 40, 2010

Pasquini L, Seravalli V, Sisti G, Battaglini C, Nepi F, Pelagalli R, Di Tommaso M. Prevalence of a positive TORCH and parvovirus B19 screening in pregnancies complicated by polyhydramnios. *Prenat Diagn*. 2016 Mar;36(3):290-3

Pattison JR, Jones SE, Hodgson J, Davis LR, White JM, Stroud CE, Murtaza L. Parvovirus infections and hypo-plastic crisis in sickle-cell anaemia. *Lancet* 1981;1:664-5

Pedranti MS, Adamo MP, Macedo R, Zapata MT. Prevalencia de anticuerpos antirubeola y anti parvovirus B19 en embarazadas de la ciudad de Córdoba y en mujeres en edad fértil de la ciudad de Villa Mercedes, San Luis. *Rev Argent Microbiol* 2007; 39(1):47-50

Pedranti MS, Barbero P, Wolff C, Ghietto LM, Zapata M, Adamo MP. Infection and immunity for human parvovirus B19 in patients with febrile exanthema. *Epidemiol Infect*. 2012 Mar;140(3):454-61

Pereira, R, Garcia, R, de Azevedo, K, Setúbal, S, de Siqueira, M, de Oliveira, S. Clinical features and laboratory findings of human parvovirus B19 in human immunodeficiency virus-infected patients. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 2014. 109(2), 168–173

Pitcher C, Quittner C, Peterson D, Connors M, Koup R, Maino M Picker L. HIV-1-specific CD4 T cells are detectable in most individuals with active HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression. *Nat. Med*. 1999;5:518–525

Potter CG, Potter AC, Hatton CS, Chapel HM, Anderson MJ, Pattison JR, Tyrrell DA, Higgins PG, Willman JS, Parry HF, et al. Variation of erythroid and myeloid precursors in the marrow and peripheral blood of volunteer subjects infected with human parvovirus (B19). *J Clin Invest*. 1987 May;79(5):1486-92

Prince H, Altrich M, Nowicky M. Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assay kits for Chikungunya virus IgM using 2 samples from deceased organ and tissue

donors. Clin. Vaccine Immunol. CVI Accepted Manuscript Posted Online 17 August 2016. Con acceso 02/09/2016.

Public Health England: The Green Book Chapter 21. Measles. Disponible en: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/147968/Green-Book-Chapter-21-v2_0.pdf. Acceso 25 de Agosto de 2016.

Puccetti C, Contoli M, Bonvicini F, Cervi F, Simonazzi G, Gallinella G, Murano P, Farina A, Guerra B, Zerbini M, Rizzo N. Parvovirus B19 in pregnancy: possible consequences of vertical transmission. Prenat Diagn. 2012 Sep;32(9):897-902

Qari M, Qadri S. Parvovirus B19 infection. Associated diseases, common and uncommon. Postgrad Med. 1996 Jul;100(1):239-43

Qin X, Huang L, Chen Z, Mo Z, Lin L, Huang S, Yang X, Gao Y, Tan A, Li S. Reference values of serum rheumatoid factor in coastal residents. Clin Lab. 2013;59(5-6):505-9

Raguin G, Leruez-Ville M, Gregoir V, Deplanche M, Lepout C, Morinet F, Vilde JL Low prevalence of active parvovirus B19 infection in HIV-infected patients Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1997 ;16:760-2

Ramírez J, Coccía P, Ferrero H, Livellara B, Christiansen S, Gallo, G. 2005. Nefritis tubulointerstitial asociada a parvovirus b19. Medicina (B. Aires), 65(4), 333-337

Ramsay M, Reacher M, O'Flynn C, Buttery R, Hadden F, Cohen B, Knowles W, Wreghitt T, Brown D. Causes of morbilliform rash in a highly immunised English population. Arch Dis Child. 2002 Sep;87(3):202-6

Rivera Rodriguez E, Cabanillas F. Severe anemia of rapid onset in an immunocompromised host. Bol Asoc Med P R. 2008;100:42-46

Rodas Aguilar J, Guevara Duncan J. Parvovirus e infección humana. Rev. Fac. med. hum. 2005; 5 (1.) : 52-57

Rohrer C, Gartner B, Sauerbrei A. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. Epidemiol. Infect. 2008;136(11):1564-1575

Sanabani S, Neto WK, Pereira J, Sabino E. Sequence variability of human erythroviruses present in bone marrow of Brazilian patients with various parvovirus B19-related hematological symptoms. J Clin Microbiol. 2006 Feb;44(2):604-6

Sarfraz AA, Samuelsen SO, Bruu AL, Jennum PA, Eskild A. Maternal human parvovirus B19 infection and the risk of fetal death and low birthweight: a case-control study within 35 940 pregnant women. BJOG. 2009;116(11):1492-8

- Sasaki T, Takahashi Y, Yoshinaga K, Sugamura K, Shiraishi H, An association between human parvovirus B-19 infection and auto-antibody production, *J. Rheumatol.* 16 1989 708–709.
- Scheurlen W, Ramasubbu K, Wachowski O, Hemauer A, Modrow S. Chronic autoimmune thrombopenia/neutropenia in a boy with persistent parvovirus B19 infection. *J Clin Virol.* 2001;20(3):173-8.
- Schwarz T, Serke S, von Brunn A, Hottentrager B, Huhn D, Deinhardt F, Roggendorf M. Heat stability of parvovirus B19: kinetics of inactivation. *Zentbl. Bakteriol.*1992. 277:219–223
- Serjeant GR, Topley JM, Mason K, Serjeant BE, Pattison JR, Jones SE, Mohamed R. Outbreak of aplastic crises in sickle cell anaemia associated with parvovirus-like agent. *Lancet.* 1981 Sep 19;2(8247):595-7
- Servant-Delmas, A, Lefrère, J, Morinet, F, Pillet, S. Advances in Human B19 Erythrovirus Biology. *J Virol.* 2010; 84(19):9658-65
- Servey J, Reamy B, Hodge J. Clinical presentations of parvovirus B19 infection. *Am Fam Physician.* 2007 Feb 1. 75(3):373-6
- Shabani Z, Esghaei M, Keyvani H, et al. Relation between parvovirus B19 infection and fetal mortality and spontaneous abortion. *Med J Islam Repub Iran.* 2015;29:197.
- Sharma S. Zidovudine-induced anaemia in HIV/AIDS. *Indian J Med Res* 132, October 2010, pp 359-361
- Silverberg DS, Wexler D, Blum M. The use of subcutaneous erythropoietin and intravenous iron for the treatment of the anemia of severe, resistant congestive heart failure improves cardiac and renal function and functional cardiac class, and markedly reduces hospitalizations. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1737-1744
- Slavov S, Kashima S, Silva-Pinto A, Amarilla A, Aquino V, Covas D. Molecular and clinical evaluation of the acute human parvovirus B19 infection: comparison of two cases in children with sickle cell disease and discussion of the literature. *Braz J Infect Dis.* 2013;17:97–101
- Soderlund, M., von Essen R, Haapasaari J, Kiistala U, Kiviluoto O, Hedman K. Persistence of parvovirus B19 DNA in synovial membranes of young patients with and without chronic arthropathy. *Lancet.* 1997; 349:1063-1065

Söderlund-Venermo M, Hokynar K, Nieminen J, Rautakorpi H, Hedman K. Persistence of human parvovirus B19 in human tissues. *Pathol Biol (Paris)*. 2002;50(5):307-16

Soloninka C, Anderson M, Laskin C. Anti-DNA and antilymphocyte antibodies during acute infection with human parvovirus B19, *J. Rheumatol.*16 (1989) 777–781

Speyer I, Breedveld FC, Dijkmans BA. Human parvovirus B19 infection is not followed by inflammatory joint disease during long term follow-up. A retrospective study of 54 patients. *Clin Exp Rheumatol* 1998;16:576-8

Staroselsky A, Klieger-Grossmann C, Garcia-Bournissen F, Koren G. Exposure to fifth disease in pregnancy. *Can Fam Physician*. 2009;55(12):1195-1198

Sudfeld CR, Isanaka S, Mugusi FM, Aboud S, Wang M, Chalamilla G, Giovannucci E, Fawzi W. Weight change at 1 mo of antiretroviral therapy and its association with subsequent mortality, morbidity, and CD4 T cell reconstitution in a Tanzanian HIV-infected adult cohort. *Am J Clin Nutr* 2013;97:1278-87

Tan EM, Smolen JS. Historical observations contributing insights on etiopathogenesis of rheumatoid arthritis and role of rheumatoid factor. *J Exp Med*. 2016 Sep 19;213(10):1937-50

Tavil B, Sanal O, Turul T, Yel L, Gurgey A, Gumruk F. Parvovirus B19-induced persistent pure red cell aplasia in a child with T-cell immunodeficiency. *Pediatr Hematol Oncol* 2009;26:63-8

Tewary SK, Zhao H, Deng X, Qiu J, Tang L. The human parvovirus B19 non-structural protein 1 N-terminal domain specifically binds to the origin of replication in the viral DNA. *Virology*. 2014;449:297-303

Tipple GA. Rubella diagnostic issues in Canada. *J Infect Dis*. 2011 Sep 1;204 Suppl 2:S659-663

Tsay GJ, Zouali M. Unscrambling the role of human parvovirus B19 signaling in systemic autoimmunity. *Biochem Pharmacol*. 2006 Nov 30;72(11):1453-9

Tschope C, Bock CT, Kasner M, Noutsias M, Westermann D, Schwimmbeck PL. High prevalence of cardiac parvovirus B19 infection in patients with isolated left ventricular diastolic dysfunction. *Circulation*. 2005 Feb 22. 111(7):879-86

Us T, Ozune L, Kasifoglu N, Akgun Y. The investigation of parvovirus B19 infection in patients with haematological disorders by using PCR and ELISA techniques. *Braz J Infect Dis*. 2007 Jun;11(3):327-30

- van Buul EJ, Steegers EA, Jongsma HW, Eskes TK, Thomas CM, Hein PR. Haematological and biochemical profile of uncomplicated pregnancy in nulliparous women; a longitudinal study. *Neth J Med*. 1995 Feb;46(2):73-85
- Van Elsacker-Neile AM, Kroon FP, van der Ende ME, Salimans MM, Spaan WJ, Kroes AC. Prevalence of parvovirus B19 infection in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*. 1996;23:1255–60
- Vega Alonso T, Gil Costa M, Rodriguez Recio M, de la Serna Higuera P. Incidencia y características clínicas de los exantemas maculopapulares de etiología viral. *Aten Primaria*. 2003; vol 32(9). 517-23
- Vera GL, Quintal DR, González MP, Vázquez CG. Prevalencia de anemia ferropénica en mujeres embarazadas rurales en Valladolid, Yucatán, México. *Ginecol Obstet Mex* 2009; 77: 544-9
- Voleva S, Ivanova S, Marinov B, Genova-Kalou P, Manolov V, Vasilev V. New Approach in diagnostic algorithm of an infectious agents (parvovirus B19 and Chlamydia trachomatis) involved in development of the pathological pregnancy. *Akush Ginekol (Sofiiia)*. 2016;55(3):30-9
- Von Kietzell, K., Pozzuto, T., Heilbronn, R., Grössl, T., Fechner, H., & Weger, S. Antibody-Mediated Enhancement of Parvovirus B19 Uptake into Endothelial Cells Mediated by a Receptor for Complement Factor C1q. *Journal of Virology*, 2014;88(14), 8102–8115
- Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007 ;135(8):1354-62
- Wang JH, Zhang WP, Liu HX, Wang D, Li YF, Wang WQ, Wang L, He FR, Wang Z, Yan QG, Chen LW, Huang GS. Detection of human parvovirus B19 in papillary thyroid carcinoma. *Br J Cancer*. 2008;98(3):611-8
- Watanabe D, Taniguchi T, Otani N, Tominari S, Nishida Y, Uehira T, Shirasaka T. Immune reconstitution to parvovirus B19 and resolution of anaemia in a patient treated with highly active antiretroviral therapy. *J Infect Chemother*. 2011;17:283-7
- Waza K, Inoue K, Matsumura S. Symptoms associated with parvovirus B19 infection in adults: a pilot study. *Intern Med*. 2007;46(24):1975-8

- Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. *Blood Rev* 2002;16:87-96
- Wermelinger MC, Oelemann WM, Lima de Mendonça MC, Naveca FG, von Hubinger MG. Detection of human parvovirus B19 infection: a study of 212 suspected cases in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Virol*. 2002 Aug;25(2):223-30
- White DG, Woolf AD, Mortimer PP, Cohen BJ, Blake DR, Bacon PA. Human parvovirus arthropathy. *Lancet*. 1985;1(8426):419-42
- WHO. World Health Organization. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Geneva, World Health Organization 2011 <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>. Con acceso 21/03/2016
- Willan R. Reports of the diseases in London. Particularly during the years 1796, '97, '98, '99 and 1800. London: HL Galabin, 1801
- Wolfisberg R, Ruprecht N, Kempf C, Ros C. Impaired genome encapsidation restricts the in vitro propagation of human parvovirus B19. *J Virol Methods*. 2013 Oct;193(1):215-25
- Wong S, Zhi N, Filippone C, Keyvanfar K, Kajigaya S, Brown K, Young N. Ex vivo-generated CD36+ erythroid progenitors are highly permissive to human parvovirus B19 replication *J. Virol.*, 82 2008, pp. 2470-2476
- Woolf AD, Campion GV, Chiswick A. Clinical manifestations of human parvovirus B19 in adults. *Arch Intern Med* 1989;149:1153-6
- Yaegashi N, Niinuma T, Chisaka H, Uehara S, Moffatt S, Tada K, Iwabuchi M, Matsunaga Y, Nakayama M, Yutani C, Osamura Y, Hirayama E, Okamura K, Sugamura K, Yajima A. Parvovirus B19 infection induces apoptosis of erythroid cells in vitro and in vivo. *J Infect*. 1999 Jul;39(1):68-76
- Yaegashi N, Niinuma T, Chisaka H, Uehara S, Okamura K, Shinkawa O, Tsunoda A, Moffatt S, Sugamura K, Yajima A. Serologic study of human parvovirus B19 infection in pregnancy in Japan. *J Infect*. 1999 Jan;38(1):30-5
- Yamada H, Tairaku S, Morioka I, Sonoyama A, Tanimura K, Deguchi M, Nagamata S, Ebina Y. Nationwide survey of mother-to-child infections in Japan *J Infect Chemother* 21 2015; 21(3):161-4

Yetgin S, Cetin M, Aslan D, Ozyurek E, Anlar B, Uçkan D. Parvovirus B19 infection presenting as pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia: a transient and progressive course in two children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:689-92

Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med* 2004;350:586-97

Zhi N, Mills IP, Lu J, Wong S, Filippone C, Brown KE. Molecular and Functional Analyses of a Human Parvovirus B19 Infectious Clone Demonstrates Essential Roles for NS1, VP1, and the 11-Kilodalton Protein in Virus Replication and Infectivity. *J Virol.* 2006;80(12):5941-5950

ANEXOS

1_Declaración de consentimiento informado

Sr/Sra. _____

de _____ años de edad, DNI _____

(si corresponde)

representante / tutor del menor _____

de _____ años de edad, DNI _____

manifiesta que ha sido informado/a sobre la importancia / implicaciones / beneficios que puede suponer la determinación de estudios serológicos de una alícuota de la sangre que se le extrae en el día de la fecha para cubrir específicamente los objetivos del Proyecto de Investigación titulado “Estudio de circulación de parvovirus B19 (B19V) y prevalencias de anticuerpos en grupos de individuos sanos e individuos con patologías asociadas a infección por B19V en la ciudad de Córdoba, Argentina”, con el fin de documentar la circulación del parvovirus humano B19 en Córdoba y los marcadores de infección e inmunidad.

A su vez, manifiesta haber sido informado de que el estudio NO implica otra extracción de sangre además de la que se le realiza por indicación de su médico.

Ha sido también informado/a de que sus datos personales son confidenciales y serán protegidos.

Tomando ello en consideración, OTORGO mi CONSENTIMIENTO para que se realicen dichos estudios serológicos en una alícuota de la sangre que se extrae en el día de la fecha para cubrir los objetivos especificados en el proyecto.

Córdoba, _____ de _____ de _____

Firma del paciente/representante o tutor _____

Aclaración _____

Firma del Investigador _____ Aclaración _____

2_Formulario de notificación de enfermedad febril exantemática

FICHA DE INVESTIGACIÓN PARA CASO SOSPECHOSO DE SARAMPiÓN Y RUBÉOLA

Vigilancia integrada de Sarampión / Rubéola
Enfermedades de notificación obligatoria, ley 15465/60

Clasificación inicial: Sospechoso de Sarampión Rubéola

Caso sospechoso de sarampión: Paciente de cualquier edad con fiebre de 38°C o más y exantema, y cualquiera de los 3 criterios: bronquial (tos), nasal (cicones), o conjuntival (conjuntivitis).

Caso sospechoso de rubéola: Paciente de cualquier edad con fiebre y exantema, y adenopatías cervicales, suboccipitales, o retroauriculares, y/o artralgias / artritis.

Datos de identificación

Apellido y nombre: _____ Sexo: M F
 Edad: _____ años _____ meses. Fecha de nacimiento: ____/____/____
 Domicilio: Calle _____ Nº _____ Dpto. _____ Bz. _____
 Localidad: _____ Departamento: _____ Provincia: _____
 Urbano Rural
 Fuente de notificación (centro u hospital): _____
 Fecha: ____/____/____

Datos de vacunación

VACUNA	SI	NO	DESCONOCE	NO CORRESPONDE	FECHA ÚLTIMA DOSIS
Componente anti-sarampión					____/____/____
Componente anti-rubéola					____/____/____

Datos clínicos

Fecha consulta: ____/____/____

SÍNTOMAS	SI	NO	FECHA COMIENZO	EMBARAZADA		
				SI	NO	DESCONOCE
PIEBRE			____/____/____			
EXANTEMA			____/____/____			
TOS			HOSPITALIZADO: SI ____ NO ____			
RINORREA			INSTITUCIÓN: _____			
CONJUNTIVITIS			FECHA DE INGRESO: ____/____/____			
ADENOPATÍA						
ARTRALGIA / ARTRITIS						

Defunción: si __no__ fecha: ____/____/____

Profesional

Apellido y nombre: _____
 Institución: _____
 Teléfono: _____ Correo electrónico: _____

Antecedentes de exposición

Contacto con caso confirmado de sarampión/rubéola en los 7-23 días previos al inicio del exantema: si __no__ desconoce__

¿Dónde? _____

¿Viajó en los 7-23 días previos al inicio del exantema? si __no__

¿Dónde? _____

Contacto con embarazada desde el comienzo de los síntomas: si __no__ Semanas de gestación: __

Acciones de control

MEDIDA	SI	NO	Nº CONTACTOS	FECHA
VISITA DOMICILIARIA				/ /
OTROS				/ /

Vacunación de bloqueo: si __no__ Nº de dosis aplicadas __

Datos de laboratorio

Sangre __Suero__

Fecha toma de muestra	Laboratorio	Fecha recepción en laboratorio	Fecha de resultados	Resultados	
				Rubéola	Sarampión
1ª / /					
2ª / /					

Comentarios _____

Hisopado faríngeo __Aspirado nasofaríngeo __ Orina __Otros__

Fecha toma de muestra	Laboratorio	Fecha recepción en laboratorio	Fecha de resultados	Resultados	
				Rubéola	Sarampión
/ /					

Clasificación final (PARA USO DEL NIVEL CENTRAL DE JURISDICCION)

Fecha / /

Confirmado sarampión __ Confirmado rubéola __

Laboratorio __ Nexa epidemiológico __

Origen de la infección: Importado __ Relacionado con importación __ Autóctono __ Desconocido __

Descartado __ Sarampión/Rubéola negativo __ Post-vascular __ Dengue __ Otro __ Desconocido __

Compatible __

Responsable de Vigilancia

Apellido y nombre: _____

Firma:

3_Publicaciones relacionadas con esta tesis

Pedranti MS, Barbero P, Wolff C, Ghietto LM, Zapata M, Adamo MP. Infection and immunity for human parvovirus B19 in patients with febrile exanthema. *Epidemiol Infect.* 2012 Mar;140(3):454-61. doi: 10.1017/S0950268811000823. Epub 2011 May 18. PubMed PMID: 21676356.

Epidemiol. Infect. (2012), 140, 454–461. © Cambridge University Press 2011
doi:10.1017/S0950268811000823

Infection and immunity for human parvovirus B19 in patients with febrile exanthema

M. S. PEDRANTI¹, P. BARBERO², C. WOLFF³, L. M. GHIETTO¹, M. ZAPATA¹
AND M. P. ADAMO^{1*}

¹ Instituto de Virología 'Dr. J. M. Vanella', Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

² Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba, Argentina

³ Ministerio de Salud de la Nación, República Argentina

(Accepted 16 April 2011; first published online 18 May 2011)

SUMMARY

The contribution of parvovirus B19 (B19V) as a causative agent of febrile exanthema (FE) in Cordoba, Argentina, was analysed by detection of viral DNA, and specific IgM and IgG. Serum from 141 patients with FE who were negative for measles and rubella, collected during 2005–2009, plus serum from 31 healthy individuals, were assayed. B19V was the aetiological agent in 14·9% of all FE cases, and in 39·1% in an epidemic year (2007). B19V DNA was detected in 47·6% of IgM-positive FE patients, 30·2% of IgM-negative/IgG-positive FE patients, and 9·7% of healthy controls, indicating B19V long-term infection in ~10% of immunocompetent individuals. Persistent B19V DNA was significantly more frequent in children than adults and in males than females. All patients with acute B19V infection had rash and fever, 85·7% had adenopathy, and only 14·3% had arthropathy. This is the first follow-up study of markers of infection and immunity for B19V infection in Argentina.

Key words: B19V, erythema infectiosum, prevalence, viral persistence.