

## SINDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

VALERIA P. MARTINEZ<sup>1</sup>, SILVIA COLAVECCHIA<sup>1</sup>, MARIA GARCIA ALAY<sup>1</sup>, BELEN SUZUKI<sup>1</sup>, AMALIA TRINCHERI<sup>2</sup>, SILVINA BUSTO<sup>3</sup>, ROBERTO RABINOVICH<sup>1</sup>, PAULA PADULA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Hantavirus, Servicio de Biología Molecular, Departamento de Virus, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires; <sup>2</sup> Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires - Región Sanitaria IX, La Plata; <sup>3</sup> Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires - Región Sanitaria V, San Isidro.

**Resumen** En Argentina los primeros casos de Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH) se caracterizaron en 1995 y a partir de entonces es el país de Sudamérica con mayor número de casos notificados. Esta enfermedad se distribuye en varias provincias del país en las zonas Norte, Sur y Centro siendo, en esta última, Buenos Aires la provincia más afectada. En este estudio presentamos la distribución geográfica y estacional de casos de SPH, su asociación a los diversos linajes virales presentes y características serológicas de la infección por hantavirus en la provincia de Buenos Aires entre los años 1997 y el primer semestre del 2000. Se observó un aumento del número de casos de SPH hasta 1999 y un gradual descenso de la mortalidad en todo el período. Los casos ocurrieron entre primavera y otoño, con el máximo en verano. Se estudió la respuesta serológica en 58 casos confirmados de SPH a distintos tiempos después del inicio de la enfermedad. Los casos se distribuyeron entre 27 partidos principalmente en dos direcciones desde la Ciudad de Buenos Aires: sur-suroeste y nor-noreste. El principal foco se localizó en La Plata y los partidos colindantes donde ocurrieron más del 52% de los casos. Los genomas virales provenientes de 39 casos fueron caracterizados como virus Andes (AND): AND Cent Plata 16%, AND Cent Lec 21% y AND Cent Bs.As. 60%. La Plata fue el único partido donde cocircularon linajes. Estos resultados contribuirán a establecer un mapa de riesgo que permita optimizar las estrategias de prevención.

**Palabras clave:** síndrome pulmonar por hantavirus, virus Andes, Buenos Aires

**Abstract** *Hantavirus pulmonary syndrome in Buenos Aires Province.* In Argentina the first Hantavirus Pulmonary Syndrome (HPS) cases were characterized in 1995. Since then, Argentina is the country with the highest number of notified cases in South America. The disease is distributed in Northern, Southern and Central regions of the country, being Buenos Aires the most affected province from the Central region. In this study, we present seasonal and geographical distribution of HPS cases in Buenos Aires province, the association with diverse viral lineages and the serological characteristics of hantavirus infection in the period from 1997 up to the first semester of the year 2000. An increase in the number of HPS cases was observed up to 1999 and a gradual mortality decrease in the whole period. The cases occurred between spring and autumn, with a maximum peak in summer. The serological response was studied in 58 HPS confirmed cases at different times after the onset of symptoms. The cases were distributed between 27 localities, in two different directions from the city of Buenos Aires: South-southwest and North-northeast. More than 52% of the cases occurred in La Plata and neighboring localities. The viral genomes from 39 cases were all characterised as Andes virus (AND): AND Cent Plata 16%; AND Cent 21% and AND Cent Bs.As. 60%. Andes virus lineages only cocirculated in La Plata city. These results will contribute to establish a risk map leading to the implementation of improved strategies of prevention.

**Key words:** hantavirus pulmonary syndrome, Andes virus, Buenos Aires

Los hantavirus son virus envueltos, con genoma a ARN de polaridad negativa y trisegmentado. Constituyen el único género de la familia *Bunyaviridae* que se

asocia a roedores como reservorios específicos en la naturaleza. Esta asociación logra establecerse porque el virus provoca una infección generalizada, crónica y aparentemente no deletérea para el animal. La transmisión al hombre probablemente ocurre por la inhalación de aerosoles contaminados con excretas infecciosas de estos roedores o más raramente por mordedura de un animal infectado. El género *Hantavirus* se subdivide en tres grupos principales de virus diferentes genéticamente, cada uno con reservorio en roedores de distintas subfamilias: *Murinae*, *Arvicolinae* y *Sigmodontinae*.

Recibido: 29-XII-2000

Aceptado: 26-I-2001

**Dirección postal:** Dra. Valeria Paula Martínez, Laboratorio de Hantavirus, INEI-ANLIS Dr. C.G. Malbrán, Av. Vélez Sarsfield 563, 1281 Buenos Aires, Argentina  
Fax: (54-11) 4301-3146 e-mail: pmartinez@anlis.gov.ar

En Asia y Europa los virus asociados a las subfamilias *Murinae* y *Arvicolinae* producen un amplio espectro de enfermedades caracterizadas por manifestaciones hemorrágicas y falla renal, colectivamente referidas como Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (HFRS)<sup>1,2</sup>. En Asia y la región Balcánica la forma más severa, 5 al 15% de mortalidad, es provocada por virus asociados a la subfamilia *Murinae*, mientras que en varios países del norte de Europa la forma más moderada (Nefropatía epidémica), de mortalidad menor al 1%<sup>3,4</sup>, se asocia a virus de la subfamilia *Arvicolinae* de roedores.

Los hantavirus asociados a roedores sigmodontinos, causantes del síndrome pulmonar en América, fueron identificados en 1993 debido a un brote con alta mortalidad ocurrido en el sudoeste de los Estados Unidos<sup>5,6</sup>. Posteriormente se identificaron casos de Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH) en 6 países de Sud América<sup>7-12</sup>.

En Argentina los primeros casos se caracterizaron en 1995<sup>6</sup> y a partir de entonces es el país con la mayor incidencia de SPH de Sudamérica. Existen tres zonas afectadas del país aisladas geográficamente entre ellas: en el noroeste las provincias de Salta y Jujuy, en el centro Buenos Aires, Santa Fe y Entre Ríos y en el sudoeste Neuquén, Río Negro y Chubut. Se ha observado un incremento en el registro de casos de SPH en Buenos Aires en los últimos años llegando a ser una de las provincias con mayor incidencia del país. El porcentaje anual de mortalidad por SPH en el país desde la identificación de los primeros casos fue disminuyendo gradualmente desde un 50% hasta 23%.

A partir de un brote de SPH ocurrido en el sur de Argentina en 1996<sup>13-15</sup> se produjo un replanteamiento de los mecanismos de adquisición de la enfermedad, ya que se comprobó la transmisión persona a persona. Este episodio originó un cambio en el manejo de los casos de SPH y especialmente en la vigilancia de los contactos de esos pacientes. Posteriormente en Chile ocurrieron eventos probablemente similares de transmisión de la enfermedad<sup>10</sup>.

Estudios previos demostraron que en Argentina, así como en Chile y Uruguay, el virus circulante es el virus Andes (AND). Existen 5 linajes del virus AND que son característicos de cada región: AND Sout, AND Nort, AND Cent Bs. As., AND Cent Lec y AND Cent Plata<sup>12</sup>. En Paraguay circula predominantemente el virus Laguna Negra (LN)<sup>8</sup> pero se han detectado casos con secuencias similares a las del virus AND<sup>12</sup>.

El propósito del presente trabajo fue analizar la distribución geográfica de la ocurrencia de casos de SPH en la provincia de Buenos Aires en correlación con los linajes virales asociados. El estudio de un número creciente de casos de SPH en la provincia amplió los conocimientos sobre el mecanismo de transmisión de los hantavirus, las manifestaciones clínicas de la enfermedad, los fac-

tores individuales de riesgo y la diversidad genética del virus circulante.

## Materiales y métodos

### *Población en estudio*

En este estudio se incluyeron muestras de suero y coágulo de 477 casos sospechosos de SPH provenientes de distintos puntos de la provincia de Buenos Aires, recibidas durante el período comprendido entre enero de 1997 y junio del 2000. Se utilizó la siguiente definición de caso sospechoso: aparición de una enfermedad febril (fiebre mayor a 38°C) que requiere administrar oxígeno suplementario, y edema intersticial difuso bilateral que se parece al síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto (SIRA), y que se presenta en el término de las 72 horas de la hospitalización, en una persona que había estado sana; o enfermedad inexplicable que culmina en la muerte y un estudio de necropsia que señala la presencia de edema pulmonar no cardiogénico sin una causa específica e identificable de muerte<sup>16</sup>. Sin embargo también se recibieron muestras de casos que no se ajustaron estrictamente a tal definición.

Se consideraron casos confirmados a los casos sospechosos de los que se obtuvo confirmación por al menos uno de los siguientes estudios de laboratorio: presencia de anticuerpos IgM específicos contra hantavirus, o un incremento de cuatro veces o mayor en los títulos de anticuerpos IgG (confirmación serológica); positividad en los resultados de la transcripción inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) respecto al ARN de hantavirus; resultados inmunohistoquímicos positivos de la presencia de antígenos de hantavirus<sup>16</sup>.

Se estudiaron contactos de 28 casos confirmados de SPH, en total 462 muestras. Se consideró contacto a toda persona que estuvo en contacto con el paciente desde los 27 días que precedieron a la aparición de los síntomas y/o durante el tiempo que el paciente estuvo enfermo. Se tomaron 2 muestras de cada contacto, una durante la primer semana después de confirmado el caso índice y otra luego de los 60 días. La primera se tomó como control para ser usada como muestra de base en el diagnóstico. Ambas muestras fueron procesadas por ELISA para comprobar o descartar la presencia de anticuerpos específicos contra hantavirus, y discriminar su origen previo o posterior al evento de riesgo.

### *Serología*

Para la confirmación de casos de hantavirus se determinaron anticuerpos IgM, IgG e IgA específicos contra virus AND en suero por la técnica de ELISA usando como antígeno la nucleoproteína recombinante del virus AND. Para la detección de anticuerpos contra hantavirus se utilizó la técnica de ELISA captura de cadena  $\mu$  de IgM y la directa para IgG e IgA según se describió anteriormente<sup>17</sup>.

Los sueros de los contactos se procesaron para estudiar la presencia de anticuerpos IgM e IgG por las técnicas de ELISA mencionadas.

### *Amplificación y caracterización del genoma viral*

El ARN total se extrajo a partir de muestras de sangre total o coágulo sanguíneo y se purificó con *RNA matrix (RNAid kit, Bio 101, La Jolla, CA)*. Mediante la técnica de RT-PCR anidada se amplificaron fragmentos parciales correspondientes a los segmentos M del genoma viral, codificantes para las glicoproteínas G1 y G2<sup>7,9,15</sup>. Los productos de la amplificación fueron separados por electroforesis en gel de agarosa purifi-

cados, y secuenciados manualmente por la técnica de terminación de cadena empleando dideoxinucleótidos (*fmol DNA Sequencing System, Promega*) o por secuenciación automática (secuenciador automático ABI 377) por la técnica de secuenciación por fluorescencia (*dRhodamine Terminator Cycle Sequencing kit, Applied Biosystem*).

El análisis y comparación de las secuencias nucleotídicas se realizó mediante el programa CLUSTAL V del PCGENE 6.8, software de *Intelligenetics Inc. (Mountain View CA)*. El programa DNAPars de *PHYLIP package version 3.5c (7)* se usó para obtener árboles de máxima parsimonia nucleotídica. El programa DNADist se utilizó para obtener distancias genéticas con una relación transversión a transición de 2:1. El programa FITCH se usó para ajustar las distancias al árbol de máxima parsimonia.

En el análisis se incluyeron las siguientes secuencias de GenBank del segmento M: New York (NY) Virus Rhode Island-1, U36801; Sin Nombre (SN) Virus, L25783; Laguna Negra (LN) Virus, Af005728; Bayou (BAY) Virus, L36930; Black Creek Canal (BCC) Virus, L39950; Puumala (PUU) Virus Sotkamo strain, X61034; Prospect Hill (PH) Virus, X55129; Seoul (SEO) Virus, M34882; Hantaan (HTN) Virus, M14627; Andes (AND), AF324901.

**Resultados**

Datos Epidemiológicos. Desde enero de 1997 a junio del 2000 se confirmaron serológicamente en nuestro laboratorio, por determinación de anticuerpos IgM e IgG, 58 casos de SPH sobre 477 casos sospechosos provenientes de la Provincia de Buenos Aires y distribuidos en varios partidos. Los porcentajes de ocurrencia anual de casos respecto a todo el país fueron 14%, 26.2%, 48% y 27% para 1997, 1998, 1999 y primer semestre del 2000 respectivamente (Fig. 1). El aumento del número de casos registrados a lo largo de este período logró definir un patrón claro de estacionalidad recién a partir de 1998 como se muestra en la Fig. 2. Se observó una marcada tendencia de ocurrencia en primavera, verano y otoño,

con un claro receso invernal. Los máximos registros anuales ocurrieron a comienzos del verano.

La acumulación de casos de SPH por partido y la distribución geográfica se observan en las Figs. 3 y 4 respectivamente. La mayoría de los casos se distribuyó geográficamente entre dos áreas que se extienden en direcciones opuestas desde la Ciudad de Buenos Aires: sur-sudoeste y nor-noreste. En dirección oeste ocurrieron dos casos, en La Matanza y 9 de Julio. Los casos se distribuyeron entre 27 partidos, de los cuales sólo 10 acumularon más de un caso durante el período de estudio. Pocos partidos mostraron porcentajes significativos, a excepción de La Plata, con más del 31% del total de casos de la provincia (18/58). Si se tienen en cuenta,

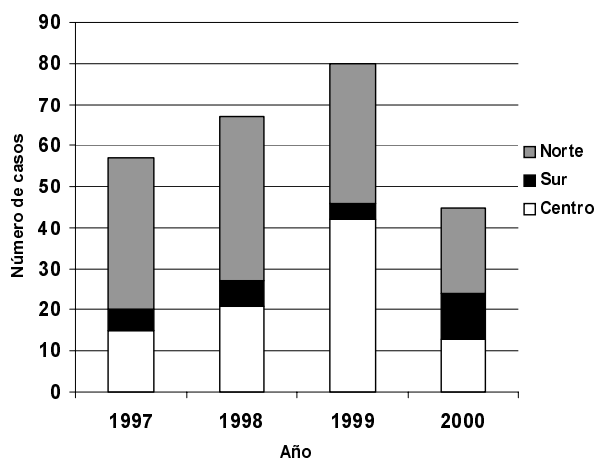


Fig. 1.— Distribución total de los casos de Síndrome pulmonar por hantavirus en las tres regiones afectadas de Argentina desde el año 1997 al segundo semestre del 2000. Datos del Boletín Epidemiológico Nacional.

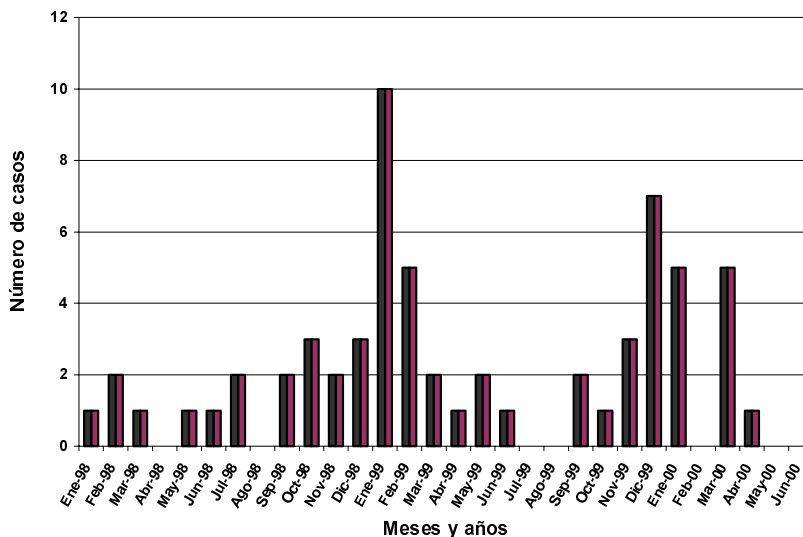


Fig. 2.— Distribución mensual de casos de Síndrome pulmonar por hantavirus en la provincia de Buenos Aires desde enero de 1998 a junio del 2000.

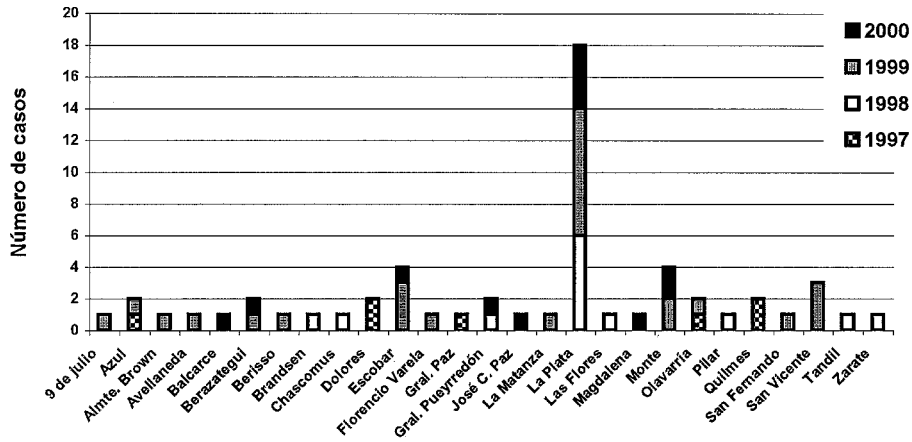


Fig. 3.- Distribución de casos de Síndrome pulmonar por hantavirus de la Provincia de Buenos Aires por partido y por año.

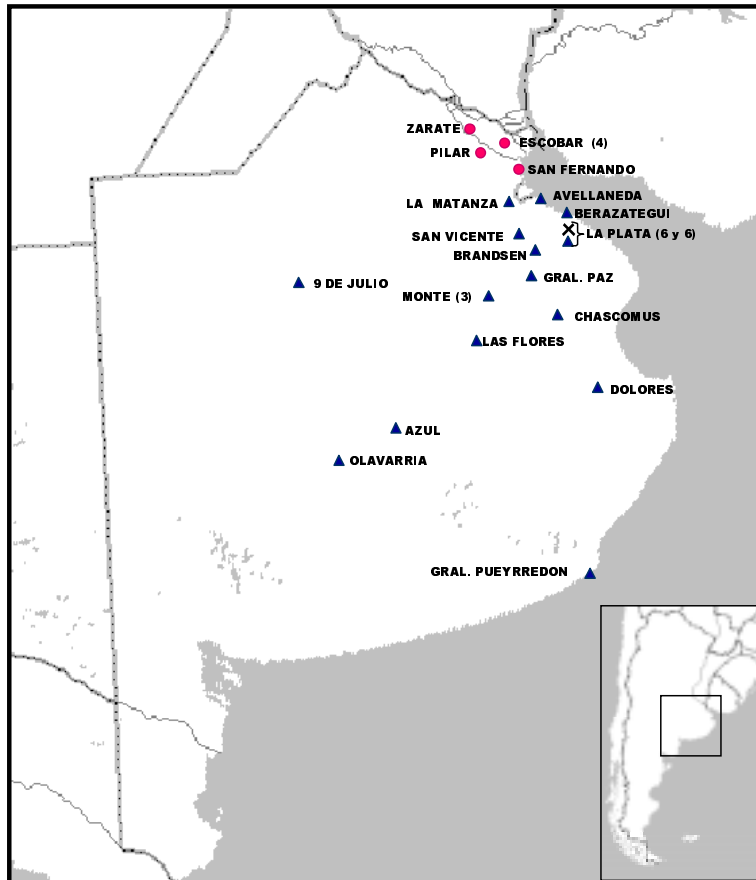


Fig. 4.- Distribución geográfica de los linajes AND Cent Bs.As. (s), AND Cent Lec (1) y AND Cent Plata (5) asociados a casos de Síndrome pulmonar por hantavirus en la provincia de Buenos Aires. Se indica con números entre paréntesis cuando se caracterizó más de un caso por partido.

además, los partidos colindantes a La Plata, este porcentaje supera el 52% del total (30/58). En el sector noreste, donde hubo 8 casos en total, la zona ribereña,

Tigre, Escobar y Zárate, acumuló más del 10% (6/58), un porcentaje menor pero significativo. De los partidos cercanos al límite provincial con la Provincia de La Pam-

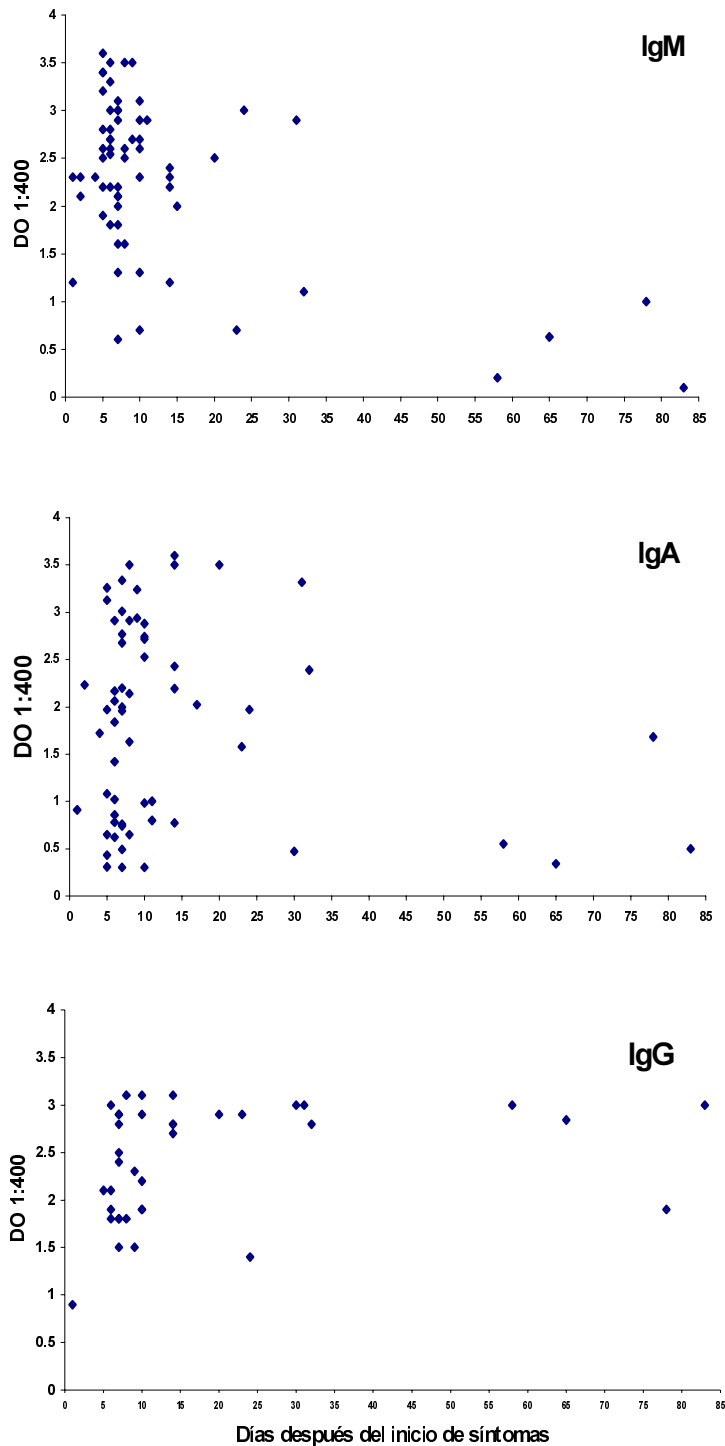


Fig. 5.- Respuesta de anticuerpos IgM, IgG e IgA específicos contra virus AND en muestras de suero de pacientes con Síndrome pulmonar por hantavirus. La densidad óptica (DO) graficada corresponde a la dilución de suero 1:400. Cada punto representa la muestra de un individuo.

pa, sólo se recibieron dos casos sospechosos para el estudio, ambos de Bahía Blanca, resultando negativos.

Los casos ocurrieron en zonas rurales o semirurales debido a la exposición previa a roedores en su hogar o en el trabajo. No se registraron casos en zonas urbanas. Entre 40 pacientes de los cuales se obtuvo información de sus actividades previas al inicio de la enfermedad, el 33.3% se expuso en actividad rural combinada en muchos casos con tareas de limpieza de galpones de almacenamiento de herramientas y/o granos; el 13.8% sólo reportó haber realizado tareas de limpieza y/o permaneció en viviendas inhabitadas o depósitos de materiales; 11% se desempeñaba en tareas de transporte de granos; 8.3% realizó desmalezamiento de terrenos; 22% correspondió a niños y adolescentes entre los que no pudo definirse la naturaleza del evento de exposición.

Entre los casos positivos el rango de edades fue de 5 a 68 años; tres eran niños de 5, 9 y 10 años (5.1%); trece de entre 15 y 20 años (22.4%); veintiuno entre 21 y 30 (36.2%), diecinueve entre 31 y 68 años (32.7%) y de 2 se desconoce.

#### Análisis de la respuesta serológica

El 12% (58/477) de las muestras de casos sospechosos de SPH recibidas para determinar infección por hantavirus resultaron positivas para IgM. El rango de días de la toma de muestras para diagnóstico de los casos que resultaron positivos fue de 1 a 24 posterior al inicio de síntomas. De las muestras positivas para IgM el 90.5% fue positiva para IgA y el 77% para IgG. El 23% de los casos sin respuesta de IgG correspondió a óbitos, por lo que no se obtuvo segunda muestra para conversión serológica. En estos casos la confirmación fue realizada por RT-PCR. Se realizó el seguimiento de 13 casos con por lo menos 1 muestra adicional tomada durante la fase convaleciente.

La evolución de las curvas de los anticuerpos IgM, IgG e IgA en pacientes con SPH en la provincia de Buenos Aires se presenta en las Figs. 5 y 6. La IgM aparece dentro de los días 1 y 2 después del inicio de los síntomas y permanece a niveles detectables alrededor de 2 meses. La IgG comienza a detectarse con 2 o 3 días de demora con respecto a la IgM, excediendo en la mayoría de los casos un título final de 25 600 alrededor del día 17 y manteniéndose durante todo el período de estudio. La respuesta de IgA varió según el paciente, observándose casos con títulos muy altos, otros muy bajos y algunos sin respuesta independientemente de los días posteriores al inicio de síntomas. En la Fig. 6 se muestra la respuesta de anticuerpos de un único paciente en un estudio de seguimiento realizado durante un período de 13 meses. Este estudio particular concuerda con lo expuesto en las observaciones generales,

observándose respuestas tempranas y fuertes de anticuerpos IgA, IgM e IgG. La curva de anticuerpos IgG muestra un nivel máximo estable de densidad óptica durante los 13 meses de seguimiento del paciente.

#### Cuadro clínico y severidad

La sintomatología referida comenzó como un síndrome gripal indistinguible de otras enfermedades virales, con fiebre, cefaleas, mialgias y astenia. La dificultad respiratoria se presentó en el 100% de los casos comenzando de 4 a 5 días luego de los primeros síntomas, y se manifestó con diversos grados de intensidad, desde una disnea leve, hasta un distress respiratorio agudo (65%) con o sin requerimiento de asistencia respiratoria mecánica. En los casos graves el shock pulmonar evolucionó rápidamente, en el curso de 4 a 24 horas desde el comienzo de la dificultad respiratoria. El compromiso hepático se presentó en el 84% de los casos (36/47) manifestado por una elevación significativa de las transaminasas hepáticas, y el 80.5% (33/41) sufrió alteraciones en la función renal, reflejadas por los niveles de uremia y/o creatinemia, la mayoría de los cuales no necesitaron diálisis. Un síntoma de aparición tardía fue el de hemorragias leves, como epistaxis (7%), petequias (10%) o un poco más relevantes como melena (7%). Se observó compromiso neurológico en dos casos manifestándose como un episodio convulsivo en uno de ellos y en el otro por un estado de coma con óbito posterior.

El dato más relevante del laboratorio clínico fue el recuento de plaquetas. El 100% de los casos manifestó plaquetopenia; el rango fue de 20 000 a 120 000/mm<sup>3</sup>

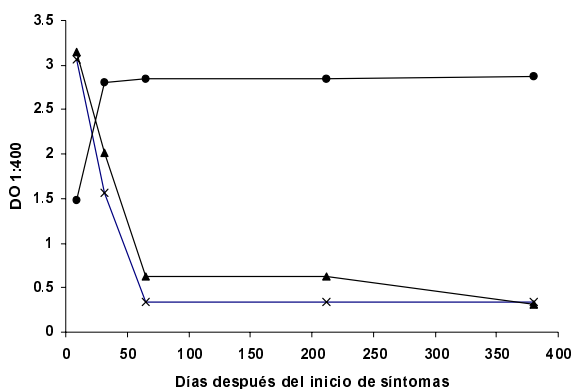


Fig. 6.- Seguimiento serológico de un caso de Síndrome pulmonar por hantavirus. Se tomaron cinco muestras del mismo paciente, la primera durante la fase aguda y las restantes durante la fase convaleciente por el término de 13 meses y se estudió la respuesta de anticuerpos IgM (s), IgA(5) e IgG (1). DO: densidad óptica.

(valor normal 150 000 a 300 000/mm<sup>3</sup>). Se observó leucocitosis en el 100% de los casos.

El cuadro clínico de los tres niños menores de 10 años también comenzó como un síndrome gripal indiferenciado, con muy rápida evolución a la insuficiencia respiratoria, desencadenando la muerte.

La mortalidad fue de 43%, 36%, 27% y 23% para 1997, 1998, 1999 y primer semestre del 2000 respectivamente.

No se encontró correlación entre los cuadros clínicos manifestados y los linaje del virus AND detectados.

*Estudio de contactos*

Se realizó un estricto seguimiento clínico de las personas que se ajustaron a la definición de contacto de casos con SPH. Los contactos estudiados permanecieron asintomáticos, excepto por dos familiares cercanos de casos, quienes desarrollaron un síndrome gripal dentro de la semana posterior al comienzo de síntomas del caso índice, pero sin llegar a definirse un cuadro de compromiso respiratorio. Los dos anteriores, así como el resto de los contactos dieron resultados negativos para los

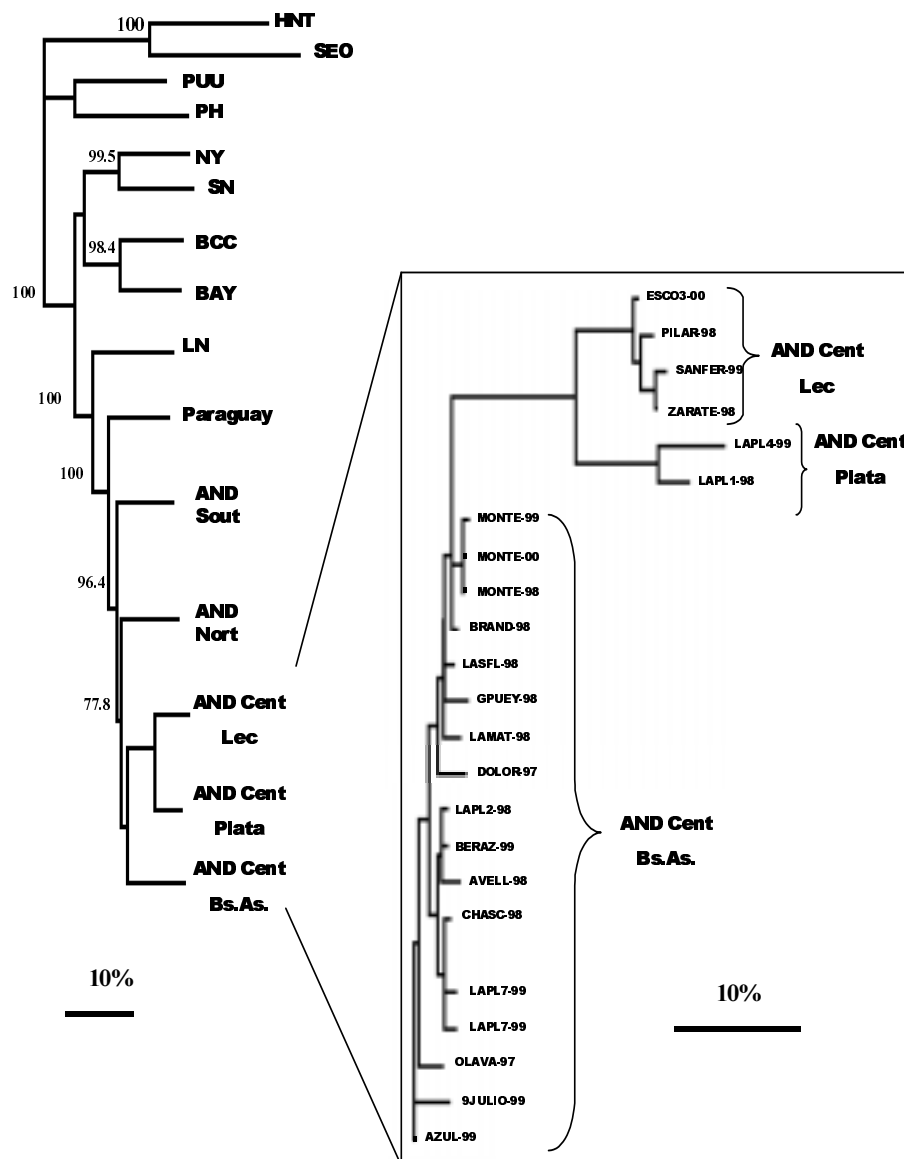


Fig. 7.- Relación filogenética del virus Andes y otros hantavirus. Análisis basado en las diferencias nucleotídicas de fragmentos del segmento M del genoma viral. En el árbol ampliado cada nombre corresponde al lugar y fecha de ocurrencia del caso. Las líneas horizontales son proporcionales a las distancias genéticas.

estudios serológicos. Sin embargo, el esquema de toma de muestras para el seguimiento serológico de los contactos (2 muestras con un intervalo de 60 días entre ellas) no se completó en el 100% de los casos, sino que en general solamente se recibió la primera de las dos muestras requeridas para descartar la infección por hantavirus.

#### *Caracterización genómica y análisis filogenético*

Del total de muestras serológicamente reactivas se procesó el 83% (49/58) para la caracterización genómica viral; de ellas 46 fueron positivas por RT-PCR. Con el propósito de determinar relaciones filogenéticas entre los linajes virales en de la Provincia de Buenos Aires se analizaron por secuenciación nucleotídica genomas virales correspondientes al segmento M (nucleótidos 2721 a 2946 de G2) de muestras de 39 pacientes correspondientes a 21 de 27 partidos de la provincia. Para el análisis comparativo con hantavirus de otras regiones se utilizaron fragmentos genómicos más amplios (nucleótidos 26 a 280 de G1 y 1753 a 2946 G2).

El árbol filogenético de máxima parsimonia (Fig. 7) muestra a los virus relacionados al HFRS (HNT, SEO, PUU y PH) claramente diferenciados de los causantes del SPH. A su vez dentro de este último agrupamiento los virus de Norte América (SN, NY, BCC y BAY) se separaron de los de Sud América donde el virus LN de Paraguay fue el más distanciado de los cinco linajes de AND que corresponden a virus de Argentina, Chile y Uruguay. Los cinco linajes de AND son los más emparentados entre sí, siendo el linaje AND Sout el más divergente. En la Provincia de Buenos Aires se caracterizaron tres linajes entre los cuales AND Cent Lec y AND Cent Plata están más emparentados entre sí que con AND Cent Bs. As. Se observó que en partidos de la región nor-noreste todos los virus caracterizados correspondieron al linaje AND Cent Lec (Fig. 4). El linaje AND Cent Plata solo se encontró en el partido de La Plata, donde cocirculó con AND Cent Bs. As. Todos los casos del sector sur-sudoeste y los dos casos en dirección oeste, correspondieron al linaje AND Cent Bs.As.. Los linajes, AND Cent Lec y AND Cent Bs.As. fueron previamente reportados como genotipos Lechiguana (LEC) y Hu39694 (18). Los porcentajes de diferencias nucleotídicas y aminoácidas fueron respectivamente 19.2% y 5.9% Bs.As. vs. Lec; 20% y 5.9% Bs.As. vs. Plata; 13.4% y 3.1% Lec. vs. Plata.

Las proporciones de cada uno de los tres linajes correspondientes al total de casos caracterizados en la provincia de Buenos Aires fueron las siguientes: el 63% (24/39) correspondió al linaje AND Cent Bs.As., el 20.5% (8/39) a AND Cent Lec, el 15% (6/39) a AND Cent Plata y 1 caso al linaje AND Sout, correspondiente a un pa-

ciente con domicilio en la provincia pero que había permanecido en San Martín de Los Andes, Neuquén, hasta 20 días antes de iniciados los síntomas.

#### **Discusión**

En la provincia de Buenos Aires, desde inicios de 1997 hasta el primer semestre del 2000 se confirmaron 58 de 477 casos sospechosos de SPH observándose un aumento en el registro anual. El total de casos en el país fue de 249 en el mismo período, en el cual el número anual de casos aumentó mientras que el porcentaje de mortalidad disminuyó año a año. Inicialmente el cuadro clínico asociado a la infección por hantavirus era grave y de rápida evolución con una mortalidad cercana al 60%, y pocas veces se sospechaba hantavirus ante un cuadro de gravedad moderada o leve. En los últimos años se incrementó la experiencia tanto en el diagnóstico clínico, como en el tratamiento de casos de SPH. En este punto cumplió un rol fundamental la rapidez de la sospecha clínica y la del diagnóstico del laboratorio, lo que posibilitó la implementación temprana de tratamientos de apoyo adecuados.

Los patrones de distribución geográfica y por partido de los casos de SPH ocurridos en la provincia sugieren que existen dos focos de infección en dos direcciones opuestas desde la Ciudad de Buenos Aires. Hacia el sur-sudoeste el área comprendida por La Plata y todos sus partidos vecinos, constituyen el principal foco de infección por hantavirus en la provincia. El hecho de que no se registren casos en el resto de la provincia, en el límite oeste, no descarta la posibilidad de que el SPH esté presente en estas regiones, dado que se recibieron pocas muestras procedentes de ellas.

La estacionalidad de la enfermedad se definió claramente después del segundo semestre de 1998. Al inicio de la primavera de 1998 y 1999 comenzaron los primeros casos, alcanzando un máximo en verano, en los meses de diciembre y enero. En estudios previos se estimó que el período de incubación de la enfermedad puede variar entre 12 y 27 días<sup>12</sup>, por lo que las primeras infecciones habrían ocurrido a fines del invierno y extendiéndose durante la primavera y verano.

La respuesta humoral de IgA, IgM e IgG fue temprana. La IgM se detectó en muestras de 1 o 2 días de evolución, lo que facilitó un diagnóstico confirmatorio rápido. La IgA también es temprana, pero no regular como la IgM ya que algunos pacientes no desarrollaron respuesta. La IgG usualmente presenta un retraso de pocos días con respecto a la IgA e IgM. Su ausencia o su presencia en bajo título ha sido asociado estadísticamente en un estudio previo a casos con mala evolución clínica<sup>12</sup>, confiriendo valor pronóstico a los títulos



de IgG. Para los casos que no presentaron anticuerpos IgG en la primer muestra recibida se solicitó una segunda, necesaria para evaluar la seroconversión a IgG.

La presentación clínica varió desde cuadros moderados a muy graves según el nivel de compromiso respiratorio manifestado. El 65% presentó cuadros graves con requerimiento de apoyo respiratorio y tratamientos intensivos. Sin embargo la presencia de cuadros leves aumentó significativamente a lo largo del período, contribuyendo al descenso de la mortalidad de un año a otro. En el sur andino se establecieron 4 formas de presentación la infección por hantavirus: el síndrome pulmonar, síndrome febril con cefalea y miopía aguda, síndrome febril inespecífico y la infección subclínica<sup>19</sup>. El conocimiento de este amplio espectro clínico ayudará a detectar casos que no se ajustan a la definición clásica de caso sospechoso, y por lo tanto evitará el subregistro, especialmente en zonas donde no se han reportado casos de SPH.

Los contactos de casos de SPH se sometieron a un estricto control de seguimiento clínico para detectar precozmente cuadros compatibles. A pesar de que algunos pacientes mantuvieron un estrecho contacto con otras personas durante el período de incubación de la enfermedad, ninguna de ellas desarrolló síntomas compatibles con el SPH y el diagnóstico de laboratorio resultó negativo para aquellas que completaron el esquema de estudio de contactos, el cual requiere dos muestras con 60 días de diferencia. De la mayoría de los contactos se obtuvo solamente la primer muestra por lo que no puede descartarse la infección asintomática entre los mismos.

En trabajos previos en la región Central del país se reportaron contactos con respuesta serológica positiva<sup>20, 21</sup>, en la mayoría de ellos anticuerpos IgG, respuesta indicativa de infección remota. Los contactos IgM positivos deberían ser estudiados para verificar seroconversión a IgG mediante una segunda muestra, siendo ésta respuesta necesaria para la confirmación de infección por hantavirus.

Los estudios de contactos hasta el momento no indican evidencia de transmisión interhumana en la provincia de Buenos Aires. El hecho de que este mecanismo de transmisión se haya dado exclusivamente en el sur de nuestro país y en el sur de Chile hace pensar en características biológicas particulares del linaje viral de esa región (AND Sout). Si bien no existen grandes diferencias entre las secuencias de las proteínas virales entre los distintos linajes del virus AND, pequeños cambios en las secuencias están asociados a veces a alteraciones importantes en las propiedades biológicas. Como aún no se ha excluido la posibilidad de transmisión interhumana en esta región, se ha reiterado a la comunidad médica la importancia de las prácticas de medi-

das universales de bioseguridad en el manejo de pacientes con sospecha de SPH.

Estudios basados en la comparación de secuencias nucleotídicas parciales del fragmento M del genoma viral, codificante para la glicoproteína G2, sirven para determinar variabilidad viral y su clasificación geográfica. Todos los casos de SPH correspondieron a tres de los cinco linajes del virus AND. Se detectaron proporciones diferentes de ellos en distintas áreas. El linaje AND Cent Lec hasta el momento es el único circulante hacia el norte de la Ciudad de Buenos Aires, principalmente en zonas ribereñas; AND Cent Bs.As. hacia el sur y oeste desde la Ciudad de Buenos Aires, mientras que AND Cent Plata se presentó únicamente en zonas suburbanas de la Ciudad de La Plata. Esta última variante es la misma que circula en Uruguay<sup>22</sup>. La metodología de RT-PCR, secuenciación y análisis nucleotídico resultó ser una herramienta muy potente para determinar el sitio de infección. En la actualidad, el gran movimiento de las personas, sumado al hecho de que el SPH posee un tiempo de incubación largo, de entre 12 y 27 días, hacen que los datos epidemiológicos no resulten concluyentes en algunos casos. Mediante esta metodología es posible diferenciar el lugar de infección de casos con más de un sitio probable de riesgo de adquisición de la enfermedad dentro o fuera del país.

La definición de especie viral de hantavirus se encuentra actualmente bajo revisión. Una discusión de los genotipos virales circulantes en cinco países de Sudamérica ya ha sido publicada<sup>12</sup>. En general, si bien una relación directa entre datos genéticos y serológicos es difícil de mostrar, el criterio tradicional serológico correlaciona muy bien con los datos moleculares. Normalmente, la baja divergencia en aminoácidos indica neutralización cruzada entre cepas virales. Comparando los tres linajes del virus AND de Buenos Aires se obtienen valores bajos, entre un 3% a 6% de divergencia aminoacídica. En nuestra opinión, hasta el momento no existen suficientes evidencias para considerar a los cinco linajes asociados a SPH circulantes en Argentina como diferentes virus. La investigación de datos geográficos y ecológicos basados en mantenimiento y coevolución de diferentes reservorios primarios contribuirá a la asignación del estado taxonómico del virus AND.

El virus AND ha sido asociado a roedores sigmodontinos del género *Oligoryzomys*. En el sur del país el linaje viral AND Sout es mantenido naturalmente y ocasionalmente transmitido al hombre por *O. longicaudatus*, vulgarmente conocido como ratón colilargo. El linaje AND Cent Lec ha sido asociado a *O. flavescens*<sup>18</sup> pero aún no se han encontrado los roedores asociados a los linajes AND Cent Bs.As. y AND Cent Plata. Debido al alto

grado de similitud nucleotídica entre los tres linajes es posible que sus reservorios correspondan a otra especie del mismo género o que los tres cocirculen simultáneamente en diferentes poblaciones de *O. flavescens*, único representante del género con distribución a lo largo de toda la provincia de Buenos Aires<sup>23</sup>. Es de destacar que no se encontraron casos humanos asociados a los virus Pergamino y Maciel previamente descritos en la zona central<sup>18</sup>, cuyos reservorios son *Akodon azarae* y *Necromys benefactus* (ex *Bolomys benefactus*) respectivamente.

La distribución de casos de SPH en la Provincia de Buenos Aires es muy amplia abarcando localidades con alta densidad poblacional, por lo tanto, la población en riesgo potencial es grande. Ante la falta de conocimientos sobre los roedores reservorios, la inexistencia de vacunas y de antivirales efectivos, la principal herramienta contra esta enfermedad actualmente es el diagnóstico rápido y la implementación de terapias de apoyo adecuadas y tempranas en el tratamiento de los pacientes. Estos resultados junto con estudios de los roedores reservorios permitirán establecer un mapa de riesgo de adquisición de la enfermedad por hantavirus en la Provincia de Buenos Aires permitiendo optimizar las estrategias de prevención.

**Agradecimientos:** A los médicos, epidemiólogos y equipos de salud por sus contribuciones y en especial al Dr. Jorge Contarelli y al Dr. Daniel L. Pérez.

## Bibliografía

- Lee HW, Lee PW, Johnson KM. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1978; 137: 298-307.
- Lee JS. Clinical manifestations and treatment of HFRS and HPS. In: Lee WH, Calisher C, Schmaljohn C. (eds). Manual of hemorrhagic with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. Seoul: WHO Collaborating Center for virus reference and research (Hantaviruses). Asan Institute for Life Sciences, 1999; 18-27.
- Lähdevirta J, Savola J, Brummer-Korvenkontio, et al. Clinical and serological diagnosis of Nephropathia Epidemica, the mild type of haemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect* 1984; 9: 230-8.
- Kanerva M, Mustonen J, Vaheri A. Pathogenesis of Puumala and other hantavirus infections. *Rev Med Virol* 1989; 8: 67-86.
- Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, et al. Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science* 1993; 262: 914-7.
- Duchin JS, Koster FT, Peters CJ, et al. Hantavirus pulmonary syndrome: A clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. *N Engl J Med* 1994; 330: 949-55.
- López N, Padula PJ, Rossi C, Lázaro ME, Franze-Fernández MT. Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology* 1996; 220: 223-6.
- Johnson AM, Bowen MD, Ksiazek TG, et al. Laguna Negra virus associated with HPS in Western Paraguay and Bolivia. *Virology* 1997; 238: 115-27.
- López N, Padula PJ, Rossi C, et al. Genetic characterization and phylogeny of Andes virus and variants from Argentina and Chile. *Virus Res* 1997; 50: 77-84.
- Toro J, Vega JD, Khan AS, et al. An outbreak of hantavirus pulmonary syndrome, Chile, 1997. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 687-94.
- Johnson AM, Souza LT, Ferreira IB, et al. Genetic investigation of novel hantaviruses causing fatal HPS in Brazil. *J Med Virol* 1999; 59: 527-35.
- Padula PJ, Colavecchia SB, Martinez VP, et al. Genetic diversity, distribution, and serological features of hantavirus infection in five countries in South America. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 3029-35.
- Enria D, Padula PJ, Segura EL, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina Possibility of person-to-person transmission. *Medicina* 1996; 56: 709-11.
- Wells RM, Sosa Stani S, Yadón ZE, et al. An unusual hantavirus outbreak in Southern Argentina: person-to-person transmission? *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 171-4.
- Padula PJ, Edelstein A, Miguel SDL, López NM, Rossi CM, Rabinovich RD. Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virology* 1998; 241: 323-30.
- OPS. Vigilancia y definición de casos de síndrome pulmonar por hantavirus. En: Hantavirus en las Américas: guía para el diagnóstico, el tratamiento, la prevención y el control. Washington DC: OPS, 1999; Cuadernillo Técnico Nº. 47, p13.
- Padula PJ, Rossi CM, Della Valle MO, et al. Development and evaluation of a solid phase enzyme immunoassay based on Andes hantavirus recombinant nucleoprotein. *J Med Microb* 2000; 38: 3029-35.
- Levis S, Morzunov S, Rowe J, et al. Genetic diversity and epidemiology of hantaviruses in Argentina. *J Infect Dis* 1998; 177: 529-38.
- Lazaro ME, Resa AJ, Barclay CM, et al., Síndrome Pulmonar por Hantavirus en el Sur Andino Argentino. *Medicina* 2000; 60: 289-301.
- Calderón G, Pini N, Levis S, et al. Riesgo de adquirir síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) en grandes centros urbanizados. VI Congreso Argentino de Virología, Buenos Aires 1999, Programa de actividades y resúmenes; poster 081, p62.
- Pini N, Cacace M, Ubeid C, et al. Pautas para el estudio serológico de contactos de síndrome pulmonar por hantavirus (SPH). VI Congreso Argentino de Virología, Buenos Aires 1999, Programa de actividades y resúmenes; poster 082, p62.
- Padula P, Edelstein A, Della Valle M, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Uruguay: complete S and M segment viral sequences. ICEID Atlanta, USA 2000, Program and abstract book; broad 84, p87.
- Galliari, C.A., Berman W.D. y Goin F.J. A. Recursos y rasgos naturales en la evaluación ambiental. Mamíferos. Situación Ambiental de la Provincia de Buenos Aires 1991, Año I - Nro. 5: 12-5.