

EXPANSION GEOGRAFICA DEL SINDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS EN LA ARGENTINA: INFORME DEL CASO MAS AUSTRAL

CARLA BELLOMO¹, JULIO NUDELMAN², ROBERTO KWASZKA³, GABRIELA VAZQUEZ⁴, GUSTAVO CANTONI⁴,
BARBARA WEINZETTEL⁵, EDMUNDO LARRIEU⁴, PAULA PADULA¹

¹Laboratorio de Hantavirus, INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, ²Hospital Regional de Gobernador Gregores, Santa Cruz, ³Hospital Regional de Río Gallegos, Santa Cruz, ⁴URESA Bariloche, Río Negro,

⁵Subsecretaría de Salud Pública, Santa Cruz, Argentina

Resumen Desde 1995 se han informado más de 1000 casos de síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) en la Argentina, enfermedad grave y muchas veces fatal para los humanos. La mayoría de los casos fueron asociados al virus Andes (AND) único hantavirus que ha sido informado como causante de transmisión persona a persona. Se han descrito varios linajes patogénicos del virus AND, de los cuales AND Sur, cuyo reservorio es el roedor *Oligoryzomys longicaudatus*, afecta a la región patagónica de Argentina y Chile. En el presente estudio se informan las manifestaciones clínicas y las características epidemiológicas de un caso de SPH. El objetivo fue describir la presentación clínica del caso, su entorno epidemiológico, el sitio probable de contagio, la variante viral implicada y su relación con los casos más cercanos notificados. Se realizó el seguimiento clínico, el diagnóstico serológico y molecular y la investigación epidemiológica, incluyendo un estudio de la población de roedores reservorios en las áreas involucradas. Se trató de una presentación clásica de SPH moderada, causada por el linaje viral AND sur y su secuencia nucleotídica se comparó con casos del sur argentino y chileno. El caso de hantavirus investigado resultó ser el más austral (48° 46' 1.2" S; 70° 15' 0" O) notificado hasta el momento e involucró a una nueva provincia argentina.

Palabras clave: hantavirus, virus ANDES, *Oligoryzomys longicaudatus*, Argentina, síndrome pulmonar por hantavirus, Patagonia

Abstract *Geographic expansion of hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. The southernmost case report.* Since 1995 more than 1000 cases of hantavirus pulmonary syndrome (HPS) were reported in Argentina, a severe disease and often fatal to humans. Most cases were associated with Andes virus (AND) that caused few events of person-to-person transmission. Several lineages of pathogenic AND viruses have been described, including AND South, hosted by the rodent *Oligoryzomys longicaudatus* which affects the Patagonian region of Argentina and Chile. We studied the clinical and epidemiological characteristics of a HPS case. The objective was to describe the clinical presentation of the case, its epidemiology, the likely site of infection, the viral variant implicated and its relationship with the closest reported cases. We carried out the clinical follow up, serological and molecular diagnosis and the epidemiological research, including a rodent reservoir study. The clinical presentation of the case was the classical and moderate, caused by AND South virus. Its viral nucleotide sequence was compared with cases from Southern Argentina and Chile. This case was found to be the most Southern (48° 46' 1.2" S; 70° 15' 0" O) case reported and involved a new Argentinean province.

Key words: hantavirus, ANDES virus, *Oligoryzomys longicaudatus*, Argentina, hantavirus pulmonary syndrome, Patagonia

La fiebre hemorrágica con síndrome renal, y el síndrome pulmonar por hantavirus (SPH) son enfermedades graves y a veces fatales para los humanos provocadas por hantavirus. Este virus pertenece a la familia *Bunyaviridae*, es envuelto, con un genoma ARN tripartito de polaridad negativa. Desde 1995, año en el que fue

caracterizado el primer caso de SPH en la Argentina¹ asociado al virus Andes (AND), se han informado más de 1000 casos en todo el país, con una letalidad de alrededor del 30%.

La enfermedad se caracteriza por fiebre, mialgia y rotura de capilares con hemoconcentración, trombocitopenia y edema pulmonar. La patogénesis del SPH no está dilucidada pero se especula que la activación de los linfocitos T y la producción de citoquinas jugarían un rol fundamental².

El virus AND tiene una especial importancia para la salud pública ya que es el único hantavirus que ha cau-

Recibido: 18-V-2009

Aceptado: 18-VIII-2009

Dirección postal: Lic. Carla M. Bellomo, Laboratorio de Hantavirus, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Av. Vélez Sarsfield 563, 1281 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4301-3146 e-mail: cbellomo@anlis.gov.ar

sado eventualmente transmisión persona a persona. La mayoría de los casos informados por esta nueva forma de transmisión residían en la Patagonia argentina y chilena³⁻⁶, sólo un agrupamiento confirmado fue notificado en la provincia de Buenos Aires⁷. No se cuenta con vacunas ni tratamientos específicos para esta enfermedad y se ha observado que la sospecha y confirmación de la misma en estadios tempranos de la evolución contribuye a mejorar el pronóstico del paciente.

La epidemiología del SPH se asocia estrechamente a la ecología de los reservorios, roedores de la subfamilia *Sigmodontinae*. Estos no desarrollan la enfermedad pero manifiestan una infección crónica y liberan el virus al medio a través de excretas y saliva.

En la Argentina se han descrito varios genotipos patogénicos o linajes del virus AND. En la región sur los casos tienen como agente causal únicamente al linaje AND Sur cuyo reservorio es el *Oligoryzomys longicaudatus*, que muestra un extenso rango geográfico por la vertiente oriental de la Cordillera de Los Andes. Los casos y los roedores infectados se concentran en regiones determinadas de las provincias de Neuquén, Río Negro y Chubut. En esta región el total de casos asciende a 133 hasta la semana epidemiológica (S.E.) 13 de 2009 y la letalidad por SPH en humanos es de alrededor del 45%. En capturas de roedores programadas, el mayor número de *O. longicaudatus* seropositivos se obtuvo en áreas definidas como Bosque Andino Patagónico según sus características ecológicas. En la Estepa Patagónica o Monte, los animales capturados fueron negativos. En Chile, se notificaron hasta la S.E. 13 de 2009, 601 casos de SPH, distribuidos desde las Regiones V a XI (33° 3' 47" a 45° 34' 12" latitud sur), con una letalidad del 37%⁸. El agente causal fue el virus AND genotipo Sur⁹.

Se describe el primer caso notificado de SPH en la provincia de Santa Cruz y el más austral registrado en América; se discuten los aspectos clínicos, epidemiológicos y genéticos virales. Se recomienda la sospecha temprana de este síndrome también en aquellos sitios con condiciones eco-epidemiológicas compatibles donde aún no se notificaron casos.

Caso clínico

Durante el mes de marzo de 2004, un paciente de 47 años de edad, trabajador rural, previamente sano, presentó entre sus primeros síntomas: fiebre, astenia, adinamia y disnea. El paciente, residente en la localidad de Gobernador Gregores (48° 46' 1.2" S; 70° 15' O), provincia de Santa Cruz, a los 7 días de iniciados los síntomas fue derivado al Hospital Regional de Río Gallegos, presentando además de falla respiratoria, compromiso renal manifestado por urea y creatinina elevadas, y compromiso hepático con aumento de las enzimas hepáticas (TGO 688 U/l, TGP 477 U/l). No fue requerida asistencia respiratoria mecánica. Al octavo día exhibió síntomas hemorrágicos (epistaxis). Los valores de laboratorio fueron los

característicos para un paciente que está cursando SPH: 41% de hematocrito, 14 050 glóbulos blancos y 41 000 plaquetas/mm³. Al día 8 luego de iniciados los síntomas, se tomó una muestra de sangre entera y se solicitó diagnóstico para hantavirus y micoplasma. El diagnóstico clínico fue neumonía grave. Como primer tratamiento se administró ampicilina y gentamicina para luego cambiar a claritromicina y amoxicilina. No se suministraron drogas antivirales. El análisis serológico específico para hantavirus se llevó a cabo mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) para la detección de anticuerpos específicos contra virus AND¹⁰. La muestra fue positiva para IgM (título 6400) e IgG (título > 6400), confirmándose el diagnóstico de hantavirus.

La investigación epidemiológica indicó que se observaron roedores, excretas y madrigueras en las inmediaciones de su hogar y de su trabajo, ambas zonas rurales. El paciente no realizó durante los meses previos a la enfermedad viajes fuera del área mencionada.

A partir de una muestra de coágulo del paciente se extrajo ARN viral, se llevó a cabo una transcripción reversa y se amplificó el ADN resultante. Se determinó la secuencia nucleotídica de un fragmento de: i) la nucleoproteína viral (nucleótidos, nts 85 a 614 del segmento S); ii) la glicoproteína 1 (G1), en el segmento M (nts 85 a 278) y iii) la glicoproteína 2 (G2) del segmento M (nts 2715 a 2940). Estas secuencias

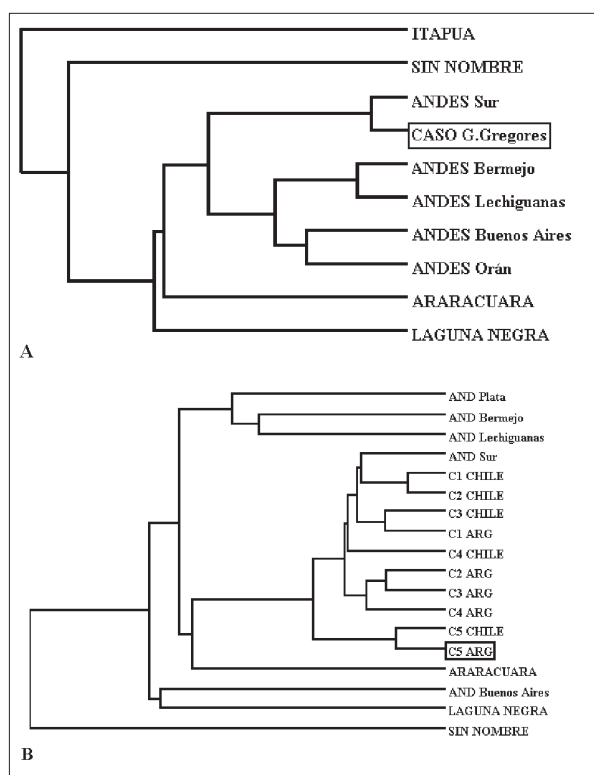


Fig. 1.— Relaciones filogenéticas virales del caso informado y otras variantes de hantavirus. A) Dendograma de la alineación de secuencias nucleotídicas del segmento S viral (nucleótidos 85 a 614), Hantavirus. B) Dendograma de la alineación de secuencias del segmento M (G2, nts. 2715 a 2940) obtenidas de diferentes casos reportados en Argentina y Chile. C1 a C3 CHILE, casos de Coyhaique; C4 CHILE, de Llanchipal; C5 CHILE, de Cochran. C1 ARG, caso de Río Pico; C2 ARG, de Epuyén; C3 ARG, El Bolsón; C4 ARG, Zapala y C5 ARG, Gdor. Gregores.

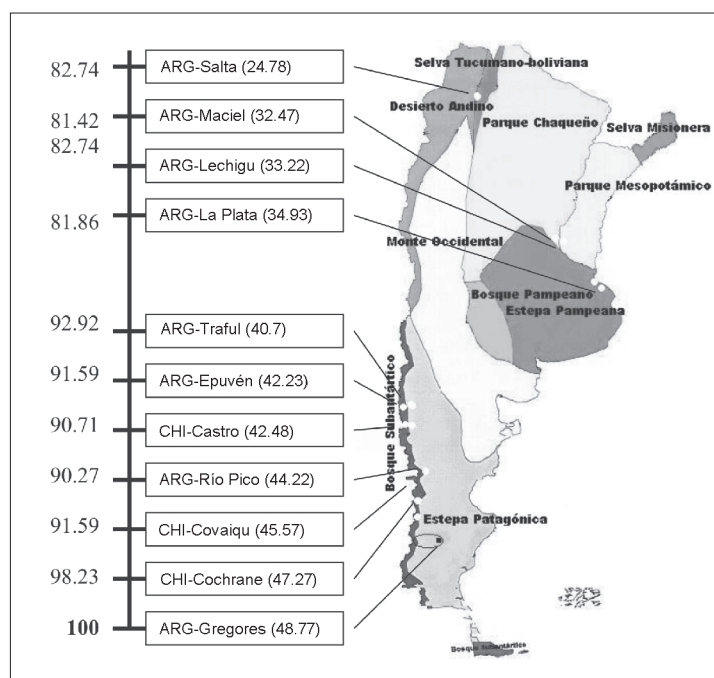


Fig. 2.— Ubicación geográfica del caso informado y otras variantes de hantavirus. Los recuadros indican las localidades latitud (paréntesis) de ocurrencia de los casos analizados. La barra vertical indica, para cada caso en esa localidad, el porcentaje de identidad nucleotídica viral (G2 del segmento M, nucleótidos 2715 a 2940) respecto del caso notificado. El óvalo indica los probables sitios de infección del caso.

se compararon con otras ya existentes por medio del programa Clustal V de PCGENE 6.8 (*Intelligent Inc Mountain View, Calif.*). El análisis del fragmento del segmento S evidenció una mayor identidad nucleotídica de la secuencia del caso con el linaje AND Sur (Fig. 1 A). El estudio del fragmento del segmento M mostró que el caso de Gregores presenta mayor identidad (98%) con la secuencia de un caso de Cochrane, Chile ($47^{\circ} 16' 1.2''$ S; $72^{\circ} 33'$ O) y 90% con un caso de Río Pico, Chubut ($44^{\circ} 13' 1.2''$ S; $71^{\circ} 21'$ O, a 836 km de G. Gregores) (Fig. 1 B); hasta el presente informe el caso de Río Pico era el más austral argentino (Fig. 2).

Durante el verano de 2006, se realizó una captura de roedores vivos en los sitios accesibles y de mayor presencia de roedores reservorios en el área conocida como Tucú-Tucú, siguiendo las normas de bioseguridad establecidas¹¹. Se trabajó durante 4 días y 3 noches consecutivas, con 260 trampas noche. Se utilizaron trampas Sherman, capturándose 38 roedores, 65% hembras (índice de captura: 15 cada 100 trampas): 23 *Abrothrix longipilis* (60%), 4 *Oligoryzomys longicaudatus* (11%), 2 *Abrothrix olivaceus*, 2 *Phyllotis sp.*, 3 *Calomys sp.* y 4 sin identificar. A los animales previamente anestesiados se les tomó medidas morfométricas estándar, posteriormente se les extrajo una muestra por sangrado retro-orbital, con tubo heparinizado y se colectaron órganos. Las muestras conservadas en nitrógeno líquido fueron analizadas por técnica de AND-ELISA IgG para roedores, resultando negativas.

Discusión

Los casos de SPH previamente informados se extendían hasta la provincia de Chubut (Río Pico) como extremo sur en la Argentina. El presente caso amplía el límite del

área de nuestro país afectada por esta enfermedad e involucra a una nueva provincia.

Las características del cuadro clínico presentado por el paciente se corresponden con las presentaciones clásicas del síndrome y se clasificó este caso como moderado.

Se han realizado previamente en diferentes puntos del país capturas de roedores con el fin de establecer la densidad de población, la prevalencia del agente patógeno y una correlación genética entre el virus circulante en la población de hospedadores y el que se obtiene a partir de muestras de pacientes de la misma región¹²⁻¹⁴. En el sur del país, la presencia de roedores portadores de hantavirus se registra en las zonas de Bosque Andino Patagónico en concordancia con el sitio más probable de infección de los casos de SPH. Sin embargo, G. Gregores se asienta en la meseta patagónica. Según la investigación epidemiológica y dada la ocupación del caso en estudio, se debe tener en cuenta que hay períodos del año donde el trabajador rural, junto con la hacienda, se desplazan varios kilómetros (en este caso hacia la cordillera, adentrándose en el Bosque Andino Patagónico) en busca de condiciones climáticas más benignas durante el invierno (invernada), regresando en verano. Esto implica que el contagio puede haber ocurrido en la invernada, es decir en zona de Bosque. Si bien en la captura de roedores vinculada al caso no se obtuvieron animales positivos para hantavirus, de los 38 roedores capturados, 29 correspondieron a especies involucradas

en la transmisión de virus AND (*O. longicaudatus*, *A. olivaceus* y *A. longipilis*). La seronegatividad posiblemente pueda deberse a la escasa proporción de *O. longicaudatus*, al bajo porcentaje de machos capturados o a la época del año, dado que estas condiciones influyen en la tasa de roedores seropositivos encontrados en una población¹⁵.

El análisis epidemiológico molecular permitió confirmar la localización austral del sitio de infección, por comparación con secuencias obtenidas de casos de la región. El análisis filogenético viral realizado con la secuencia del caso de G. Gregores (48° 46' 1.2" S; 70° 15' O) y otras de diferentes años y lugares de la Patagonia, lo agrupa con el caso más austral de Chile registrado (Cochrane, 48° 16' 1.2" S; 72° 33' O) y no con el más austral argentino (Río Pico, 44° 13' 1.2" S; 71° 21' O). La distribución geográfica de casos y roedores reservorios presenta un amplio rango en sentido norte-sur, no así en el sentido este-oeste, coincidiendo su distribución con el Bosque Andino Patagónico. Los resultados del estudio de la identidad nucleotídica indicarían que la Cordillera de los Andes (límite natural entre ambos países) no constituiría una barrera biológica para el desplazamiento de las poblaciones de roedores asociados al virus. Este hecho avala una de las hipótesis que propone una co-evolución entre el virus y su hospedador, quien habría experimentado una expansión en su rango geográfico (probablemente norte-sur), la cual no sería reciente¹⁶.

Para que esta enfermedad se produzca influyen al menos dos factores: el primero vinculado con el reservorio, que implica la densidad de población de roedores y la proporción de positivos, y el segundo factor está referido a la densidad de la población humana. Estas variables se relacionan estableciendo una probabilidad de encuentro entre reservorio infectado y humano, determinando el riesgo de adquirir la enfermedad.

La notificación de este caso plantea la necesidad de sospechar el SPH en presentaciones clínicas como las descritas también en sitios donde aún no se hayan informado casos. En el marco sanitario, resulta necesario conocer los cuidados y medidas a tomar cuando se confirma un caso de SPH, de modo tal de mejorar la supervivencia del paciente y evitar la propagación de la enfermedad en los casos eventuales de transmisión interhumana.

La alta mortalidad, el aumento de áreas geográficas afectadas, la diversidad de reservorios y la posibilidad de transmisión persona a persona muestran la importancia de ampliar los conocimientos sobre el SPH estableciendo áreas geográficas de riesgo e implementando medidas de prevención.

Agradecimientos: Agradecemos a la Dra. Laura Cavaglion por la colaboración en las gestiones para la realización de la captura de roedores.

También agradecemos la ayuda técnica realizada en las tareas de campo por Laura Crivelli.

Reconocemos la valiosa colaboración de los pobladores locales para facilitar la investigación epidemiológica.

Este trabajo fue financiado en forma parcial por el Proyecto de Voluntariado Universitario "Evaluación de factores de riesgo asociados a transmisión de hantavirus en la provincia de Santa Cruz", otorgado por el Ministerio de Educación en 2006.

Conflictos de interés: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses vinculados al presente trabajo.

Bibliografía

1. López N, Padula O, Rossi C, Lázaro ME, Franze-Fernandez MT. Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology* 1996; 220: 223-6.
2. Mori M, Rothman A, Kurane I, et al. High levels of cytokine producing cells in the lung tissues of patients with fatal hantavirus pulmonary syndrome. *J Infect Dis* 1999; 179: 295-302.
3. Padula PJ, Edelstein A, Miguel SD, et al. Epidemic outbreak of Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Molecular evidence of person to person transmission of Andes virus. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58 Suppl 1: 27-36.
4. Toro J, Vega JD, Khan AS, et al. An outbreak of Hantavirus Pulmonary Syndrome, Chile, 1997. *Emerg Inf Dis* 1998; 4: 1-7.
5. Martínez VP, Bellomo CM, San Juan J, et al. Person-to-person transmission of Andes virus. *Emerg Inf Dis* 2005; 11: 1848-53.
6. Ferres M, Vial P, Marco C, et al. Prospective evaluation of household contacts of persons with hantavirus cardiopulmonary syndrome in Chile. *J Infect Dis* 2007; 195: 1563-71.
7. Pinna DM, Martínez VP, Bellomo CM, López C, Padula P. New epidemiologic and molecular evidence of person to person transmission of hantavirus Andes Sout. *Medicina (Buenos Aires)* 2004; 64: 43-6.
8. Boletín Epidemiológico de Hantavirus. Departamento de Epidemiología. MINSAL. Chile. En: <http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Hantavirus/Hantavirus.pdf>. Consultado marzo 2009.
9. Medina RA, Torres-Perez F, Galeno H, et al. Ecology, genetic diversity, and phylogeographic structure of Andes virus in humans and rodents in Chile. *J Virol* 2009; 83: 2446-59.
10. Padula P, Rossi C, Della Valle M, et al. Development and evaluation of solid phase enzyme immunoassay based on Andes hantavirus recombinant nucleoprotein. *J Med Microbiol* 2000; 49: 149-155.
11. Mills JN, Yates TL, Childs JE, et al. Guidelines for working with rodents potentially infected with Hantavirus. *J Mammal* 1995; 76: 716-22.
12. Padula PJ, Colavecchia SB, Martínez 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.
13. Padula P, Martínez VP, Bellomo C, et al. Pathogenic hantaviruses, northeastern Argentina and eastern Paraguay. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 1211-4.
14. Bohlman MC, Morzunov SP, Meissner J, et al. Analysis of hantavirus genetic diversity in Argentina: S segment-derived phylogeny. *J Virol* 2002; 76: 3765-73.
15. Padula P, Figueroa R, Navarrete M, et al. Transmission study of Andes hantavirus infection in wild sigmodontine rodents. *J Virol* 2004; 78: 11972-9.
16. Mc Caughey C, Hart CA. Hantaviruses. *J Med Microbiol* 2000; 49: 587-9.