

Fiebres Hemorrágicas por Arenavirus en Venezuela

Vásquez C¹, Salas RA², de Manzione N³, Paredes H³, Tesh RB⁴.

¹Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Venezuela.

²Caribbean Epidemiology Centre (CAREC), Trinidad.

³Centro de Investigaciones Viroológicas Hemorrágicas y Enfermedades Transmisibles (CIVIHET), estado. Portuguesa, Venezuela.

⁴University of Texas Medical Branch, Texas, USA.

Title

Hemorrhagic Fevers caused by Arenavirus in Venezuela

Summary

The arenavirus of the New World or Arenavirus Tacaribe Complex are composed by three main groups: A, B and C. Inside B group, Junin, Machupo, Guanarito and Sabia are the latin american arenavirus that cause serious hemorrhagic pathologies. In Venezuela, arenavirus Guanarito is the etiologic agent of Venezuelan Hemorrhagic Fever (VHF), severe disease characterized by fever, headache, sore throat, malaise, followed by abdominal pain, diarrhoea and hemorrhagic and neurological manifestations. The arenavirus Guanarito is maintained in the nature by the sugar cane mouse, *Zygodontomys brevicauda*, in which the virus establishes a chronic and persistent infection. The disease mainly affect agricultural male workers, between 14 and 45 years old, and the current percentage of morbi-mortality in women and children increases progressively. Nine different genotypes have been demonstrated in the arenavirus Guanarito, being the 6 and the 9 the most pathogens and lethal. Portuguesa, Barinas and Guárico states are considered as endemic areas, while Apure and Cojedes states are considered high risk areas. The VHF has a recurrent behaviour with epidemic periods every 4 - 5 years. Every new interepidemic period is shorter and an increase in morbidity and mortality is presented in every new epidemic cycle. Since the emergency of the disease in 1989 up till October of 2004, 463 cases have been reported with a mortality rate of 30%.

Based on the investigations about VHF in 1997, it was discovered Pirital, a new arenavirus whose reservoir is *Sigmodon alstoni* or cotton mouse, but until now clinical infection has not been demonstrated in humans.

Key Words

Venezuelan Hemorrhagic Fever, arenavirus, Guanarito, *Zygodontomys brevicauda*.

Resumen

Los arenavirus del Nuevo Mundo o Complejo Tacaribe comprenden tres grandes grupos: A, B y C. Dentro del grupo B, los virus Junín, Machupo, Guanarito y Sabiá son los arenavirus latinoamericanos que ocasionan graves patologías hemorrágicas. En Venezuela, el virus Guanarito es el agente etiológico de la Fiebre Hemorrágica Venezolana (FHV), enfermedad severa que se caracteriza por la aparición de fiebre, dolor de cabeza, dolor de garganta, malestar general, seguida de dolor abdominal, diarrea y manifestaciones hemorrágicas y neurológicas. El virus Guanarito es mantenido en la naturaleza por el *Zygodontomys brevicauda*, ratón de la caña de azúcar, en el cual el virus establece una infección crónica y persistente. La enfermedad afecta principalmente a agricultores del sexo masculino, de edades

comprendidas entre 14 y 45 años, y el porcentaje actual de morbi-mortalidad en mujeres y niños aumenta progresivamente. En el virus Guanarito se ha demostrado la existencia de nueve genotipos diferentes, siendo el 6 y el 9 los más patógenos y letales. Los estados considerados como área endémica son Portuguesa, Barinas y Guárico, mientras que los estados Apure y Cojedes son considerados áreas de alto riesgo. La FHV tiene un comportamiento epidemiológico cíclico, registrándose períodos epidémicos cada cuatro a cinco años, con la característica de que cada nuevo período interepidémico es cada vez más corto, y en cada nuevo ciclo epidémico se presenta un aumento en la morbilidad y mortalidad. Desde la emergencia de la enfermedad en 1989 hasta octubre del 2004 se han acumulado un total de 463 casos, con una mortalidad promedio del 30%.

A raíz de las investigaciones de campo sobre FHV en 1997, se descubrió un nuevo arenavirus, Pirital, cuyo reservorio es el *Sigmodon alstoni* o ratón algodónero, pero hasta el presente no se ha demostrado infección clínica conocida en humanos.

Palabras Clave

Fiebre Hemorrágica Venezolana, arenavirus, Guanarito, *Zygodontomys brevicauda*.

Características, Agrupación Filogenética y Distribución Geográfica de los Arenavirus

FAMILIA: Arenaviridae

GÉNERO: Arenavirus

PARTÍCULA VIRAL: Virión esférico o pleomórfico

GENOMA: ARN lineal o bisegmentado: L y S

VECTOR: Roedores

La familia Arenaviridae agrupa a sus miembros sobre la base de la morfología, composición química, relación antígenica y evolución genotípica en dos complejos:

1. Arenavirus del Viejo Mundo o complejo Linfocoriomeningítis, que incluye los virus: Linfocoriomeningítis (LCM), Lassa y virus relacionados con Lassa (1-3).
2. Arenavirus del Nuevo Mundo o Complejo Tacaribe, el cual comprende tres grupos: el grupo A, que incluye a los virus Tamiami, Flexal, Paraná, White Water Arroyo, Pichindé y Pirital; el grupo B, que incluye a los virus Junín, Machupo, Tacaribe, Amaparí, Guanarito y Sabiá; y el grupo C, que incluye a los virus Oliveros y Latino (4-7).

Los arenavirus contienen dos moléculas de ARN lineal, de cadena simple y sentido negativo, no infeccioso, con una constante de sedimentación de 32S y 23S, que se les ha designado como segmento largo (L) y segmento pequeño (S); además se han encontrado pequeñas moléculas de ARN que probablemente son ribosomas de origen celular.

El genoma de los arenavirus tiene una estrategia de codificación genética ambisensa en su segmento S, de manera que en un sentido codifica para una glicoproteína precursora y en sentido inverso codifica para la nucleoproteína (NP). La glicoproteína precursora luego es clivada en dos glicoproteínas G1 y G2, que están en proporciones similares en la envoltura viral. El segmento L corresponde a la polimerasa viral (L) (8).

Los arenavirus son fácilmente inactivados por solventes orgánicos como éter, cloroformo, soluciones desinfectantes como beta propiolactona, hipoclorito de sodio y por el desoxicolato de sodio; y pueden perder su poder infeccioso al exponerse a pH ácido, al calor y radiación ultravioleta. Se multiplican en una gran variedad de líneas celulares de diferentes orígenes, con producción eficiente de placas en agar, utilizando células Vero E-6 y células diploides humanas.

Arenavirus del Nuevo Mundo: Complejo Tacaribe

GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C
Tamiami	Tacaribe	Latino
Flexal	Junín	Oliveros
Paraná	Machupo	
White Water Arroyo	Amaparí	
Pichindé	Guanarito	
Piritál	Sabiá	

Dentro de los virus transmitidos por roedores que causan fiebre hemorrágica se incluyen los virus de la familia Arenaviridae, género Arenavirus, del Grupo B, entre los cuales se pueden mencionar los virus Machupo, Junín, Lassa, Guanarito y Sabiá.

De particular importancia en Sur América, además del Dengue y la Fiebre Amarilla, ha sido la caracterización de estas patologías hemorrágicas causadas por arenavirus: en Argentina el virus Junín (1958) (9), causante de la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA); en Bolivia el virus Machupo (1963) (10-12), causante de la Fiebre Hemorrágica Boliviana (FHB); la Fiebre Hemorrágica Venezolana (FHV), causada por el virus Guanarito (1990) (13); y la Fiebre Hemorrágica de Brasil, por el virus Sabiá (1993) (14-16).

Distribución geográfica de los Arenavirus en América y sus reservorios

Una de las características biológicas más sobresalientes de los arenavirus es la de utilizar roedores como huéspedes naturales (con excepción del virus Tacaribe que utiliza al murciélago frutero *Artibeus literratus*). Más importante aún es el hecho de su alta especificidad por la especie de roedor, de forma tal que, existiendo más de 1.700 especies de roedores, cada arenavirus es altamente selectivo, por lo que se adaptan a una o máximo dos especies y a una subespecie de roedores (17).

Otra característica importante de los arenavirus es que en sus huéspedes naturales establecen una infección crónica de por vida, que resulta en viremia persistente con la eliminación del virus en forma continua, especialmente por la orina, saliva y heces. A este tipo de infecciones en el huésped intermediario se les ha denominado “infecciones tolerantes persistentes” (18,19). El mecanismo asociado con este tipo de infección parece ser la depleción selectiva de los linfocitos T específicos para los virus, ya que en estos animales se observa una ausencia de respuesta de los linfocitos T citotóxicos o de hipersensibilidad retardada contra el arenavirus infectante (20).

Fiebre Hemorrágica Venezolana

Con la declinación de la epidemia de dengue hemorrágico serotipo 2 en abril de 1990, siguieron ingresando casos similares a los descritos en el Hospital Miguel Oraá de Guanare, estado Portuguesa, pero estos pacientes tenían características epidemiológicas muy particulares, entre las que se señalan: el grupo etáreo predominante entre los 14 y 49 años, sexo masculino, de ocupación agricultores y procedentes del Municipio Guanarito, lo cual llevó a reiniciar los estudios del agente etiológico en el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”. Los estudios de laboratorio descartaron agentes infecciosos como: dengue, fiebre amarilla, hepatitis virales, leptospirosis, rickettsiosis, etc., pero había evidencias del aislamiento viral en cultivos celulares a partir de la sangre y tejidos de las víctimas de la enfermedad. A esta entidad nosológica se le denominó Fiebre Hemorrágica Venezolana (21).

La FHV es una enfermedad febril, que ocasiona malestar general, cefalea, artralgias y mialgias, que puede acompañarse de manifestaciones hemorrágicas, producida por un virus denominado Arenavirus Guanarito, descubierto en 1990.

Virus Guanarito

FAMILIA: Arenaviridae

COMPLEJO: Virus del Nuevo Mundo o Tacaribe Grupo B

ÁCIDO NUCLÉICO: 2 ARN lineales de cadena simple L y S

RESERVORIO: Roedor (*Zygodontomys brevicauda*)

En febrero de 1991, en Yale Arbovirus Research Unit de la Universidad de Yale, en los Estados Unidos de América, se identificó el virus aislado como un nuevo miembro de la familia Arenaviridae Complejo Tacaribe Grupo B, al que se le dio el nombre de “Virus Guanarito”.

Análisis filogenéticos moleculares de 250 nucleótidos desde el terminal 3' del segmento S del virus Guanarito, comparado con otros cinco virus del complejo Tacaribe (Junín, Machupo, Tacaribe, Pichindé y Sabiá), demostraron que estos virus son genéticamente diferentes, encontrándose 30% de divergencia entre ellos, lo que apoya la hipótesis de que cada arenavirus ha evolucionado independientemente en su foco endémico, probablemente desde hace mucho tiempo. Los estudios filogenéticos, por el método del vecino más cercano máxima parsimonia, han demostrado que el virus Guanarito tiene hasta ahora nueve genotipos diferentes, siendo los genotipos 6 y 9 los más infectivos y letales, causantes de la severidad de la FHV (22).

El arenavirus Guanarito es mantenido en la naturaleza por el *Zygodontomys brevicauda* (Figura 2), ratón de la caña de azúcar, en el cual el virus establece una infección persistente y crónica. Se ha encontrado que otras especies de roedores predominantes en la región de Los Llanos son susceptibles a la infección por el virus Guanarito, demostrado por la presencia de anticuerpos en un pequeño porcentaje de roedores de especies tales como: *Sigmodon alstoni*, *Rattus rattus*, *Proechimys guaire* y *Oryzomys fulvescens*. Por lo tanto, estas especies posiblemente son huéspedes finales y tienen muy poca importancia en la transmisión del virus Guanarito (23).

Los estudios ecológicos, virológicos y en animales de experimentación, que se condujeron en los años siguientes a 1990, permitieron identificar al *Zygodontomys brevicauda* como el roedor

reservorio del virus Guanarito. Debido a su distribución geográfica en Venezuela, puede afectar a la población rural.

Definición de casos en Fiebre Hemorrágica Venezolana

La FHV tiene un comienzo insidioso con manifestaciones inespecíficas, pudiéndose distinguir varias fases (24):

Caso sospechoso (Primera fase): paciente con un cuadro febril indiferenciado, de comienzo insidioso, que proceda de un área rural endémica de Fiebre Hemorrágica Venezolana (Portuguesa, Barinas y Guárico), de un área de riesgo (Apure y Cojedes) o que las haya visitado en los últimos 21 días. Se manifiesta entre el inicio y el tercer día de evolución del cuadro clínico, en el cual el paciente presenta:

- Fiebre
- Malestar General
- Cefalea
- Artralgias
- Mialgias
- Vómitos
- Diarrea
- Leucopenia y trombocitopenia con valores cercanos a lo normal, a nivel del tercer día.

Caso probable (Segunda fase): paciente con los criterios de un caso sospechoso y durante el curso de la enfermedad, a partir del cuarto día, se pueden agregar al cuadro clínico:

- Petequias
- Equimosis
- Leucopenia y trombocitopenia acentuadas
- Gingivorragia y/o epistaxis
- Dolor abdominal, principalmente en epigastrio y en el hipocondrio derecho; también puede haber distensión abdominal.
- Toque del estado neurológico, irritación, agitación, agresividad y también puede observarse temblor fino en las extremidades superiores.

En los pacientes que cursan con una evolución tórpida hacia la gravedad, las manifestaciones clínicas se hacen más severas, pudiéndose observar:

- Sangramiento por el sitio de venipunción
- Tos, taquipnea, tiraje, distress respiratorio o signos de dificultad respiratoria
- Hemorragias profusas por orificios naturales
- Hematemesis, melena, convulsiones tónico-clónicas generalizadas, estupor, coma y se puede producir fallecimiento del paciente.

Caso contacto: persona que realice actividades laborales comunes o que conviva con un caso confirmado o probable para Fiebre Hemorrágica Venezolana.

Caso confirmado: todo lo anterior más la confirmación virológica mediante el aislamiento del virus Guanarito, técnicas de biología molecular, reacción en cadena de la polimerasa con

transcriptasa reversa (RT-PCR) o la demostración de niveles de anticuerpos clase específicos tipo Ig M e Ig G.

En las Figuras 3 y 4 pueden observarse la frecuencia de signos y síntomas de pacientes con Fiebre Hemorrágica Venezolana, pertenecientes al estado Portuguesa, durante el período comprendido entre 1990 y 2004.

Patogénesis y Respuesta Inmune

Los conocimientos actuales acerca de los mecanismos mediante los cuales se produce la enfermedad y su control en el humano, tanto por el virus Guanarito como por los otros arenavirus, son en gran parte desconocidos. Investigaciones realizadas en pacientes con FHA y con Fiebre de Lassa, han revelado la ausencia de complejos inmunes circulantes, de activación del sistema del complemento, depósito de inmunoglobulinas y C3 en los órganos de los pacientes, lo que ha llevado a concluir que la patogénesis de la infección por los arenavirus se atribuye al daño directo del virus sobre el sistema sanguíneo. Los estudios clínicos y experimentales demuestran que los arenavirus se multiplican en las células en el tejido linfoide, causando viremia prolongada, produciendo efecto citopático directo en macrófagos y leucocitos polimorfonucleares, lo que resulta en la activación de factores plasmáticos y alteración de la permeabilidad capilar. Otros mecanismos pueden contribuir a la patogénesis de la enfermedad; por ejemplo, en pacientes con FHV y FHA, se encuentran altos niveles de interferón α , demostrando una correlación entre estos títulos y la evolución de la enfermedad, pero sin establecerse aún el papel que desempeña en el daño tisular (25-27).

Durante el proceso infeccioso en la FHV se produce una profunda alteración del funcionamiento de las poblaciones de linfocitos B, subpoblaciones T4 y T8; estas anomalías desaparecen durante la convalecencia, alrededor de la 5ta semana, período durante el cual comienza a detectarse la respuesta inmune específica para estos virus.

Diagnóstico diferencial

El diagnóstico de la FHV puede establecerse usando los siguientes criterios: historia epidemiológica, signos y síntomas iniciales y alteraciones hematológicas, considerándose como diagnóstico diferencial otras Fiebres Hemorrágicas, tales como: dengue, paludismo, fiebre amarilla, hepatitis, leptospirosis, fiebre tifoidea, fiebre hemorrágica con síndrome renal, mononucleosis infecciosa discrasias sanguíneas, etc.

Pruebas de laboratorio en el ingreso y evolución del paciente

- | | |
|---|-----------------|
| ▪ Hematología completa | (cada 48 horas) |
| ▪ Recuento plaquetario | (diariamente) |
| ▪ Tiempo de Protrombina (TP) | |
| ▪ Tiempo de Tromboplastina (PTT) | (diario) |
| ▪ Transaminasa Glutámico Oxaloacética (TGO) | |
| ▪ Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) | (cada 48 horas) |
| ▪ Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) | (al ingreso) |
| ▪ Proteínas totales y fraccionadas | (cada 48 horas) |
| ▪ Uroanálisis | (cada 48 horas) |
| ▪ Glicemia | (cada 48 horas) |

- Urea y Creatinina (cada 48 horas).
- Bilirrubina total y fraccionada (cada 48 horas).
- Rx de tórax (al ingreso).
- Eco abdominal de presentarse alteración hepática, renal o ascítis
- Gasometría arterial sobre la base de criterio clínico
- Toma de muestras para estudios virológicos y serológicos los días 0, 5, 10, 15 y si el paciente permanece más tiempo, la última toma debe ser antes de egresar.

Epidemiología de la Fiebre Hemorrágica Venezolana

Los estudios epidemiológicos retrospectivos demuestran que, posiblemente el virus Guanarito ha existido en la población de roedores por muchos años. Sin embargo, antes de 1989 los casos de FHV ocurrían en forma esporádica, debido al pequeño número de habitantes en el medio rural del Municipio Guanarito, estado Portuguesa. La incorporación de nuevas tierras a la actividad agrícola y el incremento de la migración al medio rural, produjeron los cambios ecológicos favorables para el aumento de la población de roedores silvestres. Como consecuencia, se incrementó el riesgo humano a la infección por patógenos transmitidos por roedores, y ocurrieron cambios en el patrón epidemiológico de las enfermedades tal y como se ha observado con la FHV (28).

La enfermedad humana debida a los arenavirus está determinada por la patogenicidad del virus, la distribución geográfica del roedor reservorio, y por factores ecológicos y socioculturales asociados con el humano.

En la [Figura 5](#) puede observarse el inicio de la onda endémica de FHV a partir de 1989, desde el Municipio Guanarito del estado Portuguesa hacia otros municipios del mismo estado y hacia otros estados vecinos.

Distribución de áreas endémicas y de riesgo en humanos para Fiebre Hemorrágica Venezolana

Los estudios sobre la distribución geográfica del virus Guanarito nos demuestra que el reservorio (*Zygodontomys brevicauda*) está ampliamente distribuido en Los Llanos centro-occidentales del país, y se ha demostrado circulación viral en los estados Portuguesa, Barinas, Guárico, Cojedes y Apure, pero sólo en los tres primeros se han identificado casos en humanos, confirmados etiológicamente por el laboratorio. Por lo tanto, estas zonas se consideran áreas endémicas, mientras que los estados Cojedes y Apure representan áreas de riesgo para la enfermedad. A pesar de esta situación, en las áreas rurales la tasa de infección en la población es baja, pero al continuar los estudios sobre los factores de riesgo se ha encontrado que, a medida que se presenta un nuevo ciclo epidémico, es mayor el número de casos de morbilidad y mortalidad en humanos de poblaciones rurales ([Figura 6](#)).

Morbilidad para Fiebre Hemorrágica Venezolana según edad

El rango estadístico de edad de los enfermos es de 76 años, con máximo de 79 y un mínimo de tres, un promedio de edad de 30 años y una mediana de 26, con una desviación estándar de ± 16 años. El grupo de edad más afectado es el económicamente productivo (15 - 45 años), en donde se presenta alrededor del 70% de los casos (200 casos). ([Figuras 7 y 8](#)).

La incidencia con relación al sexo muestra un claro predominio en el masculino, presentándose en más del 70% de los casos, aunque en los últimos años de observación (2001-2004) la razón

de masculinidad de la incidencia de la enfermedad presenta una disminución importante, ya que se ha observado un aumento en mujeres y niños (Figura 9).

Roedores capturados en cuadrícula fija

El *Zygodontomys brevicauda* junto al *Sigmodon alstoni*, son las especies de roedores más abundantes en la región de Los Llanos venezolanos. Se encuentran asociados con una gran variedad de hábitats; sin embargo, ellos son especialmente abundantes en campos de cultivo de maíz, sorgo, algodón y en la maleza que bordea los cultivos. La densidad de población presenta fluctuaciones estacionarias típicas, con un incremento durante la estación de sequía, alcanzando máximos niveles al final de la estación seca, luego disminuye durante la estación de lluvia. La densidad de población de *Z. brevicauda* presenta fluctuaciones cíclicas significativas, alcanzándose una máxima densidad poblacional cada cuatro a cinco años, las cuales se correlacionan con los ciclos endémicos y epidémicos de la FHV.

En los estudios actuales sobre densidad poblacional a nivel de cuadrícula fija, se ha observado que el aumento de las poblaciones de este roedor ha disminuido en función del tiempo. Es decir, se observa un incremento en la cantidad de roedores en intervalos de tiempo más cortos, lo cual es un indicador de la posible aparición de un nuevo ciclo epidémico de la enfermedad (Figura 10).

Morbilidad de casos de Fiebre Hemorrágica Venezolana

El ingreso de pacientes, según los meses del año, concentra más del 50% de los casos en los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero, fechas que coinciden con una mayor actividad agrícola en las zonas afectadas, es decir a finales de la estación lluviosa y principios de la estación seca (Figura 11).

El número de muertes en el periodo 1989-2004 presenta una curva similar a la morbilidad, con picos en los años señalados y una letalidad promedio de 29,5%, siendo en el último año la más elevada, alcanzando un 42%. De igual manera, en el total de casos fallecidos, fue predominante el sexo masculino (68%) y en el grupo de 15 a 45 años (67%), en contraste con la letalidad, que es mayor en el sexo femenino (34%) y en el grupo de más de 45 años (45%).

Según los estudios realizados y las estadísticas obtenidas, se observa que el inicio de cada epidemia coincide con las temporadas de siembra, cosechas agrícolas y las variaciones cíclicas en la población de roedores de *Z. brevicauda*. Esto se corresponde con los meses de octubre y noviembre de cada año, y se prolonga hasta los primeros meses del próximo año.

Morbi-mortalidad para Fiebre Hemorrágica Venezolana

La revisión estadística de la patología permite señalar la ocurrencia de 298 casos probables, desde la aparición de la enfermedad en el año 1989 hasta el 31 de diciembre de 2001, con el fallecimiento de 88 casos, lo que genera una letalidad de 30% en el periodo, observándose además la ocurrencia de tres episodios de elevada incidencia o brotes epidémicos de Fiebre Hemorrágica Venezolana en el transcurso de estos 12 años de estudios: un primer brote coincidente con el inicio de la enfermedad en agosto de 1989 finalizando en diciembre de 1991 (97 casos); un segundo brote que se inicia en 1996 hasta finales del 1998 (139 casos); y un tercer episodio que se inicia en el año 2001 y dura hasta 2003, registrándose en esta última epidemia un total de 221 casos probables, con 44 defunciones.

En la actualidad, hasta la semana N° 27 del año 2004, se han presentado 14 casos probables con 2 defunciones (Figura 12).

La Figura 13 muestra la proyección de morbi-mortalidad para FHV, desde 1981 hasta el 2008, donde se refleja un evento muy significativo, grave y preocupante, como es el hecho de acortarse el tiempo interepidémico y aumentar el número de casos probables y fallecidos en la aparición de cada nueva epidemia.

Virus Pirital y Filogenia de los Arenavirus Americanos

Virus Pirital

FAMILIA: Arenaviridae

COMPLEJO: Virus del Nuevo Mundo o Tacaribe Grupo A

ÁCIDO NUCLÉICO: 2 ARN de cadena simple L y S

RESERVORIO: Roedor (*Sigmodon alstoni*)

El virus Pirital es un nuevo arenavirus descubierto en Venezuela en 1997, a raíz de los estudios sobre la ecología de la FHV. Está ampliamente distribuido en Los Llanos centrales y occidentales de Venezuela (Figura 14). El reservorio natural del virus es el roedor *Sigmodon alstoni* (Figura 15) (29-32).

En los estudios clínicos realizados en las poblaciones rurales, donde el virus Pirital es endémico, no existe evidencia de que el mismo sea patógeno para el humano. Sin embargo, los estudios serológicos realizados indican que este virus puede producir infección en el humano pero sin evidencias de manifestaciones clínicas conocidas.

Filogenia de los Arenavirus Americanos

Mediante estudios de secuenciación genómica, utilizando el método de máxima parsimonia mediante el vecino más cercano, se observa que los virus Guanarito y Pirital difieren ampliamente desde el punto de vista de su secuenciación. El virus Guanarito se encuentra dentro del Grupo B de los arenavirus causantes de fiebres hemorrágicas, mientras que el virus Pirital se encuentra en el Grupo A junto con los arenavirus que no están asociados con infecciones clínicas conocidas en humanos (Figura 16) (32-35).

Diagnóstico de la Fiebre Hemorrágica Venezolana

Toma, conservación y transporte de las muestras para el diagnóstico de laboratorio de la Fiebre Hemorrágica Venezolana

Las muestras deben ser tomadas bajo estrictas medidas de esterilidad y bioseguridad. Pueden ser conservadas hasta por 24 horas a -4°C y enviadas inmediatamente al laboratorio de aislamiento viral del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) o al Centro de Investigaciones de Virosis Hemorrágicas y Enfermedades Transmisibles (CIVIHET). En caso de almacenamiento, conservarlas a -80°C , es decir, ultrabaja temperatura o en nitrógeno líquido, hasta su posterior envío y procesamiento.

Ya que es necesaria la implementación de medidas de bioseguridad y esterilidad de las muestras biológicas recolectadas para los estudios de laboratorio, se recomienda la utilización de crioviales para efectos de almacenamiento y transporte (envío) de las muestras. El empleo de guantes, tapabocas, tubos y camisas Vacutainer es muy importante. En el caso de pacientes con diagnóstico clínico probable de FHV, pacientes ingresados en la UCI y fallecidos, es indispensable el uso de equipos de protección de alta seguridad.

En el caso de muestras serológicas para estudios de aislamiento viral, es recomendable que el volumen de suero sea suficiente para la realización de todos los estudios virales, y debe ser dispensado en el criovial hasta que sólo ocupe la marca indicada en el mismo, ya que cuando se congela el líquido, el sólido formado ocupa mayor espacio, lo cual implica un alto riesgo biológico, pues el criovial puede romperse o explotar.

El envío debe hacerse en recipientes especiales según los patrones establecidos para el transporte de muestras biológicas de alto riesgo infeccioso. En caso de pacientes fallecidos, debe realizarse la autopsia. Se toman pequeños fragmentos de tejido (pulmón, hígado, bazo), se colocan en viales individuales sin agregarle formol ni solución salina, se rotulan con la identificación del paciente y se envían inmediatamente las muestras refrigeradas a Epidemiología o a la Coordinación de Estudios de Fiebre Hemorrágica Venezolana. Si se envían directamente al Instituto Nacional de Higiene, hacerlo en suficiente hielo seco.

Diagnóstico de laboratorio de la Fiebre Hemorrágica Venezolana

Aislamiento Viral

El diagnóstico etiológico específico de la FHV puede hacerse mediante el aislamiento e identificación del virus Guanarito a partir de muestras serológicas seriadas, tomadas durante la fase aguda de la enfermedad, es decir, al 1, 3, 5, 7 y 10 días del inicio del cuadro clínico o a partir de sangre y tejidos en los casos fatales. La utilización de líneas celulares, tales como células Vero E-6 y posterior aplicación de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), empleando anticuerpos monoclonales específicos contra el virus Guanarito, permite confirmar el posible aislamiento del agente viral.

RT-PCR

Mediante la amplificación parcial del ARN viral, por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, utilizando transcriptasa reversa (RT-PCR) y primers específicos para el virus Guanarito, se puede lograr un diagnóstico confirmatorio de la FHV.

Serología

También se puede utilizar la detección de anticuerpos específicos clase Ig G en muestras de suero recolectadas en la fase convaleciente de la enfermedad, es decir, a los 5, 7, 10, 15, 40 y 70 días, utilizando la técnica de IFI cuantitativa o el ensayo inmunoenzimático ELISA, para la detección de anticuerpos clase específicos tipo Ig M e Ig G.

Esquema cronológico de toma y número de muestras a coleccionar

	1	3	5	7	10	15	40	70
Estudio Serológico	X		X		X	X	X	X
Aislamiento viral	X	X	X	X	X			
PCR	X	X		X				

Tratamiento antiviral, Prevención y Control de la Fiebre Hemorrágica Venezolana

La Ribavirina ha demostrado ser muy efectiva en infecciones por virus Lassa en monos *Macacus rhesus* y seres humanos. La administración de Ribavirina por vía intravenosa a pacientes con fiebre de Lassa en los primeros días de la enfermedad, reduce el riesgo de morir de un 55% a 5%. La dosis inicial es de 1 gr. seguida por 1 gr. diario administrado en cuatro dosis por cuatro días, y luego 0,5 grs. diarios por seis días. La Ribavirina oral también ha sido efectiva reduciendo la tasa de mortalidad en pacientes con esta enfermedad, recomendándose 2 gr. como dosis inicial seguida de 1 gr diario administrado en tres dosis durante 10 días.

La Ribavirina ha tenido actividad antiviral contra el virus Junín y Guanarito *in vitro*, así como en el tratamiento de pacientes con FHA. Recientemente se ha demostrado la efectividad antiviral de esta droga en el tratamiento de uno de los investigadores que se infectó accidentalmente en el laboratorio cuando trabajaba con virus Sabiá. La administración de Ribavirina durante los tres primeros días de la aparición de los síntomas modificó el curso y severidad de la enfermedad (36-40).

En la actualidad, se diseña un protocolo clínico terapéutico de Ribavirina para demostrar su eficacia en los pacientes con Fiebre Hemorrágica Venezolana.

Participación Comunitaria para la prevención y control de la Fiebre Hemorrágica Venezolana

Debido a las características propias de la Fiebre Hemorrágica Venezolana, para su prevención y control se requiere una amplia y efectiva participación de la comunidad, tanto en las áreas endémicas como en las zonas de riesgo. Esta participación debe ir acompañada de acciones institucionales locales y regionales. En tal sentido, se recomienda realizar las siguientes acciones:

1. Conformar equipos multidisciplinarios locales y regionales, con el objetivo de impulsar acciones articuladas que busquen la participación de los habitantes de las comunidades de las áreas endémicas y de riesgo en sus propios procesos de cambio.
2. Detectar líderes comunitarios de la zona, con el fin de capacitarlos e incorporarlos como agentes de cambio.
3. Desarrollar una campaña de sensibilización y motivación en las comunidades de las áreas endémicas y de riesgo, a través de reuniones y talleres.
4. Realizar un diagnóstico participativo en las comunidades previamente motivadas, para lograr sistematizar el conocimiento de su realidad y de su práctica. Establecer un plan de acción y conseguir acuerdos y compromisos entre la comunidad y las instituciones involucradas, fortaleciendo así la capacidad organizativa de la comunidad.
5. Conformar un grupo comunitario en cada zona endémica o de riesgo, que se encargue de realizar un monitoreo permanente.
6. Desarrollar actividades de información y capacitación en las comunidades de las zonas endémicas y de riesgo.

Prácticas generales para evitar la infestación de las viviendas por roedores

- Utilizar malla de acero o cemento para sellar, aislar o cubrir todos los orificios que existan en la vivienda, con un diámetro de 0,5 cm o mayor.
- Instalar protectores metálicos como barrera contra roedores, alrededor de la base de habitaciones de madera, arcilla o adobe, hasta una altura de 30 cm y una profundidad de 15 cm.
- Colocar 10 cm de grava debajo de la base de las viviendas u otras casas rodantes, para evitar que los roedores hagan túneles.
- Disminuir las posibilidades de que los roedores hagan madrigueras y cuenten con alimentos, en un radio de 30 metros alrededor de la vivienda.
- Cortar yerbas, arbusto y malezas densas en un radio de 30 metros alrededor de la vivienda.
- Utilizar cimientos altos de cemento en la construcción de cobertizos, establos, anexos o depósitos de leñas.
- En la medida de lo posible, situar los depósitos de leña a una distancia de 30 metros o mayor de las casas y procurar que los leños estén separados unos 30 cm del suelo.
- Almacenar los granos y alimentos para animales en recipientes a prueba de roedores.
- Eliminar los elementos que pudieran atraer a los roedores cerca de las casas, y almacenar los alimentos y el agua en recipientes a prueba de roedores.
- No dejar alimento para mascotas en sus platos o bandejas.
- Colocar la basura y los desperdicios en recipientes a prueba de roedores que estén como mínimo a 30 cm de altura del suelo.
- Tirar en sitios lejanos basura, vehículos abandonados, neumáticos desechados u otros artículos que pudieran servir de nido a los roedores.

Referencias

1. **Baize S, Marianneau P, Georges-Courbot MC, Deubel V.** Recent advances in vaccines against viral hemorrhagic fevers. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14: 513-8.
2. **Barry M, Russy M, Armstrong L, Geller D, Tesh RB, Dembry L, et al.** Brief report: Treatment of a laboratory acquired Sabia virus infection. *N Engl J Med* 1995; 33: 294-6.
3. **Bowen MD, Peters CJ, Nichol ST.** Phylogenetic analysis of the Arenaviridae: patterns of virus evolution and evidence for co-speciation between arenaviruses and their rodent host. *Mol Phylogen Evol* 1997; 8: 301-16.
4. **Bowen MD, Rollin PE, Ksiasek TG, Hustad HL, Bausch DG, Demby AH, Bajani MD, Peters CJ, Nichol ST.** Genetic diversity among Lassa virus strains. *J Virol* 2000; 74: 6992-7004.
5. **Buchmeier MJ, Clegg JCS, Franze-Fernandez MT, Kolakofsky D, Peters CJ, Southern PJ.** Family Arenaviridae. In: *Virus Taxonomy: Sixth report of the International Committee on taxonomy of viruses.* Murphy FA, Fauquet CN, Bishop DHL, Ghabrial SA, Jarvis AW, Martinelli GP, et al, Eds. New York: Springer-Verlag: 1995. pp: 319-23.
6. **Charrel RN, Lemasson JJ, Garbutt M, Khelifa R, De Micco P, Feldmann H et al.** New insights into the evolutionary relationships between arenaviruses provided by comparative analysis of small and large segment sequences. *Virology* 2003; 317: 191-6.

7. **Coimbra TLM, Nassar ES, Burattini MN, Madia de Sousa LT, Ferreira IB, Rocco IM, et al.** New arenavirus isolated in Brazil. *Lancet* 1994; 343: 391-2.
8. **Damonte EB, Music SE, Coto CE.** Response of cells persistently infected with arenaviruses to superinfection with homotypic and heterotypic virus. *Virology* 1983; 129: 474-78.
9. **De Manzione N, Salas RA, Paredes H, Godoy O, Rojas L, Araoz F, et al.** Venezuelan Hemorrhagic Fever: clinical, and epidemiological studies of 165 cases. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 308-16.
10. **Enria D, Barrera JG.** Junin virus vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002; 263: 239-61.
11. **Enría D, Feuillade M R.** Argentine hemorrhagic fever (Junin virus-Arenaviridae). A review on clinical, epidemiological, ecological, treatment and preventive aspects of the disease. In: An overview of arbovirology in Brazil an neighboring countries. Travaços da Rosa AP, Vasconcelos PFC, Travaços da Rosa JFS, Eds. Belem, Brazil: Institute Evandro Chagas. 1998. pp: 219-28.
12. **Enria DA, Feuillade MR, Levis S, Briggiler AM, Ambrosio AM, Saavedra MC, Becker JL, Riera G, Calderon N, Sottosanti J, Avilés G, García J, Sabattini M.** Impact of vaccination of a high-risk population for Argentine Hemorrhagic Fever with a live –attenuated Junin virus vaccine. In: Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral diseases (Hantaviral and Arenal Diseases). Saluzzo JF, Dodet B Eds. Editions Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS. 1999.
13. **Fulhorst C, Bowen M, Salas RA, de Manzione N, Duno G, Utrera T, Ksiasek P, Nichol S, de Miller E, Tovar D, Ramos B, Vásquez C, Tesh R.** Isolation and characterization of Pirital virus a newly discovered South American arenavirus. *Am J Trop Med* 1997; 56(5): 548-53.
14. **Fulhorst CF, Bowen MD, Salas RA, Duno G, Utrera A, Ksiasek NM, de Manzione N, de Miller E, Vásquez C, Peters CJ, Tesh RB.** Natural rodent associations of Guanarito and Pirital viruses (Family Arenaviridae) in central Venezuela. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 167-84.
15. **Gonzalez JP, Bowen ST, Nichol ST, Rico-Hesse R.** Genetic characterization and phylogeny of Sabia virus, an emergent pathogen in Brazil. *Virology* 1996; 221: 318-24.
16. **Harrison LH, Halsey NA, McKee Jr KT, Peters CJ, Barrera Oro JG, Briggiler AM, Feuillade MR, Maiztegui JI.** Clinical case definitions for Argentine Hemorrhagic Fever. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 1091-94.
17. **Johnson KM, Kuns ML, Mackenzie RB, Webb PA, Yunker CE.** Isolation of Machupo virus from wild rodent *Calomys callosus*. *Am J Trop Med Hyg* 1966; 15: 103-6.
18. **Johnson KM, McCormick JB, Webb PA, Smith ES, Elliott LH, King IJ.** Clinical virology of Lassa fever in hospitalised patients. *J Infect Dis* 1987; 155: 456-64.
19. **Mackenzie RB, Beye HK, Valucide ChL, Garron H.** Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia 1: A preliminary report of the epidemiology and clinical findings in a new epidemic area in South America. *Am J Med* 1964; 13: 620-5.
20. **Maiztegui JL.** Clinical and epidemiological patterns in Argentine Hemorrhagic Fever. *Bull WHO* 1975; 52: 567-75.
21. **McCormick JB.** Lassa fever. Factors in the emergence and control of rodent-borne viral diseases. (Hantaviral and Arenal diseases). Saluzzo JF, Dodet B, Eds. Editions Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS. 1999. pp: 177-95.
22. **Mills JN, Ellis BA, Childs JE, McKee Jr KT, Maiztegui JI, Peters CJ, Ksiasek TG, Jahrling PB.** Prevalence on infection with Junin virus in rodent populations in the epidemic area of Argentine Hemorrhagic Fever. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 554-62.

23. **Mills JN, Ellis BA, McKee Jr KT, Ksiasek TG, Oro JG, Maiztegui JI, Calderón GE, Peters CJ, Childs JE.** Junin virus activity in rodents from endemic and nonendemic loci in central Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 44: 589-97.
24. **Moncayo AC, Hice CL, Watts DM, Travassos da Rosa AP, Guzman H, Russell KL, Calampa C, Gozalo A, Popov VL, Weaver SC, Tesh RB.** Allpahuayo virus: a newly recognized arenavirus (Arenaviridae) from arboreal rice rats (*Oecomys bicolor* and *Oecomys paricola*) in northeastern Peru. *Virology* 2001; 284: 277-86.
25. **Peter JS.** Arenaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, *et al*, Eds. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996. pp: 1505-19.
26. **Peters CJ, Buchmeier M, Rollin PE, Ksiasek TG. Arenavirus.** In: **Fields Virology**. Fields BN, Knipe DM, Howley PM, *et al*, Eds. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996. pp: 1521-51.
27. **Peters CJ.** Hemorrhagic Fevers: How they wax and wane. In: *Emerging Infections*. Scheld WM, Armstrong D, Hughes JM, Eds. ASM Press Washington D.C. 1998. pp: 15-25.
28. **Peters CJ.** Human infection with arenavirus in the Americas. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002; 262: 65-74.
29. **Ricco-Hesse R.** Vaccines for emergent American arenaviruses. In: *Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases (Hantaviral and Arenal Diseases)* Saluzzo JF, Dodet B Eds. Edition Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS 1999. pp: 267-80.
30. **Rodriguez F, Harkins S, Lindsay Whitton J.** DNA immunization against arenaviruses. In *Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases (Hantaviral and Arenal Diseases)*. Saluzzo JF, Dodet B Eds. Editions Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS 1999. pp: 257-65.
31. **Salas RA, de Manzione N, Tesh RB, Rico-Hesse R, Shope RE, Betancourt A, Godoy O, Bruzual R, Pacheco ME, Ramos B, Taibo ME, Tamayo JG, Jaimes E, Vásquez C, Araoz F, Querales J.** Venezuelan hemorrhagic fever. *Lancet* 1991; 338: 1033-6.
32. **Salas RA, de Manzione N, Tesh RB.** Venezuelan Hemorrhagic Fever: eight years of observation. *Acta Científica Venezolana* 1998; 49(1): 46-51.
33. **Salas RA, Miller E, Borges R, Tovar D, Vásquez C, Ramos B, Hernández R, Cáceres B, Morón D, Fernández Z, Duno G, Utrera A, de Manzione N, Fulhorst CF, Tesh RB.** Incidencia de la infección por virus Pirital en roedores de la especie *Sigmodon alstoni*. Efectos de la infección sobre la especie. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"* 1998; 29: 25-30.
34. **Scott W, Salas RA, de Manzione N, Fulhorst CF, Travassos da Rosa APA, Duno G, Utrera A, Mills J, Ksiasek TG, Tovar D, Guzmán H, Kang W, Tesh RB.** Extreme genetic diversity among Pirital virus (Arenaviridae) isolates from western Venezuela. *Virology* 2001; 285: 110-8.
35. **Stinebaugh BJ, Schlooder FX, Johnson KM, Mackenzie RB, Entwisle G, de Alba E.** Bolivian hemorrhagic fever: a report of four cases. *Am J Trop Med Hyg* 1966; 40: 217-30.
36. **Tesh RB, Jahring PB, Salas RA, Shope RE.** Description of Guanarito virus (Arenaviridae: Arenavirus), the etiologic agent of Venezuelan Hemorrhagic Fever. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50: 452-59.
37. **Tesh RB, Salas RA, Fulhorst CF, de Manzione N, Duno G, Weaver SC, Utrera A, Paredes H, Ellis BA, Mills JN, Bowen MD, Ksiasek TG.** Epidemiology of Arenaviruses in the Americas. In: *Factors in the Emergence and Control of Rodent-*

- borne Viral Diseases (Hantaviral and Arenal Diseases). Saluzzo JF, Dodet B, Eds. Editions Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS. 1999. pp: 213-21.
38. **Tesh RB, Wilson ML, Salas RA, de Manzione N, Tovar D, Ksiasek TG, Peters CJ.** Field studies on the epidemiology of Venezuelan Hemorrhagic Fever: implication of the cotton rat *Sigmodon alstoni* as the probable rodent reservoir. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 49: 227-35.
 39. **Vainrub B, Salas RA.** Latin American Hemorrhagic Fever. *Diseases of Latin American* 1994; 8 (1): 47-59.
 40. **Weaver S, Salas RA, de Manzione N, Fulhorst CF, Duno G, Utrera A, Mills JN, Ksiasek TG, Tovar D, Tesh RB.** Guanarito virus (Arenaviridae) isolates from endemic and outlying localities in Venezuela sequence. Comparisons among and within strains isolated from Venezuelan Hemorrhagic Fever patients and rodents. *Virology* 2000; 266: 189-95.



Figura 1. Distribución geográfica de los Arenavirus en América y sus reservorios



Figura 2. *Zygodontomys brevicauda*

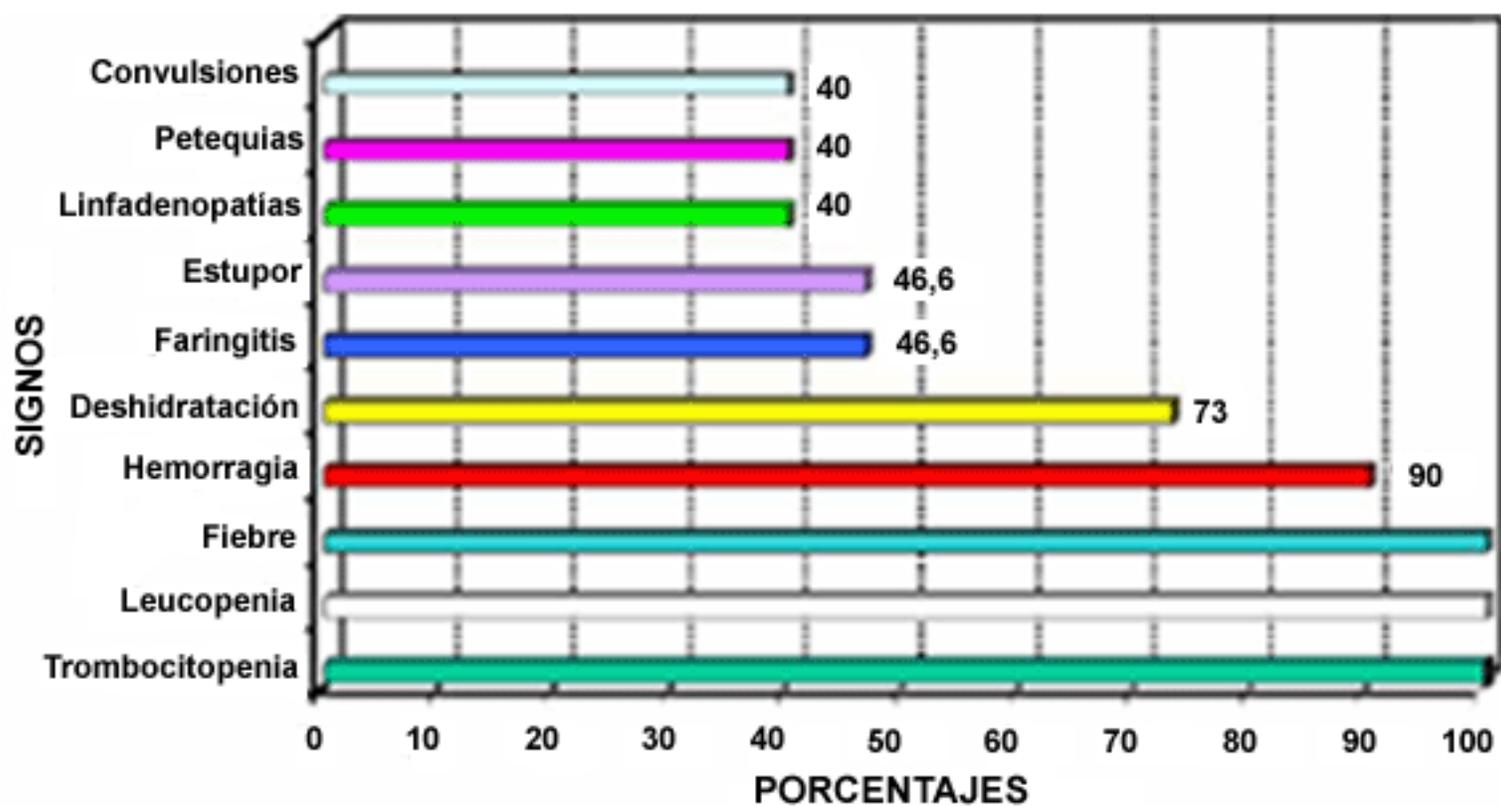


Figura 3. Frecuencia de signos en pacientes con Fiebre Hemorrágica Venezolana. Estado Portuguesa 1990 – 2004

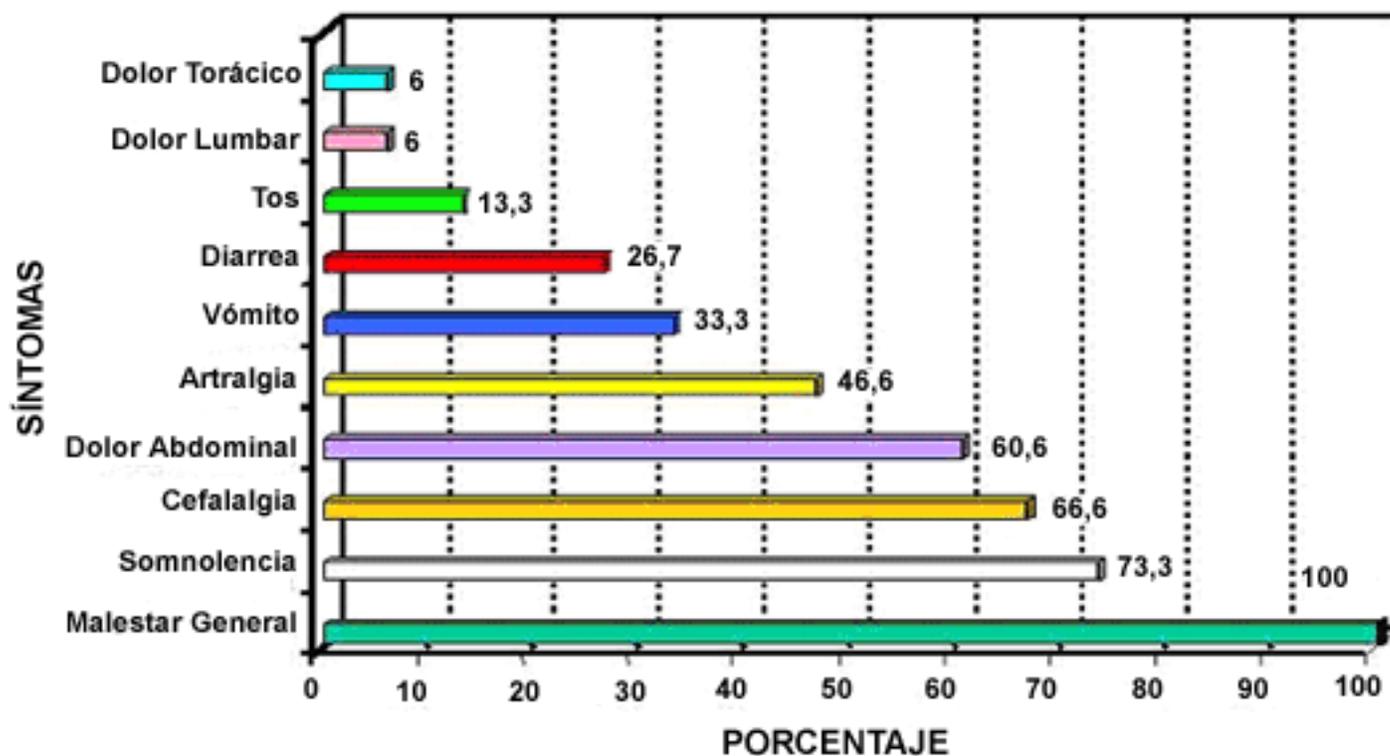


Figura 4. Frecuencia de síntomas en pacientes con Fiebre Hemorrágica Venezolana. Estado Portuguesa 1990 – 2004

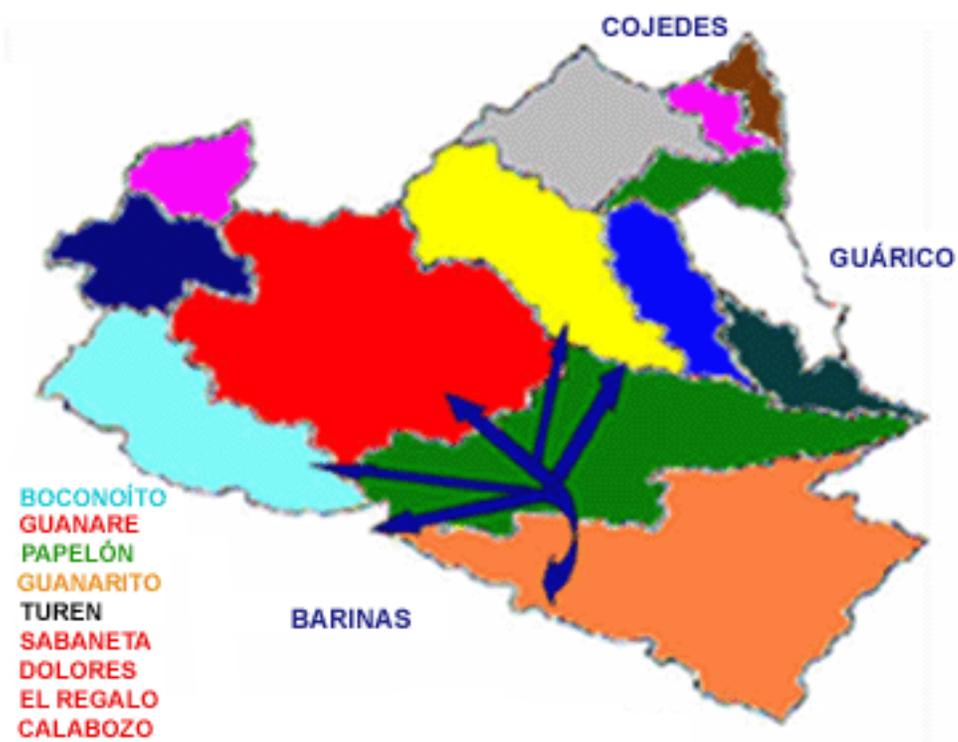


Figura 5. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Onda Epidémica por entidades federales. Venezuela, estado Portuguesa. 1989 - 2001

FUENTE: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN FIEBRE HEMORRÁGICA VENEZOLANA



Figura 6. Distribución de áreas endémicas y de riesgo en humanos para Fiebre Hemorrágica Venezolana

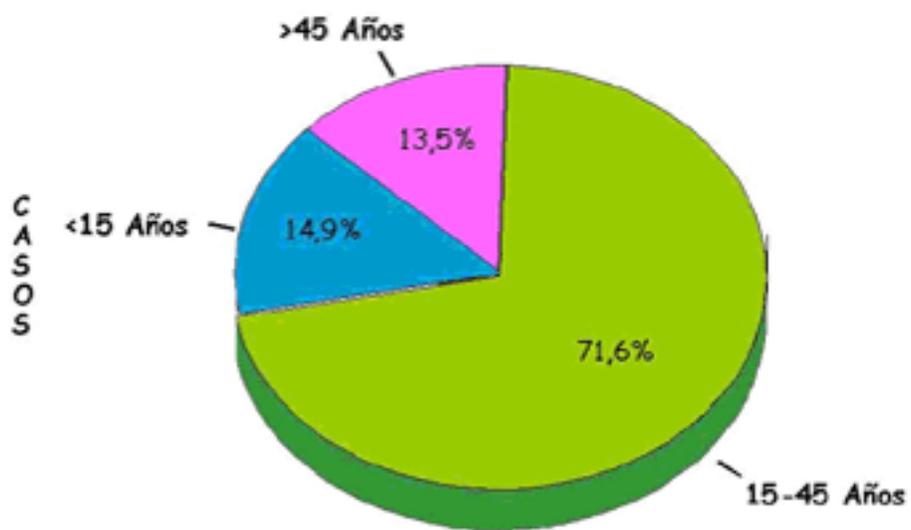


Figura 7. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Morbilidad según grupos de edad. Cifras absolutas. Estado Portuguesa 1990 – 2004

FUENTE: FICHAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS

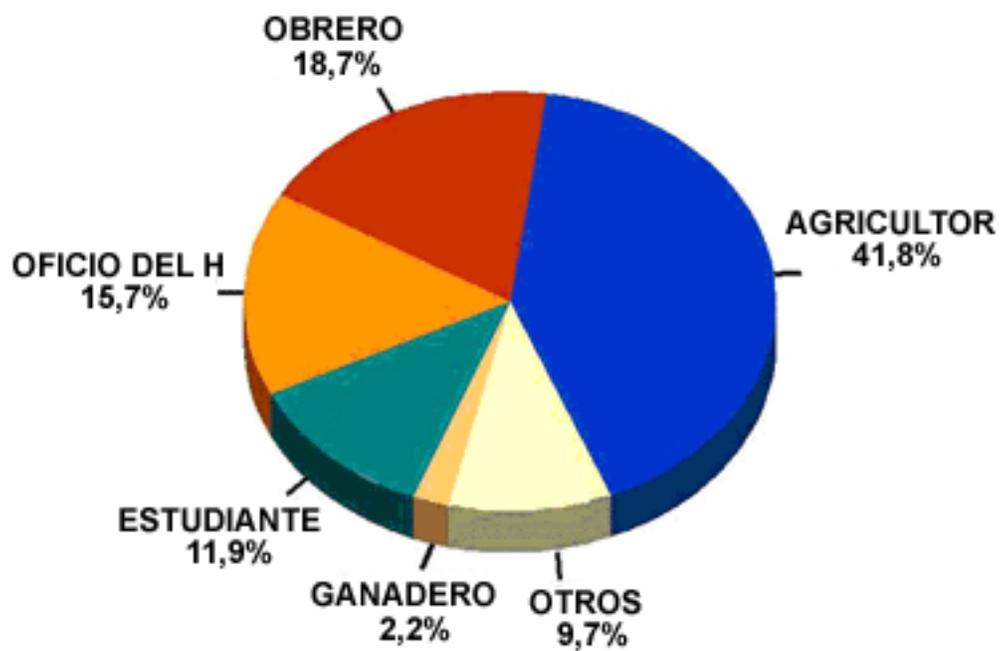


Figura 8. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Morbilidad según ocupación. Cifras relativas. Estado Portuguesa 1989 – 2004.

FUENTE: FICHA CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

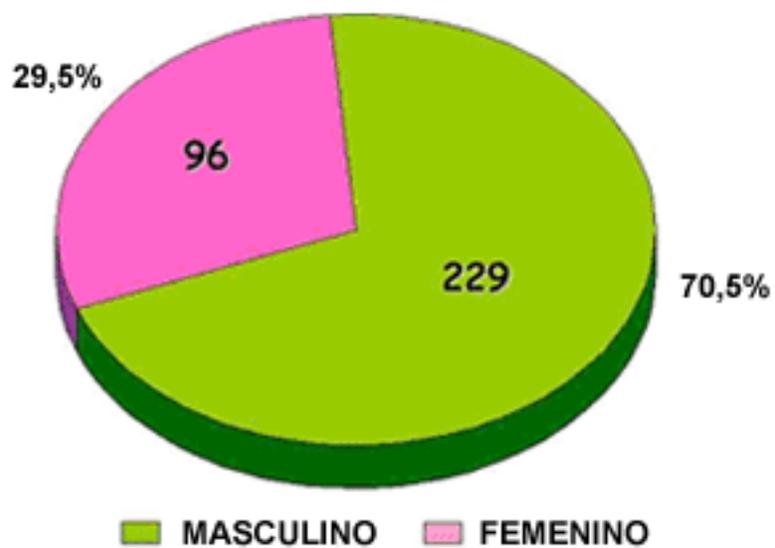


Figura 9. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Morbilidad según sexo.
Cifras absolutas y relativas. Estado Portuguesa 1989 – 2004.

FUENTE: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN FIEBRE HEMORRÁGICA VENEZOLANA

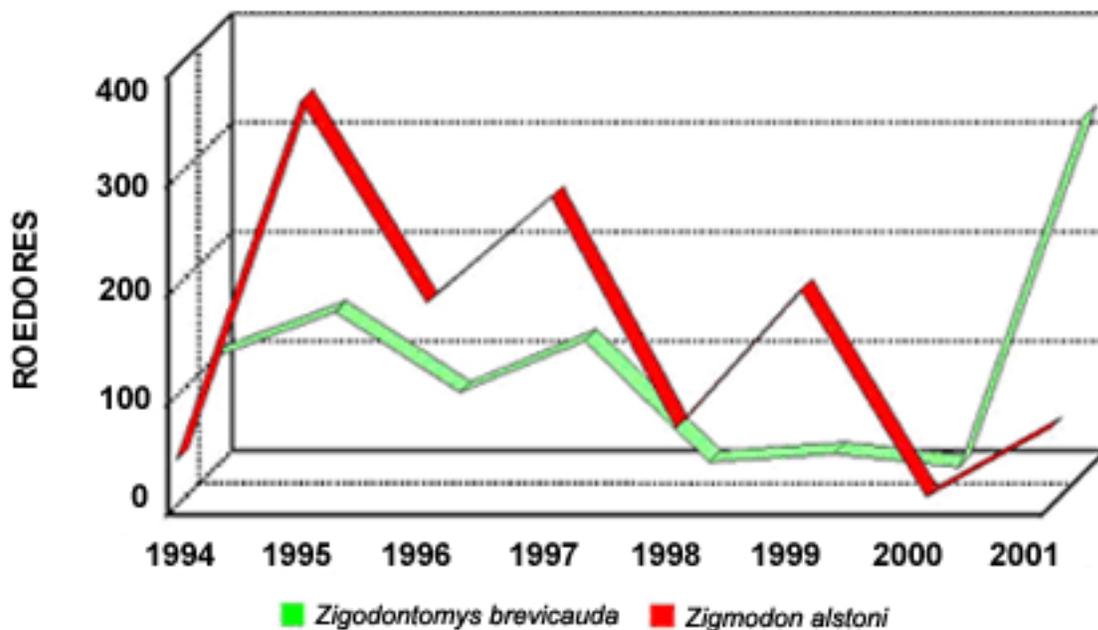


Figura 10. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Roedores capturados en cuadrícula fija. Cifras absolutas. Caseríos Caño Delgadito y Papayito. Estado Portuguesa 1994 – 2001.

FUENTE: PROGRAMA FIEBRE HEMORRÁGICA VENEZOLANA

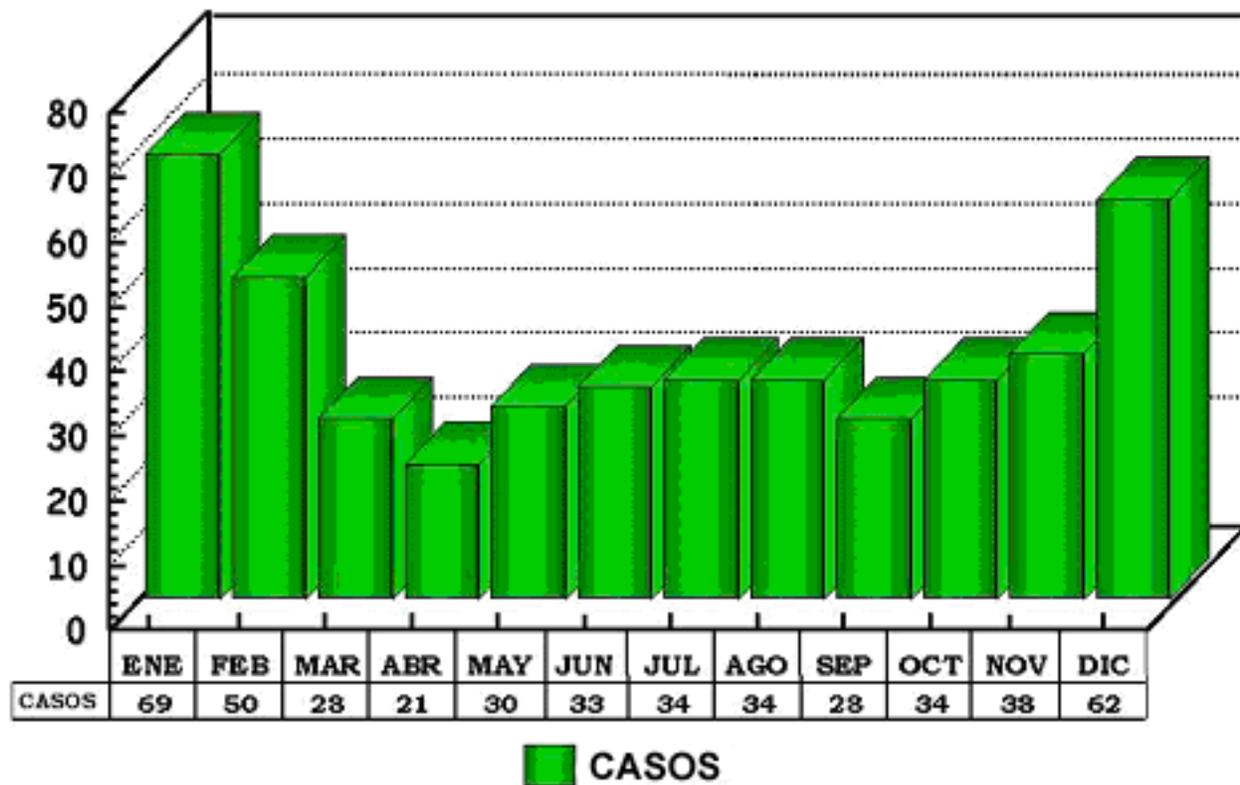
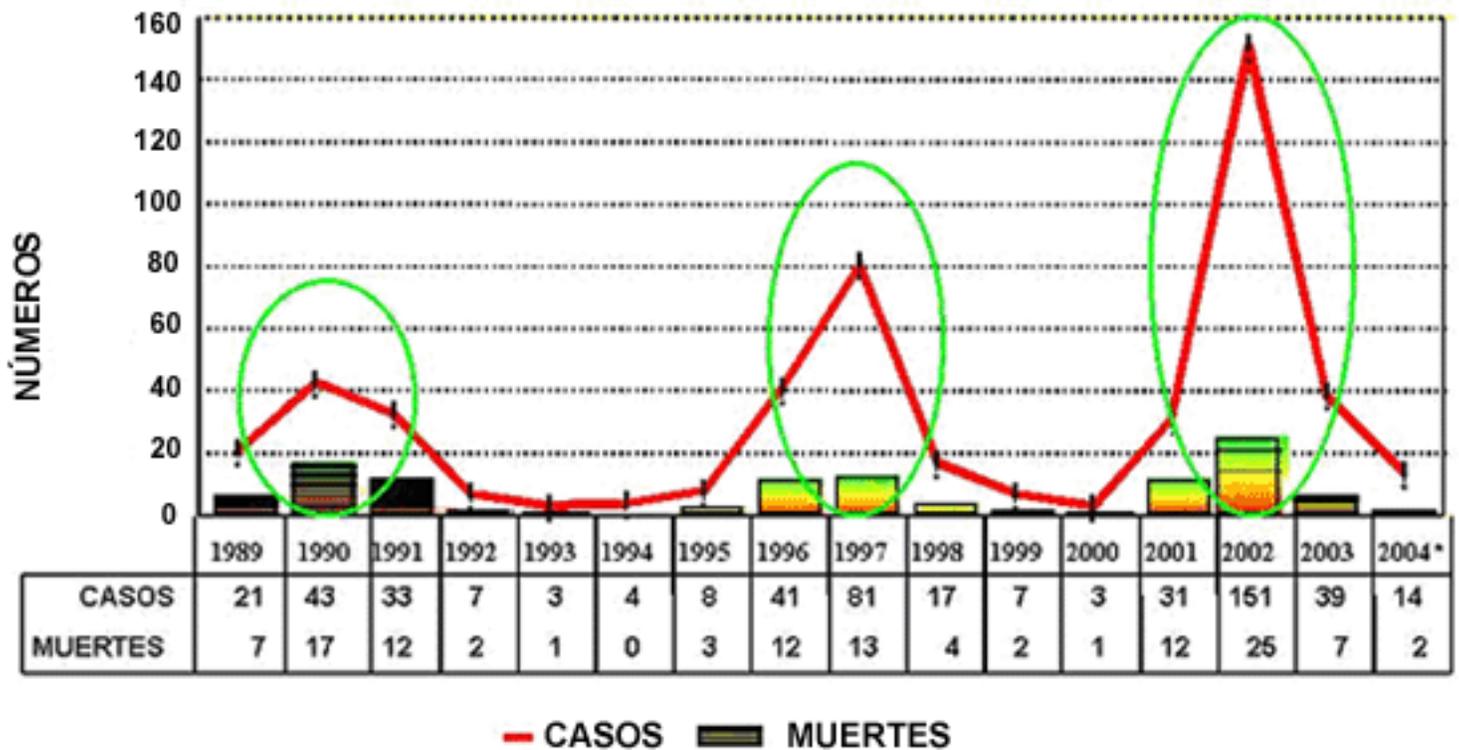


Figura 11. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Morbilidad de casos probables según mes de hospitalización. Cifras absolutas. Estado Portuguesa 1989 – 2003.

FUENTE: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN. PROYECTO F.H.V.



+Hasta la semana epidemiológica 27

Figura 12. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Morbi-mortalidad. Cifras absolutas. Estado Portuguesa 1989 – 2004

FUENTE: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN. PROGRAMA FIEBRE HEMORRÁGICA VENEZOLANA

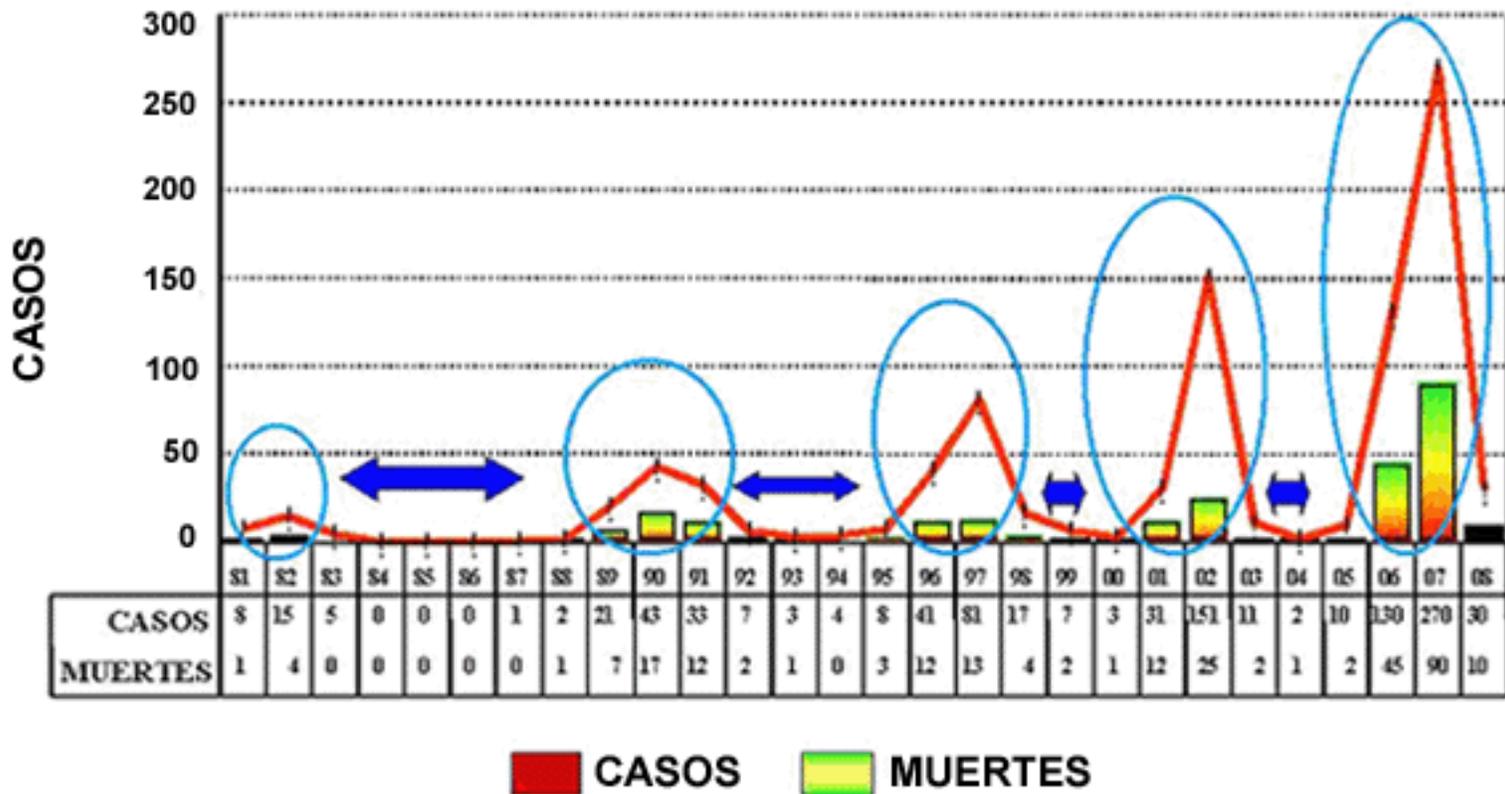


Figura 13. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Proyección de morbi-mortalidad. Cifras absolutas. Estado Portuguesa 1981 – 2008.

FUENTE: UNIDAD DE INVESTIGACIÓN. PROGRAMA FIEBRE HEMORRÁGICA VENEZOLANA.

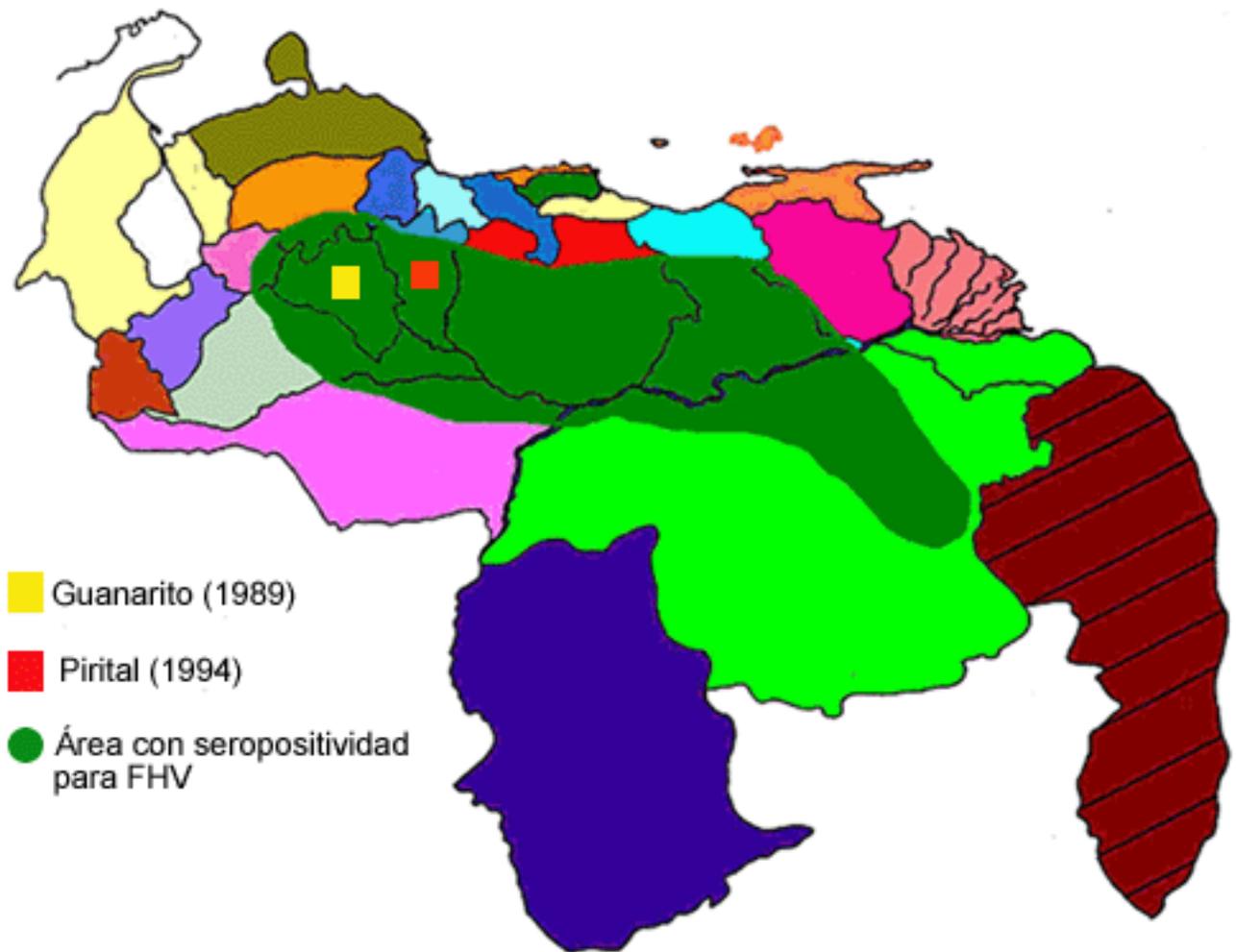


Figura 14. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Muestreo de Roedores. 1990 – 2004.



Figura 15. *Sigmodon alstoni*

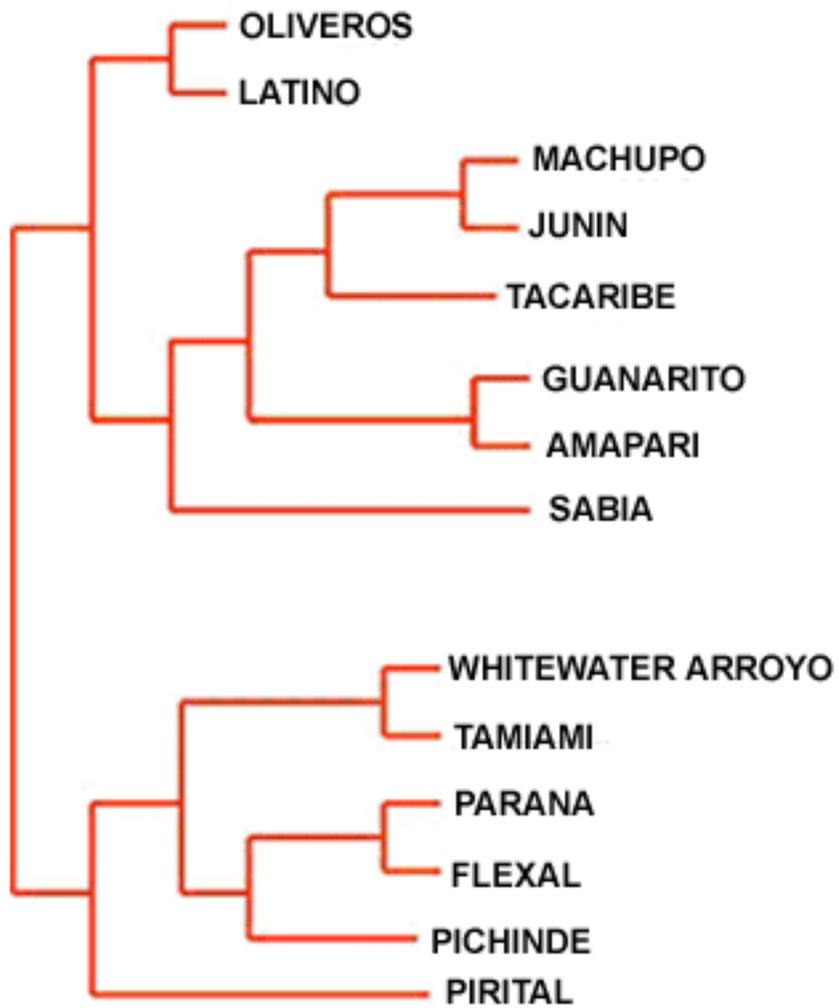


Figura 16. Árbol filogenético de los Arenavirus del Nuevo Mundo

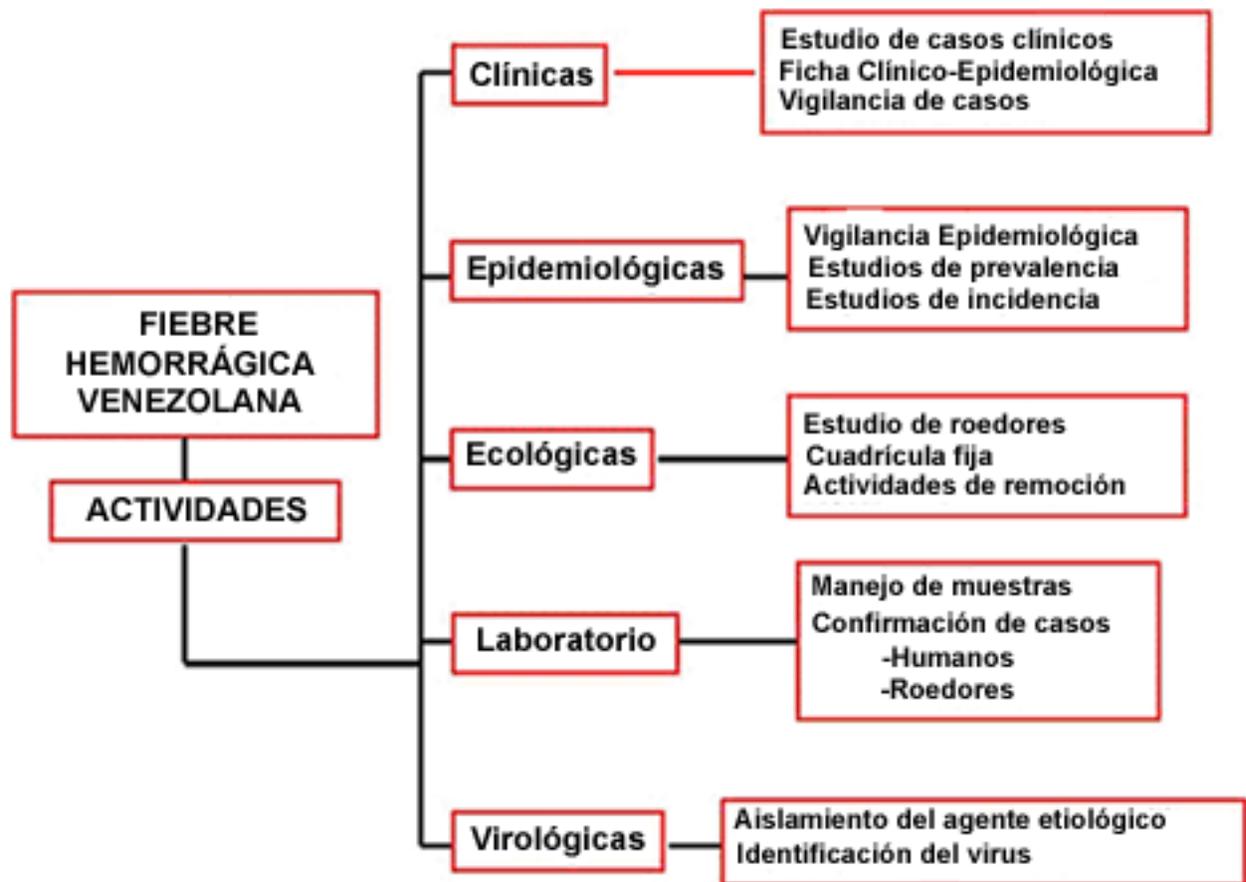


Figura 17. Fiebre Hemorrágica Venezolana. Actividades