



Universidad Mayor San Andrés
Universidad de Barcelona
Vicerrectorado
Centro Psicopedagógico y de Investigación en Educación Superior

ESTUDIO DE CASOS DE FIEBRE HEMORRÁGICA BOLIVIANA EN EL DEPARTAMENTO DEL BENI - BOLIVIA DURANTE LOS AÑOS 2004 – 2013

*Tesis presentada a la Universitat de
Barcelona en convenio con la
Universidad Mayor de San Andrés para la
obtención del grado de Master en
Medicina Tropical y Salud Internacional
de las bio-regiones bolivianas.*

Maestrante: Valeria Brückner Cuéllar

Auspicio: AGENCIA DE COOPERACIÓN ESPAÑOLA



LA PAZ

2015

**ESTUDIO DE CASOS DE FIEBRE HEMORRÁGICA BOLIVIANA EN EL
DEPARTAMENTO DEL BENI - BOLIVIA DURANTE LOS AÑOS 2004 – 2013**

*Tesis presentada a la Universitat de
Barcelona en convenio con la
Universidad Mayor de San Andrés para la
obtención del grado de Master en
Medicina Tropical y Salud Internacional
de las bio-regiones bolivianas.*

Maestrante: Valeria Brückner Cuéllar

Tutor técnico: Dra. Arletta Añez Valdez

Tutor metodológico: Dr. Carlos Ascaso Terren

La Paz – Bolivia

2014

CARTA DE COMPROMISO PARA CEDER DERECHO DE PUBLICACIÓN A LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Al presentar ésta tesis como uno de los requisitos previos para la obtención del Grado Académico de Magister en Medicina Tropical y Salud Internacional de la Universidad de Barcelona previo convenio con la Universidad Mayor de San Andrés, autorizo al Departamento de Salud Pública de la U.B o a la Biblioteca de la Universidad, para que se haga de ésta tesis un documento disponible para su lectura según las Normas de la Universidad.

Asimismo, manifiesto mi acuerdo en que se utilice como material productivo, dentro del Reglamento de Ciencia y Tecnología (convenio interuniversitario) siempre y cuando esta utilización no suponga ganancia económica ni potencial.

También cedo a la Universidad de Barcelona los derechos de publicación de ésta Tesis, o de parte de ella, manteniendo mis derechos de autor, hasta un periodo de 30 meses después de su aprobación.

Valeria Brückner Cuéllar

La Paz, Febrero 2015

AGRADECIMIENTO

A la Cooperación Española, por haberme permitido llegar a la culminación de la Maestría.

Al Ministro de Salud, por darnos la oportunidad de participar en ésta Maestría.

Al Hospital Boliviano Canadiense “Santa María Magdalena”, por comprender los permisos para asistir a la Maestría.

Al CEPIES, por abrirnos un espacio en el ámbito académico.

Al equipo de la U.B., Dr. Carlos Ascaso Terren por todo el apoyo, motivación impartida, compartiendo sus conocimientos que nos inspiraron respeto y una profunda admiración.

A los Docentes Nacionales, Latinoamericanos y Europeos por transmitir sus conocimientos y la dedicación para la culminación de ésta Maestría.

A la Coordinadora de Bolivia, Dra. Judith Caballero por su apoyo y su comprensión incondicional.

A Dios, por las bendiciones recibidas, por acompañarme durante el proceso de formación para la culminación de la Maestría.

DEDICATORIA

A mi madre por su comprensión, confianza, apoyo incondicional.

A mi padre por guiar mis pasos.

A mis hermanos por su apoyo y motivación.

A mi tía y primos por su apoyo incondicional.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	12
a)	ARENNAVIRUS	14
b)	FIEBRE HEMORRÁGICA BOLIVIANA.....	18
2.	JUSTIFICACIÓN	35
3.	HIPÓTESIS	36
4.	OBJETIVOS	37
a)	OBJETIVO GENERAL.....	37
b)	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
5.	Material y métodos	37
a)	Diseño del estudio.....	37
b)	Población y muestra	37
c)	Operacionalización de las variables	38
d)	HERRAMIENTAS DE MEDICIÓN	40
e)	MÉTODOS ESTADÍSTICOS	40
6.	RESULTADOS	41
a)	Medidas de frecuencia	41
b)	Tablas de asociación.....	48
7.	Discusión	¡Error! Marcador no definido.
8.	Recomendaciones.....	58
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	60
10.	ANEXOS	66
a)	ANEXO 1.....	66
b)	ANEXO 2.....	67

c) ANEXO 3.....	68
d) ANEXO 4.....	70
e) Tabla 15.- Cronograma de actividades.....	72
11. CONSENTIMIENTO INFORMADO	lxxiii

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Lista de Abreviaturas.....	9
Tabla 2 Operacionalización de las variables procesadas en la investigación.	38
Tabla 3 Promedio de la edad en individuos que contrajeron FHB, según sexo.	41
Tabla 4 Lugar probable de infección	45
Tabla 5 Relación del municipio de contagio y el centro de salud donde fue atendido	47
Tabla 6 Comportamiento del paciente y el centro de salud frente a la sospecha de fiebre hemorrágica boliviana	47
Tabla 7 Asociación entre los síntomas y signos de la FHB y la mortalidad por la enfermedad, en la primera semana.....	48
Tabla 8 Asociación entre los síntomas y signos de la FHB y la mortalidad por la enfermedad, en la segunda semana.	49
Tabla 9 Asociación de los laboratorios y la mortalidad de los individuos en la primera semana.	51
Tabla 10 Asociación de los laboratorios y la mortalidad de los individuos en la segunda semana.....	51
Tabla 11 Asociación de los laboratorios y la mortalidad de los individuos en la tercera semana.	51
Tabla 12 Tiempo entre el inicio de síntomas y el tratamiento con plasma inmune....	53
Tabla 13 Relación entre la administración de plasma inmune antes del octavo día y la mortalidad en la FHB.....	54
e) Tabla 15.- Cronograma de actividades.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Área endémica de FHV	13
Figura 2 a) Micrografía electrónica, b) Ilustración de un arenavirus (Bergold et al) .	15
Figura 3 Filogenia de los arenavirus del nuevo mundo	17
Figura 4 Ciclo de vida de arenavirus	18
Figura 5 Área endémica de FHB	20
Figura 6 Reservorio de FHB; Calomys callosus	24

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfica 1 Distribución de los casos de FHB según grupo de edades.....	42
Gráfica 2 Distribución anual de los casos de fiebre hemorrágica boliviana.....	42
Gráfica 3 Distribución mensual de los casos de fiebre hemorrágica boliviana.	43
Gráfica 4 Distribución de la FHB según trimestres.....	44
Gráfica 5 Distribución de los casos según el municipio de contagio	44
Gráfica 6 Municipio de atención de casos de FHB.....	46
Gráfica 7 Resumen de la comparación de medias de leucocitos en las tres semanas, en individuos con FHB.	52
Gráfica 8 Resumen de la comparación de medias de plaquetas en las tres semanas, en individuos con FHB.	52

Tabla 1 Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Significado
FHB	Fiebre Hemorrágica Boliviana
ARN	Ácido Ribonucleico
FHV's	Fiebre Hemorrágicas Víricas
USA	United States of America
SEDES	Servicio Departamental de Salud
C.I.D.	Coagulación Instravascular Diseminada
S.N.C.	Sistema Nervioso Central
M.A.R.U.	Marine Research United
V.E.	Vigilancia Epidemiológica
ICTV	International Committee for the Taxonomy of Viruses
FH	Fiebre Hemorrágica
C.D.C.	Centers of Disease Control and Prevention
LCMV	Virus de la coriomeningitis linfocitaria
LNS	Late Neurological síndrome
CNE	Centro Nacional de Enlace

RESUMEN

Introducción: La Fiebre Hemorrágica Boliviana es una enfermedad infecciosa zoonótica de Bolivia, cuyo agente etiológico es el virus Machupo pertenece a la familia Arenaviridae, categorizados como patógenos prioritarios A por el Centro de Control de Enfermedades (CDC del inglés Center of Diseases Control), Atlanta, USA. La enfermedad fue descrita por primera vez en San Joaquín durante un brote en los años 1959 a 1963 alcanzando una tasa de letalidad de 30%.

Objetivo: Describir los factores asociados a la mortalidad de individuos infectados con el virus de la fiebre hemorrágica boliviana, en los últimos 10 años en zonas endémicas en el departamento del Beni – Bolivia. **Metodología:** Es un estudio cuantitativo, observacional de tipo transversal de temporalidad retrospectiva, se describieron 38 casos, registrados durante el periodo 2004 a 2013. **Resultados:** De los 38 casos de FHB, 42% corresponden al Municipio de Magdalena, 29% a San Ramón y 24% a Huacaraje constituyéndose en las zonas endémicas para FHB, la población más vulnerable son los varones con una razón de 4 a 1 y el grupo etáreo más afectado es el comprendido entre 16 a 30 años edad (42%).

Los factores asociados a la mortalidad por ésta enfermedad, fueron los siguientes: obnubilación (p0.057 O.R. 1.67), gingivorragia (p0.027 O.R. 2.59) y deshidratación (p0.086 O.R. 2.2). Los parámetros laboratoriales que se encuentran disminuidos son: leucocitos la media es más bajo en los que sobreviven ($2906/\text{mm}^3$) frente a los que fallecen ($3442/\text{mm}^3$), siendo ésta diferencia no significativa (p0.349); para las plaquetas se evidenció que la media en los individuos que sobreviven es menor ($84466/\text{mm}^3$) que en las personas que fallecen ($114437/\text{mm}^3$), siendo ésta diferencia significativa (p0.019). De los 38 pacientes, 26 personas recibieron tratamiento con plasma inmune (68%); aquellos que recibieron transfusiones antes del octavo día, tuvieron un 100% de supervivencia frente a quienes reciben el tratamiento luego del octavo día con un 13%. Habiendo una asociación (p0.001) entre el uso de plasma inmune antes del octavo y la supervivencia del individuo para ésta enfermedad.

Discusión: La tasa de letalidad de la FHB alcanzó en promedio un 58%, dato que se asemeja a la tasa de mortalidad encontrada en países africanos (55%) y sobrepasa la tasa descrita por los argentinos (33%), siendo también más alta que la

descrita en las mismas zonas entre el año 1965 a 1967 la cual alcanzó una tasa de 30%. En cuanto a la sintomatología hemos encontrado que se correlaciona con los síntomas que se observa en otras fiebres hemorrágicas sudamericanas y africanas. Parámetros laboratoriales como leuco-plaquetopenia, también son similares a otros estudios, sin embargo, nuestro hallazgo es que, las personas que fallecen por FHB tienen plaquetopenia no tan marcada, mientras que los que sobreviven presentan plaquetopenia marcada.

Palabras Clave: Fiebre Hemorrágica Boliviana, plasma inmune, leucopenia, trombocitopenia.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, estamos asistiendo a la aparición de nuevas enfermedades infecciosas y al aumento en la incidencia de otras que ya se creían controladas y que actualmente están provocando un gran impacto en la salud de los países afectados. (Meeting, 1994)

Entre estas "nuevas" enfermedades, las Fiebres Hemorrágicas Víricas (FHVVs) provocan una especial alarma en la opinión pública de los países desarrollados, tanto por la elevada tasa de mortalidad que pueden presentar, como por la supuesta facilidad con la que algunas de ellas podrían transmitirse. (Hughes, 1995)

Por alguna razón desconocida las fiebres hemorrágicas virales ocuparon en los decenio del 60 al 70 una prominente posición en la atención médica mundial, parece que esa situación se debió al mejor conocimiento de los métodos de diagnóstico laboratoriales.

En 1975 se realizó en Atlanta, USA, una revisión de las investigaciones en el campo de los arenavirus en el "Simposio de Infecciones por Arenavirus" importantes para la salud pública. El interés de este Simposio se centró alrededor de la Coriomeningitis Linfocítica, Fiebre hemorrágica boliviana, fiebre hemorrágica argentina y fiebre de Lassa (Mercado, 1990).

Actualmente se incluyen como causantes de este síndrome virus como Ebola y Marburg (con reservorio aún desconocido), Lassa, Junín, Hantaan y otros virus que tienen a los roedores como reservorio y vector, los virus transmitidos por picadura de garrapata, como los que causan las fiebres hemorrágicas de Crimea-Congo, de Omsk y del bosque de Kyassanur y, finalmente, los que se transmiten por picadura de mosquito, como los virus que causan la fiebre hemorrágica del Dengue, la fiebre amarilla, o la fiebre del valle del Rift. (Mitchell SW, 1984) (Morse, 1999)

Las Fiebres Hemorrágicas Virales son causadas por cuatro familias distintas de Virus: Arenavirus, Filovirus, Buyanvirus y Flavivirus. Todas las Fiebres Hemorrágicas presentan ciertas semejanzas: su sobrevivencia es dependiente del animal o insecto hospedero, están restringidos al área geográfica donde habita el hospedero, los

humanos no son los reservorios naturales, los brotes son esporádicos y no son fáciles de predecir y por último; con pocas excepciones, no hay tratamiento o cura disponible. (Meeting, 1994)

De las Fiebres Hemorrágicas que se conocen existen 4 en Sudamérica de las cuales todas son Arenaviridae: Argentina (Virus Junín), Bolivia (Virus Machupo), Venezuela (Virus Guanarito) y Brasil (Virus Sabiá). (WHO, 1985) (Salas, 1994). (Figura 1).



Figura 1 Área endémica de FHV

Las Fiebres Hemorrágicas de Roedores están entre las más dramáticas enfermedades emergentes, son causadas por dos grupos distintos de virus RNA (-): los arenavirus y hantavirus. Los arenavirus son los que causan Fiebres Hemorrágicas en Sudamérica, infectan centenares de personas anualmente con casos fatales superiores al 33%. (James N, 1998).

Recién 10 años después se denominó a la enfermedad coriomeningitis linfocitaria y a su agente etiológico: virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCMV) (Amstrong et al., 1934; Traub et al., 1935).

La fiebre hemorrágica boliviana cuyo agente etiológico es el virus Machupo, pertenece a la familia Arenaviridae, la cual fue descrita por primera vez en pacientes

humanos en el departamento del Beni, en el noreste de Bolivia, cerca de la ciudad de San Joaquín durante un brote, que duró de 1959 a 1963. Un equipo de médicos de la Unidad de Investigación de América Oriente (MARU), dirigido por el Dr. Karl Johnson, fue el primero en identificar y caracterizar la fiebre hemorrágica boliviana en humanos (Mackenzie et al, 1964)

A) ARENAVIRUS

Los virus del género Arenavirus son los únicos que pertenecen a la familia Arenaviridae incluye veintidós especies formalmente reconocidos por el Comité Internacional para la Taxonomía de Virus (ICTV del inglés *International Committee for the Taxonomy of Viruses*). Recientemente fueron caracterizadas ocho presuntas nuevas especies de éste género, los virus Kodoko (Lecompte et al., 2007), Chapare (Delgado et al., 2008), Skinner tank (Cajimat et al., 2008), Catarina (Cajimat et al., 2008), Dandenong (Palacios et al., 2008), Lujo (Briese et al., 2009), Morogoro y Pinhal, éstos últimos aislados por Günther y Bisordi, respectivamente (datos no publicados; ver Charrel et al., 2008). Estas especies deben ser confirmadas como tales por el ICTV.

A tal fin, se utilizan los siguientes criterios:

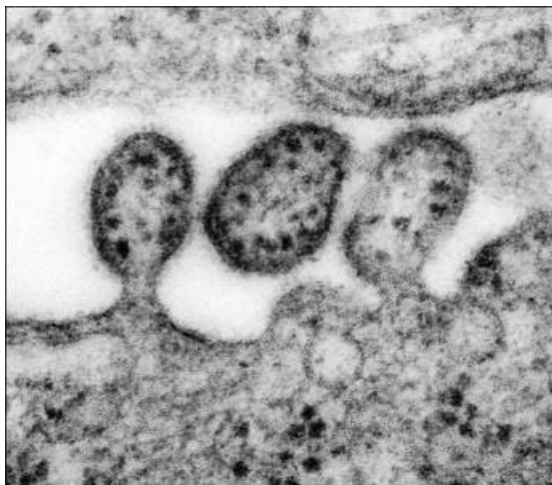
- basado en la asociación de uno o unos pocos hospedadores,
- la presencia en un área geográfica definida,
- la capacidad (o no) de provocar enfermedad en humanos,
- las diferencias antigénicas de reactividad cruzada y
- las diferencias en composición aminoacídica con respecto a otros miembros del género (Salvato et al., 2005)

Los arenavirus han sido aislados de roedores, salvo en el caso del virus Tacaribe, aislado de un murciélago frugívoro del género *Artibeus* (Downs et al., 1963; Salazar-Bravo et al., 2002). La infección que establecen en los roedores es persistente y con poca o ninguna sintomatología. Sin embargo, ocasionalmente

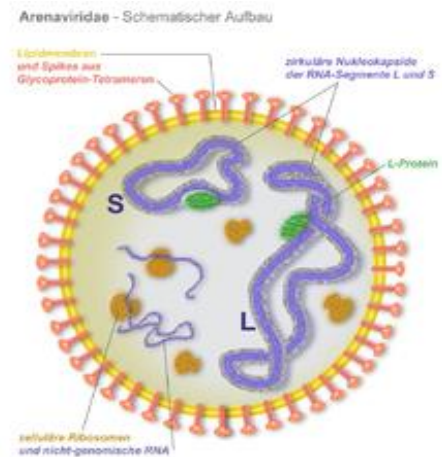
pueden ser transmitidos a los seres humanos a través de la inhalación o contacto con material contaminado con excretas de los roedores infectados, algunos de ellos pueden provocar severa fiebre hemorrágica (Salvato et al., 2005).

ESTRUCTURA

En el año 1969 Bergold y colaboradores, mostraron por primera vez la estructura de un Arenavirus por microscopía electrónica de transmisión, observaron partículas pleomórficas con un tamaño que oscila entre 70 y 120 nm de diámetro y con espículas proyectadas hacia el exterior que poseían gránulos electro-densos en su interior (Figura 2). Durante la brotación de las células adquieren una envoltura lipídica derivada de la membrana citoplasmática. Es por ésta última característica, debida a la incorporación de ribosomas en los viriones, que se los nombró arenavirus.



a



b

Figura 2 a) Micrografía electrónica, b) Ilustración de un arenavirus (Bergold et al)

La habilidad de los virus para insertar su genoma y proteínas dentro de la célula hospedadora, así como el subsecuente uso de la maquinaria metabólica de la misma, es esencial para su ciclo de replicación. A pesar de esta característica en común, son diversos en estructura, genética y estrategias de replicación, dando origen a distintos tipos de interacciones virus-hospedador. Es por esto que son

herramientas muy útiles para investigar fenómenos biológicos, bioquímicos y celulares en general, además de ser ampliamente estudiados por causar enfermedades graves, tanto en humanos como en animales y plantas. Actualmente, los arenavirus son de particular interés dado el uso potencial de los miembros causantes de fiebres hemorrágicas de la familia, como agentes de bioterrorismo, categorizados como patógenos prioritarios A por el Centro de Control de Enfermedades (CDC del inglés Center of Diseases Control), Atlanta, USA.

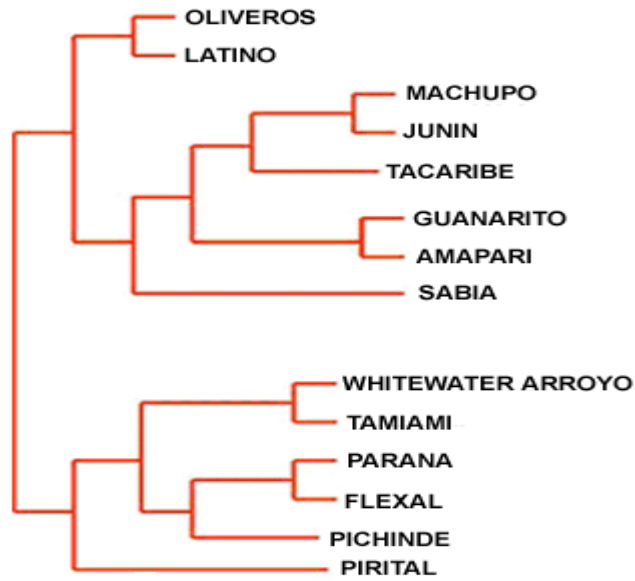
El virus Machupo (perteneciente a la familia Arenaviridae) fue aislado por primera vez el 18 de mayo de 1963, como consecuencia de la inoculación en hámsters recién nacidos, con material del bazo de un caso mortal de Fiebre Hemorrágica. (MacKenzie RB, 1964) (Johnson KM, 1965)

TAXONOMÍA

La familia Arenaviridae fue establecida en el año 1970 y está constituida por un grupo de virus envueltos con genoma de ARN segmentado. Hasta el momento la familia consta de un solo género y 23 especies. En los últimos años se han descrito 8 nuevas especies tentativas aún no incluidas en la familia (Figura 3). La primera especie fue descrita el año 1925, aunque en ese momento se desconocía cuál era el causante de la infección humana, definida clínicamente como meningitis aséptica aguda.

Especie	Región	Posible huésped	Especie más cercana
Kodoko	Guinea	<i>Nannomys minutooides</i>	LCMV
Morogoro	Tanzania	<i>Mastomys sp.</i>	MOPV
Dandenong	Australia	<i>Desconocido</i>	LCMV
Pinhal	Brasil	<i>Calomys tener</i>	OLVV
Catarina	USA	<i>Neotoma micropus</i>	WWAV
Skinner Tank	USA	<i>Neotoma Mexicana</i>	WWAV
Chapare	Bolivia	<i>Desconocido</i>	SABV
Merino Walk	South África	<i>Myotomys unisulcatus</i>	LASV

Tabla II. Nuevos Arenavirus aun no incluidos en la familia Arenaviridae



	Especie	Reservorio Natural	Región
Viejo Mundo	Ippy virus	<i>Arvicanthis sp.</i>	Africa Central
	Lassa virus	<i>Mástomys sp.</i>	Africa Oriental
	LCM virus	<i>Mus musculus</i>	Europa y América
	Mobala virus	<i>Praomys sp.</i>	Africa Central
	Mopeia virus	<i>Mástomys natalensis</i>	Mozambique, Zimbabwe

Nuevo Mundo	Amapari virus	<i>Oryzomys capito Neacomys guianae</i>	Brasil
	Flexal virus	<i>Oryzomys sp.</i>	Brasil
	Guanarito virus	<i>Zygodontomys brevicauda</i>	Venezuela
	Junín virus	<i>Calomys musculinus</i>	Argentina
	Latino virus	<i>Calomys callosus</i>	Bolivia
	Machupo virus	<i>Calomys callosus</i>	Bolivia
	Paraná virus	<i>Oryzomys buccinatus</i>	Paraguay
	Pichinde virus	<i>Oryzomys albigularis</i>	Colombia
	Pirital virus	<i>Sigmodon alstoni</i>	Venezuela
	Oliveros virus	<i>Bolomis obscurus</i>	Argentina
	Sabiá virus	Desconocido	Brasil
	Tacaribe virus	<i>Artibeus sp.</i>	Trinidad
	Tamiami virus	<i>Sigmodon hispidus</i>	Florida, EEUU
	Whitewater Arroyo virus	<i>Neotoma albigula</i>	Nuevo Mexico, EEUU
	Pampa virus	<i>Bolomis obscurus</i>	Argentina
	Allpahuayo virus	<i>Oecomys bicolor, Oecomys paricola</i>	Perú
	Bear Canyon virus	<i>Peromyscus californicus</i>	EEUU
Cupixi virus	<i>Oryzomys megacephalus</i>	Brasil	

Tabla I. Arenavirus del Viejo y Nuevo Mundo, su respectivo huésped y área de inc

Figura 3 Filogenia de los arenavirus del nuevo mundo

Su genoma está constituido por dos moléculas de RNA monocatenario, denominadas L y S (7,2 kb y 3,5 kb, respectivamente). Cada una de ellas posee dos marcos de lectura abierto, no superpuestos y de polaridad opuesta, que dieron origen a la denominación *ambisense* (Auperin et al., 1984) para diferenciar esta estrategia de las conocidas para otros genomas de RNA de cadena simple (negative y positive sense). El RNA L contiene la información para la proteína de matriz, Z, y una RNA polimerasa dependiente de RNA, L. Por su parte, el RNA S, codifica el precursor de las glicoproteínas, GPC. Éste es luego procesado para dar origen a G1, G2 y el Péptido Señal Estable (SSP). Por último, el RNA S codifica la proteína mayoritaria de la nucleocápside, N (Ghiringhelli et al., 1991; Meyer et al., 2002; Strecker et al., 2003). (Figura 5).

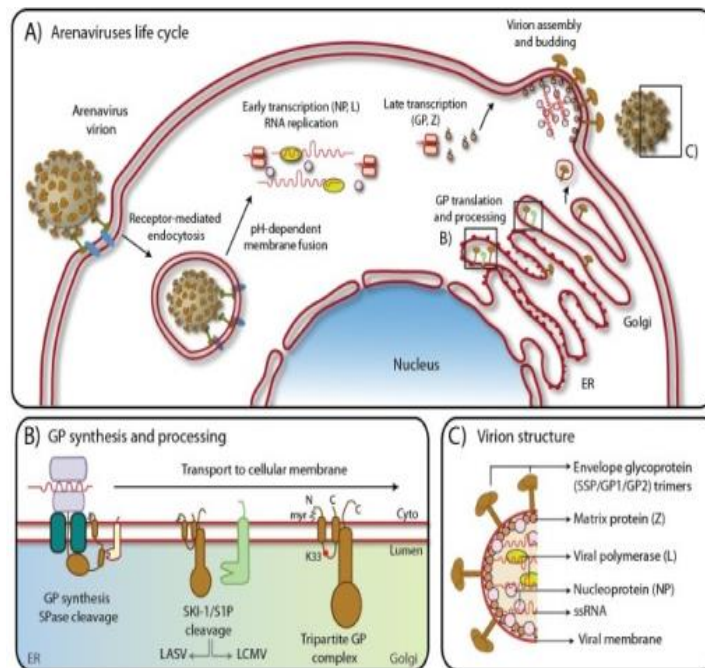


Figura 4 Ciclo de vida de arenavirus

B) FIEBRE HEMORRÁGICA BOLIVIANA

La Fiebre Hemorrágica Boliviana (FHB), también conocida como tifus negro, cuyo agente etiológico es el virus Machupo, es una enfermedad infecciosa zoonótica de Bolivia, desde el punto de vista clínico, se caracteriza por alteraciones vasculares, hematológicas, renales, inmunológicas y neurológicas.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA FIEBRE HEMORRÁGICA BOLIVIANA

En la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA) y Boliviana (FHB) la infección en humanos se produce a través de las mucosas (conjuntival, inhalatoria u orofaríngea) o de lesiones de la piel. Las fuentes y vehículos de virus son aerosoles, polvo u otros materiales contaminados con la orina, la saliva o la sangre de roedores infectados (Arribalzaga, 1955; Johnson et al., 1965; Kenyon et al., 1992; Maiztegui, 1975^a; Rugiero et al., 1964). El contagio interhumano se demostró en muy pocos casos (Enria et al., 1998). La transmisión de la fiebre hemorrágica boliviana de persona-a-persona son poco comunes (Peters et al., 1974). En 1994, se describió la infección letal de seis miembros de la familia en Magdalena a partir de una sola infección adquirida naturalmente, sugirió además el potencial de transmisión de persona a persona (Ksiazek et al., Manuscrito en preparación).

Los roedores son los reservorios naturales de casi todos los arenavirus (Salazar-Bravo et al., 2002). Todavía es una incógnita cuál fue el camino evolutivo que pudo haber seguido un arenavirus ancestral para pasar de un roedor a un quiróptero frugívoro.

En todo caso, sí se sabe que entre los años 1956 y 1958 este virus circuló en murciélagos y fue aislado de once animales diferentes (Salazar-Bravo et al., 2002). Investigaciones ecológicas establecieron al roedor *Calomys Callosus*, que es autóctono del norte de Bolivia, en la región endémica de la enfermedad, como el reservorio del virus Machupo (Johnson et al., 1965; Johnson et al., 1966). Los roedores *C. callosus* infectados con el virus Machupo expulsan virus por la saliva, la orina y las heces.

Experimentalmente, se vio que el 50% de los *Calomys callosus* infectados crónicamente muestran viremia y arrojan virus en sus excreciones o secreciones corporales (Johnson et al., 1965). Aunque la dosis infecciosa del virus Machupo en los seres humanos es desconocida, las personas expuestas pueden llegar a ser infectados por el virus a través de la inhalación de aerosol derramada en las secreciones o de excreciones de roedores infectados, por el consumo de alimentos

contaminado con excretas de roedores, o por contacto directo de excretas con piel herida o membranas mucosas oro-faríngea (Johnson et al., 1965).

La Fiebre Hemorrágica Boliviana (FHB) fue identificada por primera vez en 1959 como una enfermedad hemorrágica esporádica en zonas rurales del departamento del Beni-Bolivia. Ese mismo año se observó conglomerados de pacientes con FHB y en 1962 la FHB fue reconocida como una nueva enfermedad de origen infeccioso de alto riesgo epidémico (Stephen S. Morse, 1993; Villegas Romay M, 2000). Ese mismo año ocurrió un brote con alta mortalidad en la Comunidad agrícola de Orobayaya, Provincia Iténez del Departamento de Beni, Bolivia, como consecuencia quedó abandonada por sus 600 habitantes. Más tarde ocurrió otro brote aún mayor en la Comunidad de San Joaquín, Provincia Mamoré, del Departamento de Beni, este brote fue objeto de un intenso estudio realizado por personal boliviano y de la Unidad de Investigaciones de Mesoamérica (MARU del inglés Middle American Research Unit) del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de América (Figura 6).



Figura 5 Área endémica de FHB

Entre 1963 y 1966 los investigadores de la MARU de Panamá establecieron el área aproximada de dispersión de éste roedor en Bolivia, que abarca los llanos de

Moxos en el Departamento de Beni, toda la región este y sureste menos una franja que va de norte a sur y que corresponde a las estribaciones del Mato Grosso en Departamento de Santa Cruz, la zona norte de la Provincia Chapare del Departamento de Cochabamba, la Provincia Luís Calvo en el Departamento de Chuquisaca, y el Gran Chaco del Departamento de Tarija. La superficie total de los territorios mencionados es de aproximadamente 500.000 km². (Boletín Epidemiológico, 1981). (Figura 5).



Fuente: Elaboración propia

Figura 6 Área de dispersión del reservorio *Calomys callosus*

Se estima que entre 1959 y 1962 hubo 470 casos en la isla de Orobayaya, Provincia Iténez, y en las comunidades que rodean a San Joaquín, Provincia Mamoré del Departamento de Beni; de éstos, se registraron 142 (30%) muertes. Se estima que la población total que habitó estas áreas endémicas tal vez fuese de 4.000 a 5.000 personas. En los casos de FHB, hubo predominancia de varones adultos. Al parecer existía una tendencia estacional marcada, cuyas curvas epidémicas culmina en los meses de julio y agosto.

A fines de 1962 empezaron a ocurrir casos en los vecinos de San Joaquín que no habían salido del pueblo. Fueron afectados por igual todos los grupos de edad y sexo, y había muchos indicios de que el virus estaba activo dentro del mismo San Joaquín.

Desde el 1 de enero de 1963 hasta el 30 de mayo de 1964, se hospitalizaron en San Joaquín 778 personas que se sospechaba había tenido fiebre hemorrágica, 122 de ellas murieron. De 656 sobrevivientes, se examinaron 336 pares de sueros de pacientes agudos y convalecientes y, de éstos, 282 (84%) mostraron anticuerpos por fijación del complemento al virus Machupo después de iniciarse la enfermedad, lo cual es un indicio de que un total aproximado de 650 personas fueron hospitalizadas con fiebre hemorrágica durante este periodo. La tasa de mortalidad fue de 19% (122/651).

Durante 1963, alrededor del 90% de casos de San Joaquín ocurrieron entre un 50% de la población residente en la parte sur del pueblo. Hubo una frecuencia de casos notablemente alta en ciertas casas y falta de ellos en otras; ciertas manzanas fueron afectadas de modo intenso y otras cercanas, lo fueron sólo levemente.

Durante junio de 1963 se tomaron muestras de sueros de 305 vecinos de San Joaquín que habitaban 50 casas seleccionadas al azar. La frecuencia y la distribución de los sueros positivos por fijación de complemento correspondían a la distribución clínica de casos observados anteriormente dentro del pueblo. Los datos acumulativos sugirieron que la transmisión del virus estaba ocurriendo en o cerca de los hogares, en especial en la mitad sur de San Joaquín.

En 1963 la curva epidémica culminó durante los meses de marzo y junio, y la menor actividad viral correspondió a enero, octubre, noviembre y diciembre. En enero de 1964 la tasa de casos de fiebre hemorrágica comenzó a aumentar, y alcanzó de nuevo su nivel alto en marzo, continuando hasta principios de mayo, fecha en que se iniciaron actividades de control de la enfermedad, lo que trajo una caída brusca a cero de la curva, a fines de julio.

Durante el primer semestre de 1964 hubo evidencia de mucha más actividad del virus en la mitad norte de San Joaquín, comparada con el año anterior; sin embargo, continuaba aún la actividad del virus en la parte sur.

Aunque hay pruebas convincentes de que puede haber transmisión directa de persona a persona, no hay nada que indique que ésta haya sido la forma común de transmisión en San Joaquín (Boletín de la oficina sanitaria Panamericana, 1965).

Según los informes de la Oficina Sanitaria Panamericana desde 1959 hasta 1964 han ocurrido alrededor de 1100 casos de fiebre hemorrágica en las provincias Iténez y Mamoré de los cuales murieron aproximadamente 260 (24%) en una población de 4000 a 5000 personas.

Durante el brote de 1959, los investigadores identificaron al *Calomys callosus*, como el más probable vector natural y depósito para el virus Machupo. *Calomys callosus* (Large Vesper Mouse, Rengger 1830), es una especie de roedor de la familia Cricetidae propia de Sudamérica, se encuentra en Argentina, Bolivia, Brasil y Paraguay; tiene un amplio rango geográfico natural, incluyendo regiones de Bolivia, Brasil, Paraguay y Argentina. Mientras el reservorio se encuentra a lo largo de muchos países del Sur América, la fiebre hemorrágica por virus Machupo es endémica en sólo una pequeña región geográfica de Bolivia. Esta región endémica se corresponde con la misma región geográfica en la que un linaje monofilético específico de *C. callosus* habita. Se notó la presencia constante de la rata espinosa, *Proechimys quyanensis* y del ratón *Calomys callosus* en las localidades donde ocurrían las epidemias, pero no se los encontró juntos en las localidades donde la fiebre hemorrágica no había sido registrada anteriormente (Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, 1965). Se ha podido detectar la presencia del virus Machupo en los *C. callosus* capturados en las Provincias de Iténez, Mamoré y Yacuma, Departamento de Beni (un área de aproximadamente 27.433 km² en conjunto). En la Provincia de Velasco, Departamento de Santa Cruz, se ha observado que éstos roedores se encuentran infectados con el virus Latino (Machupo II), que es un arenavirus aparentemente no patógeno para el hombre (PAH, 2003).

Los centros epidémicos de Bolivia, están situados en la inmensa planicie denominada "llanos de Mojos". El tipo de vegetación predominante son pastizales abiertos y sábanas alternadas con "islas" de selva de vegetación semidecidual. Los

pastizales son de dos tipos: los bajíos, que son planicies bajas con pasto cubiertas por unas pocas pulgadas de agua durante los primeros meses de cada año, y las sábanas, que ocupan sitios más altos, llamados alturas, y que se mantienen por la quemazón anual. Las islas de vegetación de selva también se encuentran a una altura de uno o dos metros respecto de los bajíos.

Las colectividades agrícolas se encuentran en general en la periferia de las islas selváticas, a una mayor altura que los bajíos cubiertos de pasto. Hasta ahora solo se han observado epidemias de fiebre hemorrágica en los pueblos y poblados aislados que se encuentran en éste ambiente ecológico (Boletín de la oficina sanitaria Panamericana, 1965).

El roedor *Calomys callosus*, reservorio natural del virus Machupo, siempre ha existido en las tierras orientales de Bolivia; pero los comunarios de éstas zonas han alterado el hábitat del roedor al deforestar los campos para convertirlos en sembradíos de maíz y otros. Los cambios ecológicos que ha ocasionado el sector agropecuario, para el desarrollo económico son factores predisponentes para la emergencia de ésta patología (WHO, 1985) (Figura 6).



Figura 7 Reservorio de FHB; *Calomys callosus*

En 1968 en La Cayoba (Provincia Iténez) se presentaron seis casos; en 1969, seis casos en San Joaquín; en Magdalena y San Joaquín (100% de letalidad). En

1971 se suceden 5 casos en la ciudad de Cochabamba a causa de un paciente enfermo de la Provincia Yacuma (Beni) mueren cuatro (80% de letalidad).

Después del brote que se presenta en 1975 en San Joaquín, con siete casos y dos fallecidos (30% letalidad) no se presentaron casos hasta 1993 (Romay, 2000)

Desde 1970 hasta 1972 oficialmente se reportaron 470 casos de FHB, con un total de decesos de 142; la tasa de letalidad fue de un 30%. También durante éste año el virus Machupo fue aislado dos veces de ejemplares de la especie *Calomys callosus*, capturados en San Joaquín; especie ésta, concebida como único reservorio del virus Machupo (KM, 1965; Stinebaugh BJ, 1966; Child PL, 1967).

A pesar de que la dosis infecciosas de virus Machupo en seres humanos es desconocido, las personas que han estado expuestas pueden infectarse por la inhalación del Virus en aerosol las secreciones y excreciones de roedores infectados, por el consumo de alimentos contaminados con excrementos roedores, o por contacto directo de los excrementos con piel escoriada o la membrana mucosa oro-faríngea.

Desde 1976 hasta el año 1993 no se reportaron casos de FHB. Sin embargo en 1994 se produjeron brotes esporádicos. En febrero y marzo de 2007 el Servicio Departamental de Salud (SEDES) Beni reportó 20 casos sospechosos provenientes de un rancho de la Ciudad de Magdalena, 3 de ellos tuvieron consecuencias letales. En febrero de 2008 el SEDES Beni reportó 200 casos sospechosos con 12 víctimas fatales (Patricia V. Aguilar, 2009). La tasa de mortalidad varía entre el 15 y 30%, con variaciones en los últimos años.

Según informes del CNE (centro Nacional de Enlace) la enfermedad reapareció con nueve casos en 1994, en 2004 rebrotó con seis, en 2007 con dos igual que en 2008; en 2009 llegó a tres lo mismo que en 2010 y 2011.

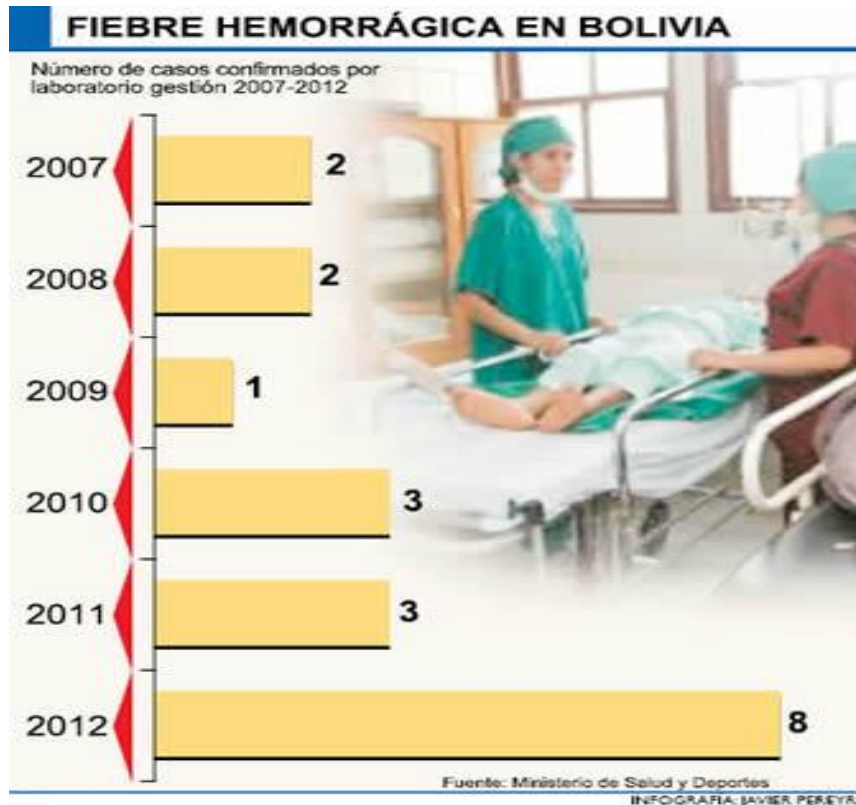


Figura 8 Casos de Fiebre Hemorrágica Boliviana.

FISIOPATOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR ARENAVIRUS DEL NUEVO MUNDO

La fisiopatología de las enfermedades producidas por los arenavirus sudamericanos, Junín, Machupo y Guanarito, son similares, y se diferencia de la fiebre producida por el virus de Lassa, un arenavirus originario de África. El conocimiento sobre la patogénesis de la FHA o de la FHB, proviene principalmente de la experimentación en ratones lactantes y en cobayos (Bruno et al., 1968; Coto et al., 1972). Sin embargo, muchas de las alteraciones fisiológicas y patológicas observadas en estos animales luego de la inoculación con los virus Junín o Machupo, no se correlacionan con las manifestaciones de la enfermedad en el hombre. Estas limitaciones fueron superadas en FHA, usando macaco *Rhesus* como modelo de la infección del hombre con el virus Junín, resaltando que distintas cepas aisladas de pacientes con diferentes cuadros clínicos, reprodujeron la enfermedad con las mismas manifestaciones clínicas en los macacos, indicando que las respuestas biológicas diferentes estaban determinadas por el virus utilizado (Green

et al., 1987). Se ha demostrado que en la fase aguda de la infección, el virus Junín se replica activamente en linfo-monocitos de sangre periférica, sugiriendo que éste es el sitio primario de replicación viral (Ambrosio et al., 1986).

Aunque aún no existen estudios concluyentes, al parecer la evolución de la enfermedad está relacionada con la carga viral en sangre o tejidos. Estudios de microscopía electrónica mostraron inclusiones citoplasmáticas y un daño celular inespecífico en todos los órganos examinados de aquellos casos mortales. Los estudios de inmunofluorescencia sugieren que los daños celulares podrían estar relacionados con antígenos virales pero no con inmunoglobulinas o fracciones del complemento, sin evidencia clara de la formación del complejo inmune (de Bracco et al., 1978). Probablemente, el daño celular sea causado directamente por la replicación viral más que por la respuesta inmune (Maiztegui et al., 1975). En éste sentido, se ha encontrado que la presencia de la nucleoproteína viral en el citoplasma de células en cultivo mimetiza el efecto citopático producido por la infección con el virus Junín (Rivera Pomar et al., 1991).

A pesar de los diferentes grados de hemorragias, hay similitudes entre el curso de la enfermedad en FHA, FHB y la fiebre de Lassa, como para pensar que los caminos fisiopatológicos de las tres enfermedades están relacionados. La función de los órganos, excepto para el sistema endotelial, permanecen intactas. El periodo crítico de shock es corto durando apenas entre 24 a 48 horas. El daño hepático es escaso, produciendo una hepatitis moderada (Mando, 1977) y la función renal está bien mantenida. La hemorragia es más prominente en FHA y FHB que en la fiebre de Lassa, pero no es la causa del shock y de la muerte. Sin embargo, la ruptura capilar es significativa, produciendo una pérdida de proteínas y de volumen intravascular, mucho más pronunciada que la pérdida de eritrocitos. De hecho, el progreso de la enfermedad se ve asociado con una proteinuria elevada y una deshidratación junto con hemo-concentración. Las observaciones clínicas sugieren que una disfunción endotelial vascular, y la subsiguiente falla circulatoria, ocurre en las tres enfermedades, sin que exista una clara evidencia de replicación viral en el endotelio con el correspondiente daño o ruptura endotelial (Maiztegui et al., 1976).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENFERMEDAD

El periodo de incubación varía de 1 a 2 semanas y las manifestaciones hemorrágicas pueden observarse en la boca y nariz, además del Sistema gastrointestinal, riñón, vejiga, pene, uretra y tracto broncopulmonar. (Enría DA, 2007)

Los síntomas iniciales incluyen fiebre, fatiga, disnea, dolor muscular, pérdida de peso, agotamiento, hemorragias en piel, órganos internos y cavidades (boca, ojos y oídos). En estadios severos presentan: Shock, alteración del SNC, coma, delirio. La aparición de coagulación intra-vascular diseminada (CID) es una característica del proceso de la enfermedad. La muerte suele ocurrir con frecuencia entre el día 9 a 10 después del comienzo de los síntomas, es debida a shock circulatorio y fallo multiorgánico (Child PL, 1967). Uno de los aspectos más aterradores de estos virus es que no existe un tiempo establecido para la cura de la infección.

En el laboratorio se observa leucopenia, anemia, aumento del hematocrito, trombocitopenia, elevación de las transaminasas y trastornos en la coagulación. El análisis de orina puede mostrar hematuria y proteinuria.

Dada la similitud de las manifestaciones clínicas en la familia de los arenavirus, tomaremos como referencia las fases identificadas en la Fiebre Hemorrágica Argentina, donde el periodo de incubación es usualmente de 6 a 14 días, en esta se reconocen tres fases clínicas durante la enfermedad: prodrómica, neurológica-hemorrágica y de convalecencia (Enría et al., 2004).

FASE PRODRÓMICA

Identificada durante la primera semana, son insidiosos y se asemejan a la gripe común, con escalofríos, malestar general, anorexia, dolor de cabeza, mialgia centralizada particularmente en la zona baja de la espalda e hipertermia moderada (38-39°C). Otros síntomas comunes son dolor retro-orbital, náuseas o vómitos, dolor epigástrico, fotofobia, mareo, constipación o diarrea moderada. El examen físico del paciente revela enrojecimiento de la cara, cuello y pecho superior, congestión conjuntival y edema periorbital. La encía aparece congestionada y puede sangrar espontáneamente o bajo presión suave. Sobre el paladar blando, se pueden

encontrar siempre una erupción compuesta por petequias y pequeñas vesículas. Típicamente, los pacientes presentan petequias cutáneas en la región axilar, debajo del pecho y en los brazos. Los ganglios linfáticos latero-cervicales se presentan inflamados. No suele detectarse signos anormales a nivel pulmonar, en cambio es frecuente la bradicardia moderada e hipotensión ortostática, la hepatomegalia, esplenomegalia o ictericia son muy raros. Al final de esta fase el paciente puede sentirse irritable, letárgico, y con un sutil temblor en las manos y la lengua. También se presenta ataxia moderada, hiperestesia cutánea, y una disminución en el reflejo tendinoso profundo y tonicidad muscular. En mujeres, además, la presencia de metrorragia es característica.

FASE NEUROLÓGICA-HEMORRÁGICA

Aproximadamente el 20 – 30% de los casos con FHA entran en ésta fase de 8 a 12 días después del comienzo de los síntomas, se presenta hemorrágicas severas o manifestaciones neurológicas, shock e infecciones bacterianas superpuestas. Entre los signos hemorrágicos se incluyen hematemesis, melena, hemoptisis, epistaxis, hematomas, metrorragias y hematuria. Entre los signos neurológicos iniciales hay confusión mental, marcada ataxia, irritabilidad creciente y temblores que posteriormente se acompañan por delirios, convulsión y coma. Las infecciones bacterianas superpuestas, como neumonía y septicemia pueden complicar la enfermedad durante este periodo. Las fallas renales agudas son poco frecuentes, pero puede aparecer en esta fase en casos terminales, usualmente después de prolongados periodos de shock como consecuencia de la necrosis tubular aguda.

FASE CONVALECIENTE

En casos de supervivencia, la fase convaleciente se prolonga durante uno a tres meses. Los pacientes experimentan astenia, irritabilidad, cambios de memoria y pérdida de cabello. Alrededor del 10% de los casos tratados con plasma inmune desarrollan un síndrome neurológico tardío (LNS del inglés *late neurological syndrome*), que se inicia después de un periodo libre de síntomas, y se caracteriza por síntomas febriles, signos cerebelosos y parálisis de pares craneales (Enría, 2005; Enría et al., 2004). No se han registrado casos de pacientes con FHA que

hayan desarrollado LNS y que se hayan recuperado sin tratamiento específico (Enríz et al., 1985; Maiztegui et al., 1979).

LA ENFERMEDAD CLÍNICA EN FHB

La descripción clínica de la enfermedad fue recopilada del brote en San Joaquín en 1963, en aproximadamente 80 personas que enfermaron y fueron hospitalizadas, donde los pacientes que se recobraron adquirieron un aumento significativo del título de anticuerpos determinada por fijación del complemento, de ellos cerca de 20 casos fueron letales.

Todos tuvieron fiebre alta y constante (tipo “plateau”) por lo menos durante cinco días (38-41°C.), que por lo regular desaparecía en un periodo de 24 a 48 horas más. Casi invariablemente sufrían mialgias y dolores de cabeza, y más del 70% de los pacientes acusaron un recuento de glóbulos blancos por debajo de 3.000/mm³, ésta leucopenia era más marcada entre el 5^o y el 9^o día. Durante el curso de la enfermedad, los eosinófilos son escasos (determinada en frotis de sangre), generalmente son abundantes entre los comunarios “sanos” de San Joaquín. También presentaron síntomas gastrointestinales, conjuntivitis y síntomas respiratorios moderados. Poco más o menos de la mitad de los casos presentaron indicios de hemorragia gastrointestinal. Eran comunes las petequias en la mucosa oral y menos frecuente en la dermis, aunque con marcada tendencia hacia la región axilar. Rara vez ocurrían hemorragias grandes. Cerca de una cuarta parte de los casos mostraron síntomas de complicación del sistema nervioso central, con temblores de la lengua y las extremidades y, algunas veces, coma y convulsiones; también se dio severa hipotensión aguda.

Generalmente, el periodo crítico es entre el 7^{mo} y 10^{mo} día después del comienzo de la enfermedad. La alopecia y las acanaladuras transversas de las uñas fueron frecuentes durante la convalecencia. También se registraron hemorragias de la submucosa gastrointestinal y hemorragias locales del cerebro (Boletín de la oficina sanitaria Panamericana, 1965).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y DE LABORATORIO

El diagnóstico de FHA es principalmente establecido por examen clínico, análisis generales de laboratorio bioquímico y anamnesis del paciente (determinada por la permanencia en el área endémica en las últimas tres semanas) (Harrison et al., 1999). Los síntomas y signos iniciales de la FHA son similares a los de muchas enfermedades infecciosas.

En el laboratorio, la velocidad de eritrosedimentación puede ser normal o estar disminuida y la leucopenia permite descartar la mayoría de las infecciones bacterianas. Además, el recuento de plaquetas es por debajo de 100.000 y los tiempos de sangría y de retracción de coágulo están concordantemente prolongados. También se ha descrito la presencia de un inhibidor de la agregación de plaquetas circulantes (Cummins et al., 1990) junto a la disminución de los factores de coagulación II, V, VII, VIII y X y de fibrinógeno. A pesar de ello, las alteraciones en las funciones de coagulación son menores. En la FHA se han observado, además altos niveles de interferón alfa en pacientes con una enfermedad severa, llegando hasta 64.000 UI/ml (Levis et al., 1984), con disminución en el complemento. Los niveles de interferón alfa se relacionan con la severidad y su progreso en pacientes con FHA (Levis et al., 1985).

También se puede detectar proteinuria, y el sedimento urinario contiene cilindros hialinos, granulares y eritrocitos. La elevación de aspartato transaminasa, creatina fosfoquinasa, y lactato-deshidrogenasa son comunes pero moderados. Creatinina y urea en suero son generalmente normales, pero se incrementan en casos severos en correlación con la deshidratación y shock. De la fase aguda de la enfermedad, el fluido cerebroespinal es normal, el fluido cerebroespinal en pacientes con LNS muestra un incremento moderado en el número de células y la presencia de anticuerpos contra el virus Junín en títulos que exceden la relación 1:40 comparado con los valores detectados en el suero (Enría et al., 2004) (Enría, 2005). Contrariamente, los títulos virales en suero son bajos, pero la infección es aparentemente pantrópica (Weissenbacher et al., 1975).

TERAPÉUTICA

La respuesta inmune contra el virus Junín puede ser muy efectiva durante la enfermedad aguda, también puede ser suficiente para proteger contra futuras infecciones. Aunque se ha demostrado alguna evidencia de respuesta inmune mediada por células en humanos, su rol en la eliminación del virus y en la protección subsiguiente es desconocido.

En la década del 70 se realizaron importantes avances en el tratamiento de la FHA donde la utilización de la administración pasiva de anticuerpos como tratamiento para la infección de virus Machupo en primates, sugirieron que esta terapia podría tener éxito en humanos para el tratamiento de FHA o de FHB (Eddy et al., 1975).

Poco tiempo después, un ensayo realizado sobre un muestreo estadístico de pacientes de FHA en el Instituto Nacional de Estudios sobre virosis Humanas en Pergamino, estableció la eficacia de la administración de plasma de la fase convaleciente como tratamiento para la FHA. La pesquisa había consistido en realizar un estudio comparativo de tres grupos de pacientes afectados con FHA a quienes se les había dado plasma de convaleciente entre los días 2 y 5, a otros en los días 6, 7 y 8 y, un tercer grupo que no había recibido plasma, para concluir que “la diferencia de mortalidad entre los que recibieron plasma y no recibieron era estadísticamente significativa” (Ruggiero, 1972).

Esta terapia redujo drásticamente la tasa de mortalidad de 30% hasta menos de un 1% solo cuando fue aplicada previamente al octavo día después del comienzo de la infección (Maiztegui et al., 1979). Esta forma de tratamiento, neutraliza la viremia, acorta la duración del periodo febril, disminuye las alteraciones y reduce la incidencia de las infecciones bacterianas agregadas.

En ese sentido, la eficacia terapéutica del tratamiento de los pacientes de FHA con plasma inmune (plasma de convalecientes de FHA) está directamente relacionada al título de anticuerpos neutralizantes en el plasma suministrado (Enría

et al., 1984). Actualmente, se recomienda una dosis de al menos 3000 unidades terapéuticas por kg de peso corporal (Enría et al., 1984).

Hasta el momento, la administración de plasma inmune, obtenido de pacientes que han sobrevivido a la infección por el virus Junín se ha convertido en la única terapia efectiva contra la FHA. Sin embargo, cerca del 10% de los pacientes tratados con plasma inmune desarrollaron el síndrome neurológico tardío (Ambrosio et al., 1986). Este síndrome, no ha sido observado en pacientes no tratados, y, hasta el momento, no ha podido detectarse la presencia de virus Junín en preparaciones de líquido cefalorraquídeo de los pacientes afectados. El síndrome neurológico tardío comienza entre cuatro y siete semanas después del comienzo de la enfermedad aguda y termina en menos de una semana más.

El diagnóstico precoz y la administración de Plasma inmune antes de la fase hemorrágica pueden incrementar la probabilidad de sobrevivida, como ha sido demostrada con otras infecciones por arenavirus. (Fisher-Hoch SP, 1995) (Maiztegui JI, 1979) (Enría D, 1984)

CONFIRMACIÓN ETIOLÓGICA

La FHA es una enfermedad de notificación obligatoria en Argentina, cuyo diagnóstico se basa en datos clínicos y de laboratorio. En este contexto, los parámetros de laboratorio utilizados como criterios para la detección de posibles enfermos en áreas endémicas son: el recuento plaquetario inferior a $100.000/\text{mm}^3$ y los glóbulos blancos por debajo de $2.500/\text{mm}^3$ (Harrison et al., 1999).

El diagnóstico etiológico y de confirmación de la FHA puede determinarse mediante un inmunoensayo o ELISA (del inglés *enzyme-linked immunosorbent assay*) (Peters y Oldstone, 2002) o por técnicas moleculares RT-PCR (del inglés *reverse transcriptase-polymerase chain reaction*).

Estudios anteriores relacionaron a la prueba de fijación de complemento con el virus Junín. Sin embargo, la prueba de neutralización determinó que se trata del virus Machupo (nombre del río que pasa cerca de San Joaquín). Ambos virus están

relacionados por la prueba de fijación de complemento, también se relacionan con el virus Tacaribe, de la isla de Trinidad (Johnson Km, 1966).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En función de los datos clínicos y epidemiológicos será necesario plantear un diagnóstico diferencial con otros virus causantes de FHV, otros virus menos exóticos, parásitos responsables de la malaria, bacterias responsables de la fiebre tifoidea, peste septicémica, infección meningocócica, shigelosis, cualquier sepsis que curse con CID, rickettsias, tifus exantemático y leptospirosis o borreliosis.

Debe excluirse además otras patologías como la púrpura trombocitopénica o de un síndrome hemolítico urémico. La detección de anticuerpos no suele ser útil en la fase aguda, pero permite identificar la infección en los supervivientes.

La rapidez con que se realice el diagnóstico Clínico-laboratorial es crítica, tanto para proporcionar el tratamiento adecuado como para aplicar las medidas de protección idóneas al personal sanitario y los contactos, y para establecer medidas de contención (Drosten C, 2003).

PROBLEMÁTICA

En Bolivia el año 1963 existió un brote de Fiebre Hemorrágica Boliviana a la cual acudió una comisión integrada por expertos, entre ellos, el Dr. Ronald B. Mackenzie, miembro del Middle America Research Unit (MARU), para estudiar una nueva enfermedad que estaba azotando a la población de San Joaquín. Ellos describieron una mortalidad, síntomas y signos y parámetros laboratoriales que no se actualizaron hasta la fecha-

Sin embargo, en los últimos años, aparecieron brotes de ésta enfermedad registrándose 38 casos entre los años 2004 a 2013, pero nadie realizó una investigación sobre lo que estaba sucediendo con la fiebre hemorrágica boliviana en la actualidad.

Lo que nos lleva a plantearnos las siguientes preguntas:

¿Cuál es la mortalidad de la fiebre hemorrágica boliviana en los brotes ocurridos en las gestiones 2004 - 2013?

¿Cuál es la distribución geográfica de la fiebre hemorrágica boliviana en las gestiones 2004 – 2013?

¿Cuáles son los síntomas y signos que se asocian a una mayor mortalidad por fiebre hemorrágica boliviana?

¿Son los parámetros laboratoriales descritos en otros países similares a los parámetros laboratoriales en fiebre hemorrágica boliviana?

2. JUSTIFICACIÓN

La FHB, es una enfermedad letal exclusiva de la región trópica de Bolivia. En el departamento del Beni, más exactamente en las Provincias Iténez y Mamoré, se realizaron estudios por el equipo MARU – PANAMA, quienes lograron aislar e identificar al agente causal, ahora conocido como Virus Machupo. Lamentablemente los estudios de investigación de éste equipo solo fueron realizados durante el brote epidémico de 1963. No existiendo estudios posteriores que permitan determinar el área real de la presencia de la enfermedad, es importante continuar los estudios para su determinación.

También es importante conocer la distribución espacial del reservorio natural *Calomys callosus*, su desplazamiento en áreas productivas y en la medida de lo posible determinar las causas que producen su infestación en un determinado ambiente ecológico. Asimismo, es necesario conocer los cambios de su hábitat producidos por los fenómenos naturales, tala de bosques, chaqueo indiscriminado con quema de la flora, lo que podría determinar situaciones migratorias del roedor en busca de seguridad por las alteraciones ecológicas productora del ser humano.

A partir del estudio realizado en el año 1963 se identificaron brotes epidémicos en el Municipio de Magdalena y otros Municipios cercanos, pero no se han registrado datos estadísticos sobre la mortalidad, comportamiento clínico y parámetros laboratoriales, el cual no fue determinado con anterioridad por el equipo

MARU y asumimos que el comportamiento sanguíneo y los síntomas y signos de la FHB es similar a la descrita por los argentinos en la FHA, sin embargo es necesario conocer las características patológicas locales de la enfermedad.

Al no existir un tratamiento farmacológico efectivo para la FHB, el tratamiento con plasma inmune es la principal medida terapéutica, aunque su eficacia en personas convalecientes y en la fase temprana de la enfermedad no ha sido determinada.

Por estos tres aspectos mencionados, éste trabajo pretende brindar un conocimiento concerniente a la distribución regional de la enfermedad y las características clínico-laboratoriales relevantes a la enfermedad.

También pretende ser una herramienta que permita tomar una decisión con respecto al tratamiento que se debe administrar en individuos que contraigan la enfermedad y disminuir la mortalidad por la enfermedad.

3. HIPÓTESIS

Las características del ratón reservorio de la FHB, el *Calomys callosus*, hace que migre de sus madrigueras en busca de alimentos ya sea por inundaciones o carencia de los mismos, permitiendo la transmisión de la enfermedad en las comunidades:

- ✓ La aparición de las infecciones por fiebre hemorrágica boliviana tienen una estacionalidad relacionada preferentemente con el verano.

Según los datos clínico laboratoriales de enfermedades relacionadas al Arenavirus como el virus Lassa y el virus Junín, indican que los individuos con fiebre hemorrágica por arenavirus tienen leucopenia, plaquetopenia que son además dos características importantes para diagnosticar esta enfermedad, junto con la fiebre y hemorragias, por tanto:

- ✓ Es conocido que los individuos con Fiebre Hemorrágica fallecen por pérdida de sangre y falla orgánica múltiple y que además los parámetros laboratoriales se caracterizan por tener leucopenia, plaquetopenia y proteinuria en todos los individuos con Fiebre Hemorrágica. Sin embargo es difícil saber cuáles síntomas y signos se asocian con la mortalidad por esta enfermedad antes de que se desencadene la falla orgánica múltiple.

Por los trabajos realizados en Argentina con el virus Junín la administración de plasma inmune temprana disminuye la mortalidad por esta enfermedad, es así que:

- ✓ La administración de plasma inmune antes del octavo día disminuye la mortalidad de los individuos con fiebre hemorrágica boliviana.

4. OBJETIVOS

A) OBJETIVO GENERAL

Describir los factores asociados a la mortalidad de individuos infectados con el virus de la fiebre hemorrágica boliviana, en los últimos 10 años en zonas endémicas en el departamento del Beni – Bolivia.

B) OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Identificar la distribución y los periodos de aparición de la fiebre hemorrágica boliviana según los datos recopilados en los sitios endémicos del departamento del Beni.
- ✓ Examinar los signos y parámetros laboratoriales que influyen en la mortalidad de los individuos con fiebre hemorrágica boliviana en los lugares endémicos del departamento del Beni.
- ✓ Determinar la relación del tratamiento con plasma inmune antes del octavo día y la mortalidad en los individuos infectados con el virus de la fiebre hemorrágica boliviana en zonas endémicas del departamento del Beni.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

A) DISEÑO DEL ESTUDIO

El presente estudio tiene las siguientes características:

Es un diseño de investigación cuantitativo, observacional de tipo transversal. De temporalidad retrospectiva.

Donde se recopiló datos de historias clínicas de individuos con fiebre hemorrágica boliviana en zonas endémicas del norte beniano en los años 2004 – 2013, y se describieron los factores asociados a la mortalidad por esta enfermedad.

B) POBLACIÓN Y MUESTRA

El estudio se realizó en todos los pacientes que presentaron el diagnóstico de fiebre hemorrágica boliviana según los datos del Servicio Departamental de Salud del Beni, esto comprende las comunidades que se encuentran en las provincias Iténez, Mamoré y Cercado.

La provincia Mamoré se sitúa al noreste del departamento, recibe éste nombre del río Mamoré que marca sus límites al oeste con la provincia Yacuma; cuenta con una población de 14.003 habitantes y una superficie de 18.706 Km², tiene una densidad de 0.66 hab/km² siendo una de las más bajas a nivel nacional.

La Provincia Iténez, situada al este del departamento tiene una población de 22.752 habitantes y una superficie de 36.576 Km² siendo una de las más grandes a nivel nacional con una densidad de 0.55 hab/Km², siendo una de las más bajas a nivel nacional. Tiene como capital a la ciudad de Magdalena.

La provincia Cercado, se encuentra situada al noreste de Bolivia en el Departamento del Beni. Tiene una superficie de 12276 Km² con una población estimada de 94221 habitantes. Es la más pequeña de las 8 provincias del Departamento del Beni.

En total se obtuvo una población revisada de 38 casos entre el periodo del 2004 y el 2013, de los cuales 22 individuos han fallecido y 16 han sobrevivido, dando una razón de 1.4:1, dicho de otra manera de cada 3 fallecidos 2 sobrevivieron.

De los 38 casos 26 individuos (68%) recibieron tratamiento con plasma inmune.

C) OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 2 Operacionalización de las variables procesadas en la investigación.

Variable (Tipo variable)	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Fuente de verificación
Código (Cualitativa)	Conjunto de valores asignados para identificar el individuo entrevistado.	Alfabético y numeral correlativo.		Entrevistas
Edad (cuantitativo)	Tiempo vivido en años desde su nacimiento.	Fecha de nacimiento hasta la fecha de internación.	Años cumplidos	Historia clínico
Sexo (cualitativo)	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.	Condición verificada en la historia clínica.	Masculino Femenino	Historia clínica.
Procedencia (Cualitativo)	Lugar donde el individuo reside comúnmente.	Sitio donde le individuo reside al momento de la internación.	Comunidades del Departamento del Beni, con casos	Historia clínica.

			positivos de FHB.	
Transferencia	Derivación de un individuo para recibir un mejor tratamiento médico.	Es transferido cuando la capacidad de resolución de un nosocomio no es lo más conveniente para el paciente.	Fue transferido.	Historia clínica.
			No fue transferido.	
Alta médica	Condición en la que el individuo sale de un hospital o nosocomio.	Condición en la que el individuo fue dado de alta luego del tratamiento por FHB.	Fallecido	Historia clínica.
			FHB en resolución.	
Fecha de consulta	Día, mes y año en que se realiza alguna actividad.	Día mes y año en la que el individuo acudió presentando síntomas sospechosos de FHB.	Fecha	Historia Clínica
Fecha de inicio de síntomas	Día, mes y año en la que sucede algún evento.	Día, mes y año en la que el individuo comenzó los síntomas de FHB.	Fecha	Historia clínica.
Síntomas y signos.	Conjunto de datos que el individuo refiere tener o se encuentra al momento de la revisión.	Conjunto de datos semiológicos que el individuo refiere o el médico encuentra al momento de la revisión en personas con FHB.	Fiebre	Historia Clínica
			Diarrea	
			Cefalea	
			Inyección conjuntival	
			Mialgias	
			Vómitos	
			Dolor abdominal.	
			Artralgia	
			Faringe congestiva	
			Adenopatías	
			Epistaxis	
			Equimosis.	
			Gingivorragia	
			Melena	
			Hemoptisis	
Convulsiones				
Coma				
Petequias				
Deshidratación				
Metrorragia				
Leucocitos				
Laboratorios	Parámetros hemodinámicos de un individuo.	Parámetros hemodinámicos de elementos formes en individuos con FHB.	Plaquetas	Historia clínica
			Plasma inmune.	
Tratamiento	Conjunto de técnicas o medicamentos administrados para la	Conjunto de medicamentos y terapias administrados para tratar	Crioprecipitados.	Historia clínica.

	resolución de un problema.	un	la FHB.		
--	----------------------------	----	---------	--	--

D) HERRAMIENTAS DE MEDICIÓN

Las herramientas de medición que se utilizaron para la realización del estudio se basaron en la recopilación de información proveniente de las historias clínicas de personas que fueron internadas con el diagnóstico de Fiebre Hemorrágica Boliviana.

Para obtener los parámetros laboratoriales se recurrió a los reportes que emiten los laboratorios en los centros de Salud donde se encontraban los enfermos de FHB.

La confirmación laboratorial de los enfermos de FHB se obtuvo de la base de datos del SEDES – BENI.

Las técnicas de laboratorio consideradas en éste trabajo fueron realizadas según técnicas estándares y son:

- Recuento de leucocitos (anexo 1)
- Recuento de plaquetas (anexo 2)
- Determinación de hematocrito (anexo 3)
- Determinación de la velocidad de sedimentación globular (anexo 4)

E) MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Los métodos estadísticos realizados y que se describen a continuación están ampliamente validados para el tipo de estudio que se está realizando y la forma de interpretación fueron adecuados a los resultados obtenidos.

Inicialmente se obtuvo el resumen de los valores cualitativos donde se realizaron tablas de frecuencia y porcentajes de los valores, todos los datos evaluados fueron dicotomizados. Para los valores cuantitativos se realizaron medidas de forma y pruebas de normalidad, para las medidas de forma se vio asimetría y curtosis y para verificar la distribución de los valores cuantitativos se utilizó la prueba de Shapiro Wilks. Luego se realizó el resumen de los valores cuantitativos, donde los valores

que tenían una distribución normal se tomó en cuenta como medida de tendencia central a la media y como medida de dispersión al desvío estándar, los que no tenían normalidad se realizó mediana como medida de tendencia central y percentiles 25 y 75 como medida de dispersión.

Para ver la asociación de los valores, los datos comparados entre cualitativos se realizó la prueba de Ji cuadrado o la prueba de Fisher, los valores cualitativos y cuantitativos se realizó la prueba U de Man Whitney. Para medir el grado de relación de los cualitativos se realizó un ajuste con la prueba de “Atrás T Wald” y se procedió a realizar regresión logística si había más de un valor significativo, si no había más de un valor significativo se realizó la razón de momios.

Para realizar una medida de impacto se utilizó el Riesgo Atribuible Proporcional entre los Expuestos.

$$RAP_{exp} = \frac{RM - 1}{RM}$$

Todas estas pruebas se realizaron con un índice de confiabilidad del 95%, correspondiente a un error alfa del 5%, las pruebas estadísticas se midieron a través del paquete estadístico SPSS y el paquete informático EXCEL.

6. RESULTADOS

A) MEDIDAS DE FRECUENCIA

Se tuvieron 38 casos de Fiebre Hemorrágica Boliviana en el departamento del Beni entre los años 2004 al 2013, la enfermedad alcanzó una tasa de letalidad del 58% (fallecieron 22 individuos). La FHB predomina en varones con una razón de enfermos según sexo de 3.7 a 1, dicho de otra manera por cada mujer que se enferma de FHB se enferman aproximadamente 4 hombres.

La distribución de la edad según sexo de la enfermedad es la siguiente:

Tabla 3 Promedio de la edad en individuos que contrajeron FHB, según sexo.

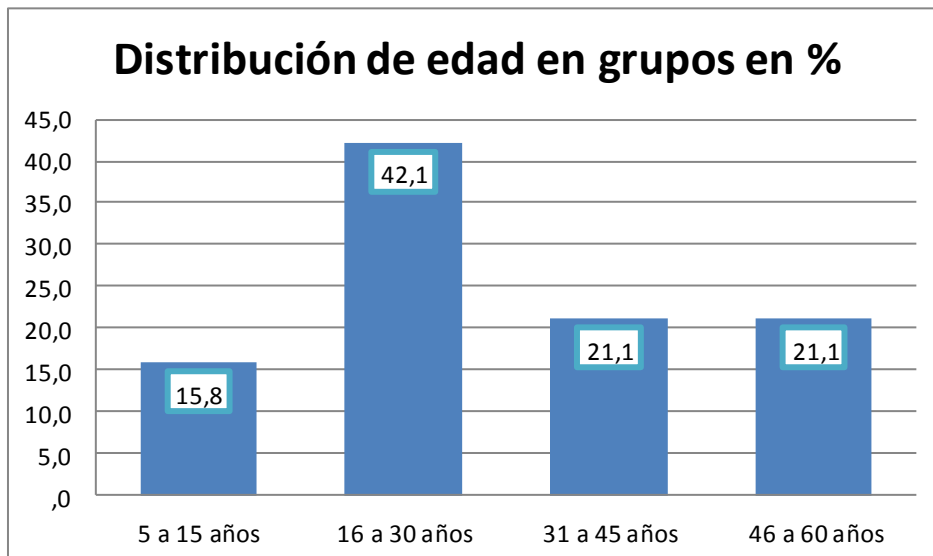
Sexo del individuo	Edad del individuo					
	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	p valor
Masculino	30	.323	-.538	30.10	13.642	0.986
Femenino	8	.084	-1.069	30.25	15.267	

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa que la edad promedio de infección con FHB es de 30 años entre ambos sexos y no hay diferencia significativa en la edad entre ambos.

A raíz de que en las medidas de forma la gráfica de distribución de la edad de los individuos es platicurtica se realiza la siguiente gráfica.

Gráfica 1 Distribución de los casos de FHB según grupo de edades.



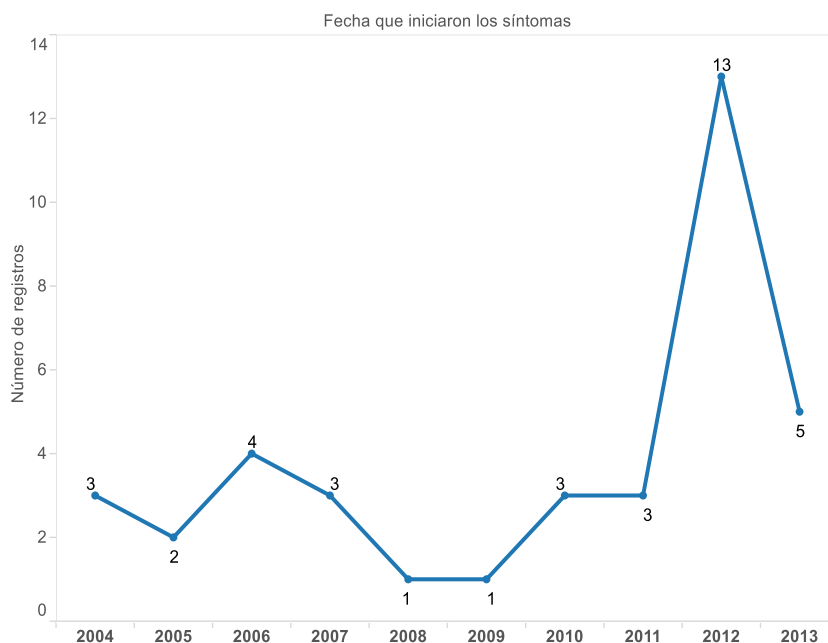
Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa entonces que la distribución de la enfermedad es bastante simétrica en los distintos grupos de edades, con un predominio de enfermos entre los 16 y 30 años de edad.

La distribución de los casos por año y meses de aparición de la enfermedad es la siguiente:

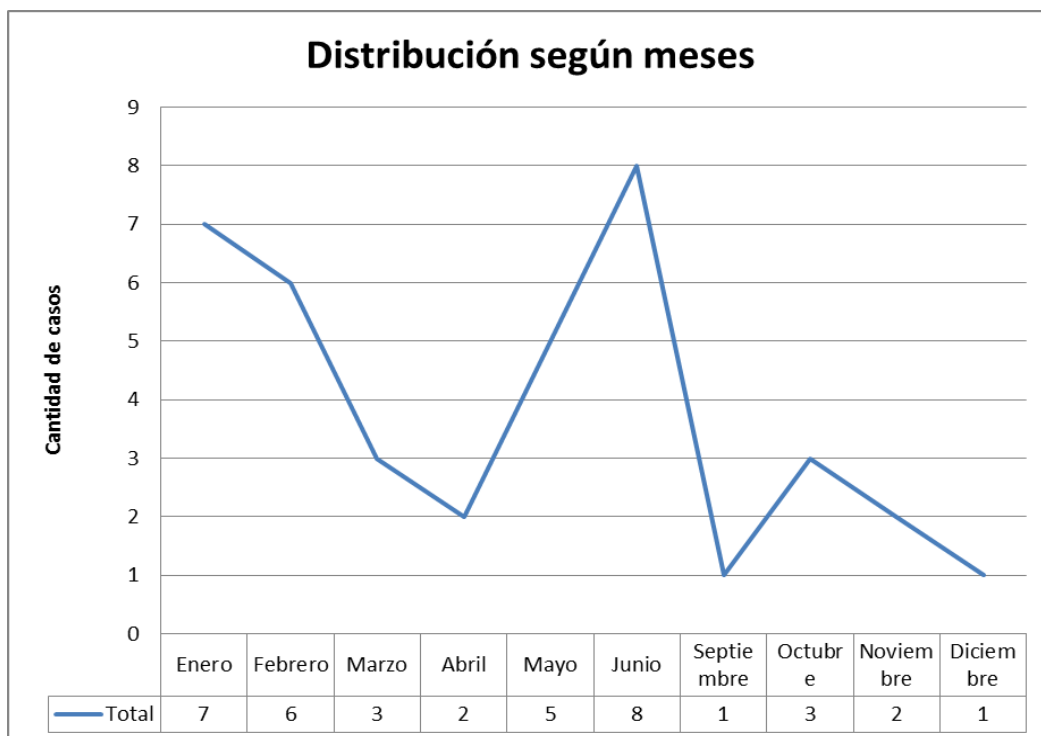
Gráfica 2 Distribución anual de los casos de fiebre hemorrágica boliviana.

Numero de casos de FHB por año



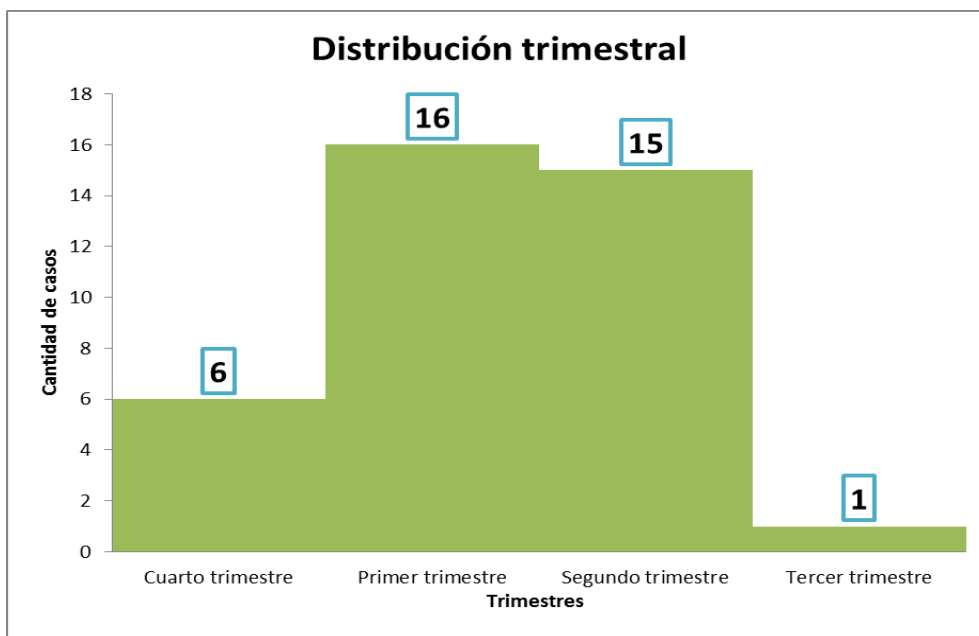
Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Gráfica 3 Distribución mensual de los casos de fiebre hemorrágica boliviana.



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

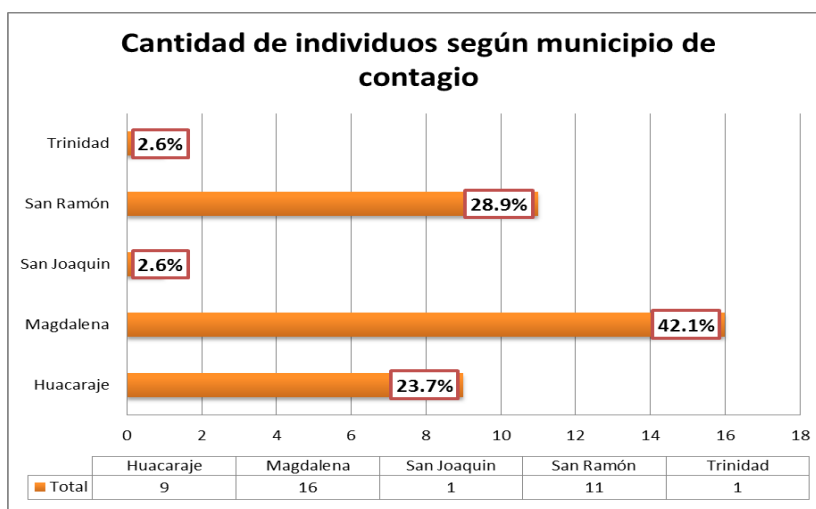
Gráfica 4 Distribución de la FHB según trimestres.



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

En las anteriores dos gráficas se observa la distribución de la FHB según los meses, se puede ver que los casos de fiebre hemorrágica boliviana aparecen a partir del cuarto trimestre y alcanza la mayor cantidad de casos en el primer y segundo trimestre del año, y en el tercer trimestre la cantidad de casos disminuyen bruscamente. Cuando se analiza esta información por meses se observa que los meses de mayor cantidad de casos fueron en los meses de enero, febrero, mayo y junio, siendo los meses de julio, agosto y septiembre donde no se encuentran casos de FHB.

Gráfica 5 Distribución de los casos según el municipio de contagio



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

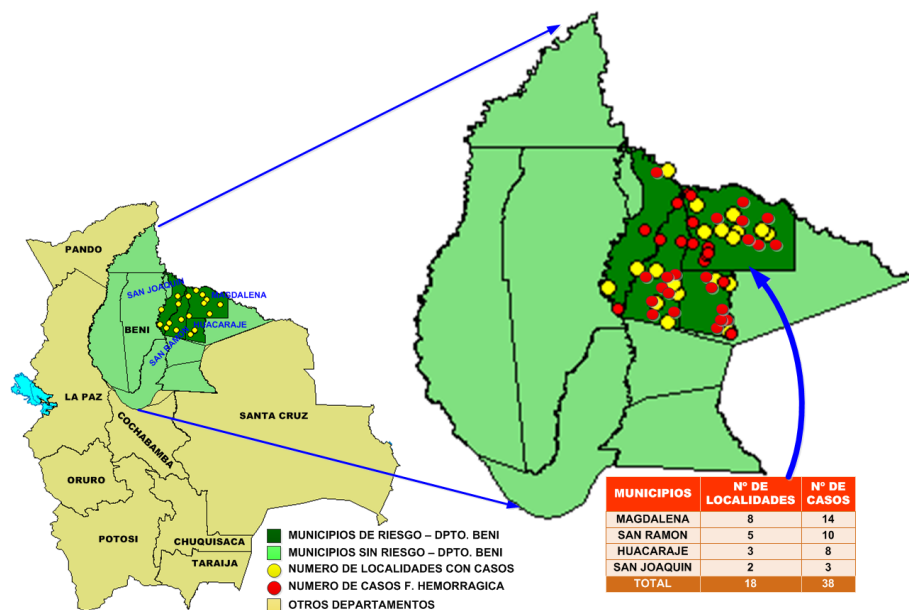
Los municipios donde hubo mayor cantidad de casos de FHB fueron Magdalena, con un 42% de los casos, posteriormente San Ramón con un 29% de los casos y Huacaraje con 24% de los casos.

Tabla 4 Lugar probable de infección

		Frecuencia	Porcentaje
MAGDALENA	Se desconoce	3	7.9
	Guamaja	4	10.5
	Imalo	1	2.6
	Mucuyo	3	7.9
	Nirumo	2	5.3
	Periurbano	3	7.9
SAN RAMÓN	Magdalena	3	7.9
	Achachairú	1	2.6
	TOTAL	14	42%
	Piedras Verdes	3	7.9
	Reconquista	1	2.6
HUACARAJE	Bolpebra	4	10.5
	Maracaibo	1	2.6
	Chaco Holanda	1	2.6
	TOTAL	10	29%
	Guaboro	5	13.2
	San Rafael	1	2.6
	San Luis	2	5.3
TRINIDAD	TOTAL	8	24%
SAN JOAQUÍN	Elvira	1	2.6
	Belén	1	2.6
	Dato perdido	1	2.6
	Total	38	100.0

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

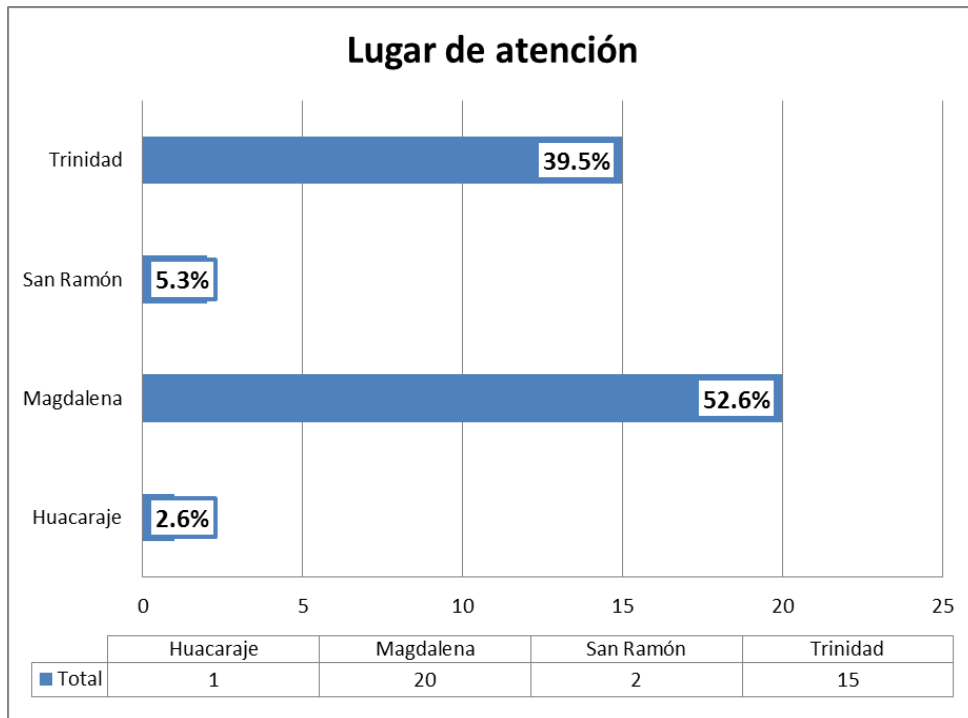
Figura 9 Mapa Epidemiológico periodos 2004 - 2013



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Las atenciones se realizan en centros de salud donde exista la capacidad de resolución para la enfermedad, a continuación se describe dónde se realizaron las atenciones y dónde se realizaron las atenciones según procedencia.

Gráfica 6 Municipio de atención de casos de FHB.



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa aquí que el municipio que tuvo una mayor proporción de atenciones de individuos con fiebre hemorrágica boliviana es Magdalena que atendió el 53% de los casos registrados, seguido de Trinidad que realizó el 40% de atención de pacientes que presentaron fiebre hemorrágica boliviana.

Tabla 5 Relación del municipio de contagio y el centro de salud donde fue atendido

		Centro de salud donde fue atendido				Total	
		Magdalena	Huacaraje	San Ramón	Trinidad		
Municipio de contagio	Magdalena	Recuento	13	0	0	3	16
		% del lugar de atención	81%	0%	0%	19%	100%
	Huacaraje	Recuento	6	1	0	2	9
		% del lugar de atención	67%	11%	0%	22%	100%
	San Ramón	Recuento	1	0	2	8	11
		% del lugar de atención	9%	0%	18%	73%	100%
	Trinidad	Recuento	0	0	0	1	1
		% del lugar de atención	0%	0%	0%	100%	100%
	San Joaquín	Recuento	0	0	0	1	1
		% del lugar de atención	0%	0%	0%	100%	100%
Total		Recuento	20	1	2	15	38
		% del lugar de atención	53%	3%	5%	39%	100%

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

En esta tabla se ve la cantidad de pacientes que se han enfermado con fiebre hemorrágica boliviana y donde fueron atendidos esos pacientes. P.ej.: En el Municipio de Magdalena se han enfermado un total de 16 personas, donde 13 fueron atendidos en el centro de salud de Magdalena y 3 de ellos en el centro de salud de Trinidad, haciendo entonces un total del 81% de los pacientes enfermos en este municipio fueron atendidos en el centro de salud del mismo municipio. (De la misma forma se interpretan todos los resultados de la tabla).

Tabla 6 Comportamiento del paciente y el centro de salud frente a la sospecha de fiebre hemorrágica boliviana

Resumen del comportamiento del individuo y el centro de salud, frente a la enfermedad

Tiempo que transcurre entre la aparición de síntomas y acude a consulta				
Media	Desviación.típica	Mínimo	Máximo	
5.18	2.09	1	9	
Tiempo que transcurre entre la aparición de síntomas y se realiza el primer laboratorio				
5.35	2.26	1	10	
Tiempo que transcurre entre la aparición de síntomas y la administración de plasma inmune				
7.7	2.8	3	12	
Tiempo que transcurre entre la aparición de síntomas y el fallecimiento del paciente				
10.67	2.61	8	20	
Tiempo que transcurre entre la aparición de síntomas y el alta por resolución de la FHB				
12.94	4.17	7	23	

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa que en general el individuo tarda en promedio 5.2 (DE: 2.09) días en llegar al centro de salud desde que aparecen los síntomas y el centro de salud sólo tarda menos de 1 día en realizar los laboratorios correspondientes a un individuo con fiebre, haciendo entonces un promedio de 5.35 (DE: 2.26) días el tiempo que transcurre entre la aparición de los síntomas y la toma de muestra para laboratorio. En todo esto el tiempo que transcurre entre la aparición de síntomas el diagnóstico y la administración de plasma inmune es en promedio de 7.7 (DE: 2.8) días. También se observa que en general los individuos con FHB fallecen en 10.67 (DE: 2.61) días y los que viven son dados de alta en 12.94 (DE: 4.17) días.

B) TABLAS DE ASOCIACIÓN

Para conocer los síntomas que se asocian a la enfermedad según las semanas se realiza las siguientes tablas:

Tabla 7 Asociación entre los síntomas y signos de la FHB y la mortalidad por la enfermedad, en la primera semana.

Síntomas y signos en primera semana		Condición del alta médica				p valor ¹	OR ² (IC)
		Fallecido		FHB en resolución			
		Recuento	% de la fila	Recuento	% de la fila		
Fiebre	No	0	0%	0	0%	-	-
	Si	22	58%	16	42%		
Diarrea	No	14	50%	14	50%	0.248	-
	Si	7	78%	2	22%		
Cefalea	No	7	64%	4	36%	0.729	-
	Si	15	56%	12	44%		
Inyección conjuntival	No	0	0%	0	0%	-	-
	Si	22	58%	16	42%		
Malestar general	No	0	0%	1	100%	0.421	-
	Si	22	59%	15	41%		
Mialgias	No	1	20%	4	80%	0.144	-
	Si	20	63%	12	38%		
Dolor retroorbitario	No	6	43%	8	57%	0.187	-
	Si	16	67%	8	33%		
Vómitos	No	8	53%	7	47%	0.749	-
	Si	13	59%	9	41%		
Dolor abdominal	No	15	58%	11	42%	0.971	-
	Si	7	58%	5	42%		
Artralgias	No	14	64%	8	36%	0.511	-
	Si	8	50%	8	50%		
Adinamia	No	18	55%	15	45%	0.618	-
	Si	3	75%	1	25%		
Adenopatías	No	21	58%	15	42%	0.432	-
	Si	0	0%	1	100%		

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se puede observar en el siguiente gráfico que el 100% de los individuos con FHB tuvieron fiebre, inyección conjuntival y malestar general, sin embargo ninguno de estos 3 síntomas y signos se asociaron a una mayor mortalidad. Tampoco se observa que algún otro síntoma o signo se asocie a la mortalidad por FHB.

Tabla 8 Asociación entre los síntomas y signos de la FHB y la mortalidad por la enfermedad, en la segunda semana.

¹ No se calcula el p valor en los casos donde las casillas tienen 0 como valor de contraste.

² No se calcula el "Ods Ratio", porque ninguno de los síntomas o signos es significativo en la enfermedad.

Síntomas y signos en la segunda semana		Condición del alta médica				p valor	OR (IC)
		Fallecido		FHB en resolución			
		Recuento	% de la fila	Recuento	% de la fila		
Fiebre	No	2	33%	4	67%	0.367	1.86 (0.5-5.9)
	Si	18	62%	11	38%		
Inyección conjuntival	No	15	63%	9	38%	0.467	-
	Si	5	45%	6	55%		
Malestar general	No	18	58%	13	42%	0.759	-
	Si	2	50%	2	50%		
Vómitos	No	20	61%	13	39%	0.176	-
	Si	0	0%	2	100%		
Mareos	No	20	61%	13	39%	0.176	-
	Si	0	0%	2	100%		
Mialgias	No	14	58%	10	42%	0.833	-
	Si	6	55%	5	45%		
Cefalea	No	19	61%	12	39%	0.292	-
	Si	1	25%	3	75%		
Adenopatías	No	17	53%	15	47%	0.244	-
	Si	3	100%	0	0%		
Obnubilación	No	15	50%	15	50%	0.057	1.67 (1.0-2.7)
	Si	5	100%	0	0%		
Epistaxis	No	3	60%	2	40%	0.99	-
	Si	17	57%	13	43%		
Equimosis	No	17	55%	14	45%	0.619	-
	Si	3	75%	1	25%		
Gingivorragia	No	3	27%	8	73%	0.027	2.59 (0.9-7.1)
	Si	17	71%	7	29%		
Dislalia	No	9	69%	4	31%	0.332	-
	Si	11	52%	10	48%		
Melenas	No	10	63%	6	38%	0.557	-
	Si	10	53%	9	47%		
Hemoptisis	No	16	52%	15	48%	0.119	-
	Si	4	100%	0	0%		
Convulsiones	No	3	50%	3	50%	0.99	-
	Si	17	59%	12	41%		
Coma	No	14	50%	14	50%	0.199	-
	Si	6	86%	1	14%		
Hematemesis	No	12	52%	11	48%	0.411	-
	Si	8	67%	4	33%		
Petequias	No	11	52%	10	48%	0.486	-
	Si	9	64%	5	36%		
Deshidratación	No	15	68%	7	32%	0.086	2.2 (0.1-51)
	Si	5	38%	8	62%		

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Los síntomas que predominaban en la primera semana remiten para la segunda semana ya que solo el 31% de los individuos tenía inyección conjuntival y sólo el 11% presentaba malestar general, la fiebre persiste como uno de los signos principales ya que el 82% de las personas tenían fiebre, en la segunda semana aparecen signos como la epistaxis que padecieron el 86% de las personas,

gingivorragia con el 69% y el 82% de los individuos tuvieron convulsiones, como los síntomas o signos predominantes en la segunda semana.

En la segunda semana se observa que los síntomas que se asocian a una mayor mortalidad por FHB son obnubilación, gingivorragia y deshidratación, siendo que la obnubilación aumenta el riesgo de muerte en 1.7 veces, la gingivorragia aumenta el riesgo en 2.6 veces y la deshidratación aumenta el riesgo de mortalidad en 2.2 veces.

Tabla 9 Asociación de los laboratorios y la mortalidad de los individuos en la primera semana.

	Condición del alta médica										p valor
	Fallecido					FHB en resolución					
	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	
Leucocitos	21	.491	-.297	3442.86	1385.847	16	1.079	2.259	2906.25	949.013	0.349
Plaquetas	16	-1.140	1.113	114437.50	36129.339	15	.038	-.493	84466.67	34106.695	0.019

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa que el promedio de leucocitos y plaquetas en la primera semana en los individuos que sobreviven es en general más bajo que los que fallecen, el promedio de los leucocitos en los fallecidos es 3442/mm³ y en los que sobreviven de 2906/mm³, sin embargo estas diferencias de medias no es significativa (pvalor=0.34), las plaquetas en los fallecidos es 114437/mm³ y en los que sobreviven la media es mucho más baja 84466/mm³ siendo esta diferencia de medias significativa (pvalor=0.019).

Tabla 10 Asociación de los laboratorios y la mortalidad de los individuos en la segunda semana.

	Condición del alta médica										p valor
	Fallecido					FHB en resolución					
	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	
Leucocitos	13	-.801	.240	2815.38	1051.860	13	.083	-1.466	2453.85	945.706	0.301
Plaquetas	12	-.278	-.914	102166.67	42671.756	10	-.569	-1.221	60907.50	35314.099	0.048

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

La diferencia de medias en los leucocitos en la segunda semana se acorta entre los individuos que fallecen y los que sobreviven, sin embargo la cantidad de plaquetas sigue siendo distinta entre uno y otro grupo, 102166/mm³ tienen en promedio los que fallecen y 60907/mm³ los que sobreviven, siendo esta diferencia de medias significativa (pvalor=0.048).

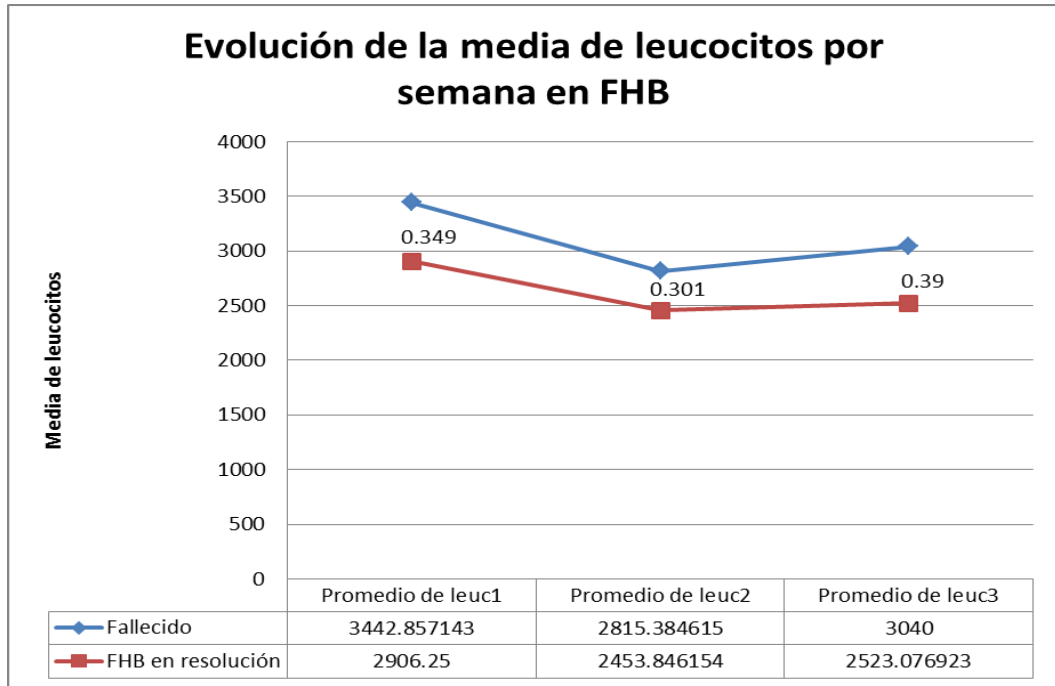
Tabla 11 Asociación de los laboratorios y la mortalidad de los individuos en la tercera semana.

	Condición del alta médica										p valor
	Fallecido					FHB en resolución					
	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	N	Asimetría	Curtosis	Media	Desv. típ.	
Leucocitos	10	1.308	2.450	3040.00	1071.033	13	.150	-1.558	2523.08	1462.392	0.39
Plaquetas	10	-.331	-1.034	88300.00	43412.876	11	-1.032	-.331	62363.64	22975.085	0.12

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

En este cuadro se observa que la media de leucocitos y plaquetas en los individuos continúa siendo distinta, más leucocitos en los que fallecen $3040/\text{mm}^3$, frente a los que sobreviven $2523/\text{mm}^3$, las plaquetas tienen una media de $88300/\text{mm}^3$ en los que fallecen y de $62363/\text{mm}^3$ en los que sobreviven, sin embargo en ambas situaciones la diferencia de medias no es significativa.

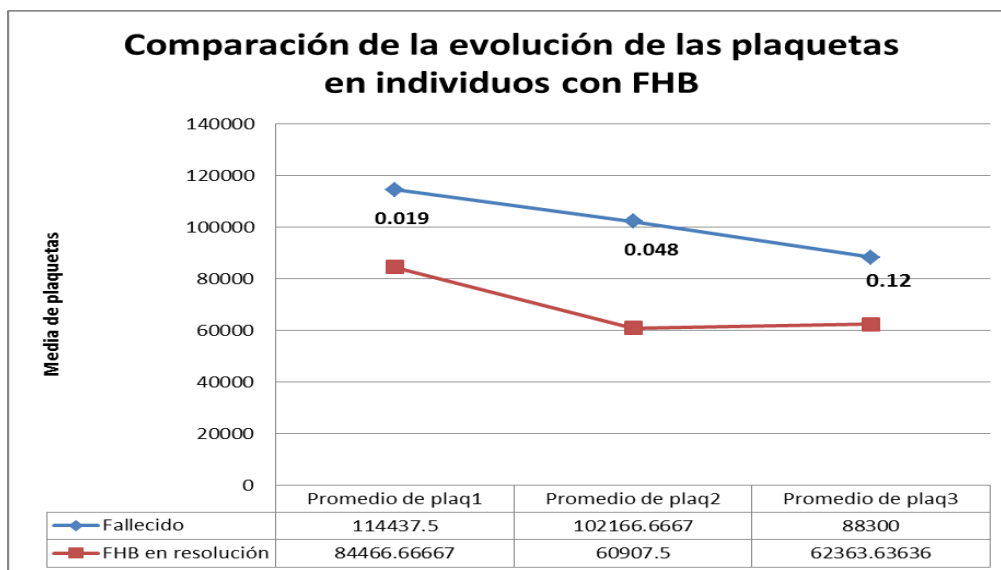
Gráfica 7 Resumen de la comparación de medias de leucocitos en las tres semanas, en individuos con FHB.



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Obsérvese la evolución de los leucocitos en los individuos fallecidos y los que sobreviven en la FHB.

Gráfica 8 Resumen de la comparación de medias de plaquetas en las tres semanas, en individuos con FHB.



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

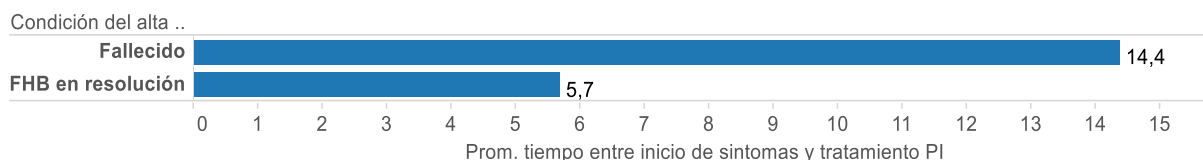
Obsérvese la evolución de las plaquetas en los individuos con FHB en las tres semanas.

Se desea conocer si la administración de plasma inmune de forma temprana favorece con la sobrevivida de los individuos que padecen de Fiebre Hemorrágica Boliviana.

En la presente investigación se administró plasma inmune a 26 individuos, de los cuales 15 fueron administrados plasma inmune antes del octavo día y 11 después del octavo día.

Tabla 12 Tiempo entre el inicio de síntomas y el tratamiento con plasma inmune

Tiempo promedio entre el inicio de síntomas y el tx con PI en pacientes fallecidos y pacientes en resolución



Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa que lo pacientes que sobrevivieron a la fiebre hemorrágica boliviana, recibieron como tratamiento plasma inmune en una promedio de 5.7 días luego de iniciado los síntomas, en cambio, los que fallecieron recibieron el plasma en un promedio de 14.4 días.

Tabla 13 Relación entre la administración de plasma inmune antes del octavo día y la mortalidad en la FHB.

		Condición del alta médica		p valor	
		Fallecido	FHB en resolución		
Tratamiento con plasma inmune antes del día 8	No	Recuento	13	2	0.001
		% dentro de Tratamiento con plasma inmune antes del día 8	87%	13%	
	Si	Recuento	0	11	
		% dentro de Tratamiento con plasma inmune antes del día 8	0%	100%	

Fuente: Elaboración propia de la base de datos

Se observa que todos los individuos que recibieron plasma inmune antes del octavo día sobrevivieron a la FHB, en cambio sólo el 13% de los individuos que recibieron plasma inmune posterior al octavo día sobrevivieron, siendo esta asociación significativa (pvalor=0.001).

7. CONCLUSIONES

- La tasa de mortalidad de la Fiebre Hemorrágica Boliviana alcanzó un 58% en el periodo 2004 – 2013.
- La Fiebre Hemorrágica Boliviana tiene una predominancia en los varones con una razón de 3.7 a 1.
- La edad promedio de infección es de 30 años con una mayor predominancia en el grupo de 16 a 30 años.
- Los casos de Fiebre Hemorrágica Boliviana, se presentan con mayor frecuencia en los meses de enero, febrero, mayo y junio, correspondiendo al primer y segundo trimestre del año.
- El municipio de Magdalena, presenta el mayor número de con un 42%, constituyéndose también en el centro de salud que atiende a un total de 53% de los pacientes que han enfermado con FHB y atendió un 81% de sus casos, refiriendo el resto a otro centro de salud.
- En promedio las personas tardan 5.2 días en llegar al centro de salud y las pruebas de laboratorio se las realizan en menos de 1 día luego de su internación, la administración de plasma inmune se le administra en promedio

al día 7.7, en general, las personas con Fiebre Hemorrágica fallecen en 10.7 días y aquellos que sobreviven son dados de alta en 12.9 días.

- Todas las personas con Fiebre Hemorrágica Boliviana presentaron fiebre, inyección conjuntival y malestar general, pero ninguno se asoció a una mayor mortalidad.
- Para la segunda semana aparecen signos hemorrágicos como epistaxis, que padecieron el 86% de los enfermos, los síntomas de la primera semana remitieron. Se observa que la obnubilación, gingivorragia y deshidratación se asocian a una mayor mortalidad.
- El promedio de los leucocitos en la primera semana, en individuos que sobreviven es menor ($2906/\text{mm}^3$) que en aquellos que fallecen ($3442/\text{mm}^3$), siendo ésta diferencia no significativa. En la segunda semana ésta diferencia se acorta. Para la tercera semana aunque existe diferencia de medias ésta no es significativa.
- El promedio de las plaquetas en la primera semana, en individuos que sobreviven es menor ($84466/\text{mm}^3$) que en aquellos que fallecen ($114437/\text{mm}^3$), siendo ésta diferencia significativa ($p0.019$). En la segunda semana el promedio sigue siendo estadísticamente significativa ($p0.048$). Para la tercera semana las diferencias de medias ya no es significativa.
- Las personas que recibieron plasma inmune y sobrevivieron a la enfermedad en promedio recibieron la transfusión al día 5.7, mientras que aquellos que fallecieron lo hicieron al día 14.4.
- Aquellas personas que recibieron plasma inmune antes del octavo día de iniciado los síntomas sobrevivieron a la enfermedad (100%), en contraste, solo el 13% de las personas que recibieron el tratamiento luego del octavo día sobrevivieron, siendo ésta asociación significativa ($p0.001$).

8. DISCUSIONES

La tasa de letalidad del virus de la Fiebre Hemorrágica Boliviana en el departamento del Beni alcanzó en promedio un 58%, que se asemeja a la tasa de mortalidad

encontrada en países africanos, con el virus Lassa que tenían una mortalidad del 55% (Monath, 2007), sin embargo sobrepasa a la tasa de letalidad descrita por los argentinos por el virus Junín los cuales reportan una tasa de 33%, y de los venezolanos que describen una tasa de letalidad del 28%, además que esta tasa registrada en este periodo de tiempo es mucho más alta que las tasas registradas en las mismas zonas en el año 1965 a 1967 que alcanzó una tasa de letalidad del 30%. Desconocemos las causas por las cuales la letalidad en los últimos años es mayor a las registradas durante los brotes de los años 1959 a 1962, las cuales presentaron tasas de letalidad de 30%; para el año 1964, se obtuvo una tasa de 19%. La oficina Sanitaria Panamericana informó que en el periodo de 1959 hasta 1964 se obtuvo una tasa de letalidad de 24% en una población de 4000 a 5000 personas.

El predominio en los casos registrados del 2004 al 2013 es principalmente masculino, encontrándose una razón de 4:1, aspectos similares se encuentran en los casos de FHA donde el predominio es también masculino, y en los casos descritos en Venezuela, donde el 67% de los casos es de sexo masculino, esto quizás se deba a los mismos aspectos descritos por los argentinos y además que fueron descritos en la epidemia de 1965, que se enferman más los hombres por las actividades de agricultura que desempeñan en la región.

Los periodos de tiempo donde más casos se registraron fueron en los primeros dos trimestres con una caída vertical para el tercer trimestre del año, esto coincide con los meses donde se realiza la cosecha de los cereales en el departamento del Beni, ya que según los datos del ENA (Encuesta Nacional Agropecuaria) los periodos de inicio de cosecha son el mes de febrero, alcanzando una mayor cosecha en marzo, abril, mayo, terminando este proceso en el mes de junio, con un descanso de cultivos en los meses de julio, agosto y septiembre, para comenzar con las siembras en los meses de octubre en adelante (Estadística, 2008), trasponiendo la conducta agrícola con la curva de aparición de casos de FHB, se observa qué, en los meses de octubre en adelante comienzan a aparecer los casos de FHB que coincide con el periodo de siembra y tiene una mayor cantidad de casos en los meses de enero a junio coincidiendo con los periodos de cosecha.

La periodicidad de los casos de FHB también pueden ocurrir con los ciclos de reproducción del ratón portador del virus, los venezolanos y brasileros reportan que la mayor cantidad de casos de fiebre hemorrágica regional coincide con sus ciclos de reproducción, sin embargo ellos describen que los casos aparecen en los meses de junio que es el periodo seco y los meses de noviembre que inicia los periodos lluviosos, el comportamiento de la enfermedad actualmente con la FHB es diferente, ya que en los periodos secos la cantidad de casos disminuye bruscamente, pero coincide con los periodos lluviosos, de enero a marzo, fenómeno observado en los brotes de 1960 a 1967.

Haciendo una discusión final, consideramos que los casos se relacionan con la aparición de alimentos en el hábitat del ratón, donde probablemente se reproducen y además el hombre ingresa a las cosechas completando el ciclo biológico de la infección.

En los estudios observados con el virus Lassa, el virus Junín, el virus Guanarito - Africa, Argentina y Venezuela respectivamente-, indican que los síntomas más comunes en la fiebre hemorrágica son la fiebre, malestar general, cefalea y mialgias, aspectos que coinciden con la Fiebre Hemorrágica Boliviana, ya que el 100% de los individuos tuvieron fiebre y malestar general; sin embargo, no todos refirieron los otros síntomas en la primera semana, no encontramos estudios relacionados con la aparición de signos y síntomas y la mortalidad por la fiebre hemorrágica en Latinoamérica, sin embargo en África la aparición de signos hemorrágicos se asocia con una mayor mortalidad, en nuestro medio en la segunda semana de la evolución de la enfermedad se encontró que la obnubilación, gingivorragia y deshidratación se asocia a una mayor mortalidad por esta enfermedad.

Está descrito en todos los casos de fiebre hemorrágica, tanto en Venezuela, Argentina, Brasil y los países con Virus Lassa en el África la presencia de leucopenia, plaquetopenia y proteinuria, aunque ninguno de ellos asocia la mortalidad con la cantidad de los elementos formes en la sangre, esta descrito que son aspectos importantes para el diagnóstico de la enfermedad, en la FHB también se ha encontrado leucopenia y plaquetopenia.

Otro aspecto descrito en el virus Lassa es que la trombocitopenia se asocia con un inhibidor sérico y con la ocurrencia de hemorragia, disminución de la agregación plaquetaria y mayor gravedad de la enfermedad, dicho de otra forma una mayor cantidad de trombocitopenia se asocia a una mayor cantidad de mortalidad por el virus Lassa (JK, 2003). Estos datos discrepan con lo encontrado en el virus de la Fiebre hemorrágica boliviana, donde se observa que hay menor cantidad de plaquetas (mayor plaquetopenia) en los individuos que sobreviven a la FHB, en comparación con los individuos que fallecen por esta enfermedad, creemos que este fenómeno se puede asociar al consumo de las plaquetas en los distintos tejidos para evitar las hemorragias, fenómeno que se suele describir en la Coagulación Intravascular Diseminada (CID).

En cuanto a tratamiento, las investigaciones con el virus Lassa, Guanarito, se relacionan con el uso de la ribavirina y la disminución en la mortalidad por el virus, donde recomiendan que la administración de este medicamento debe ser dado hasta el sexto día de comenzada la enfermedad, por los elevados costos de este medicamento los argentinos realizaron estudios asociados al uso de Ig M e Ig G, el plasma inmune, donde encontraron una disminución de la mortalidad por el virus de la FHA cuando se administra antes del octavo día.

En nuestro medio se encontró que la administración del plasma inmune antes del octavo día se asocia a una mayor sobrevivencia de los individuos que padecen de Fiebre hemorrágica boliviana, coincidiendo estos resultados con el comportamiento de la enfermedad en Argentina.

9. RECOMENDACIONES

Al concluir el trabajo se pudo evidenciar las siguientes recomendaciones o sugerencias:

- ✚ Es necesario adecuar o elaborar una Historia clínica exclusiva para el manejo de las personas enfermas con Fiebre Hemorrágica Boliviana, para de ésta manera obtener la mayor información posible acerca de ésta enfermedad.
- ✚ La batería de pruebas laboratoriales que se solicitan para éstos pacientes debería extenderse para obtener un perfil bioquímico completo del comportamiento de ésta enfermedad.

- ✚ Algunos de los resultados obtenidos en éste estudio fueron no concluyentes debido al tamaño de la muestra; se sugiere hacer un seguimiento con respecto a la enfermedad para obtener resultados que puedan ayudarnos a comprender el comportamiento de la enfermedad.
- ✚ Es necesario realizar un estudio ecológico para determinar las características del hábitat, alimentación y comportamiento del roedor reservorio de la enfermedad.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Aguilar, P. V., W. C. (2009). Emerging Infectious Diseases.

Ambrosio, A. M., Enria, D. A. y Maiztegui, J. I. (1986) Junín virus isolation from lympho-mononuclear cells of patients with Argentine hemorrhagic fever. *Intervirology* 25, 97-102.

Amstrong, C.L.R. (1934). Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 st. Louis encephalitis epidemic. *Public Health Republic* 49: 1019-1027.

Arribalzaga, R. A. (1975). Una nueva enfermedad epidémica a germen desconocido: hipertermia nefrotóxica, leucopénica y enantemática. *Dia Med*, 1204-1210.

Auperin, D. D., Romanowsky, V., Galinski, M. S. y Bishop, H. L. (1984). Sequencing studies of Pichinde arenavirus S RNA indicate a novel coding strategy, an ambisense viral S RNA. *JVIROL*, 987-904

Boletín de la oficina Sanitaria Panamericana 1965.

Boletín Epidemiológico (1981). Ministerio de Previsión Social y Salud Pública. N° 75

Briese, T., Paweska, J. T., McMullan, L. K., Hutchison, S. K., Street, C., Palacios, G., Khristova, M. L., Weyer, J., Swanepoel, R., Egholm, M., Nichol, S. T. y Lipkin, W. I. (2009). Genetic detection and characterization of Lujo virus, a new hemorrhagic fever-associated arenavirus from southern Africa. *PLoS Path* 5, e1000455.

Bruno, L. G., Bruno, L. M., Johnson, K. M., Webb, P. A. y Paola, D. d. (1968). Pathogénesis of Junin virus infection in the infant hamster. *Anais de Microbiología* 15, 11-33.

Cajimat, M. N., Milazzo, M. L., Bradley, R.D. y Fulhorst, C. F. (2007). Catarina virus, na arenaviral species principally associated with *Notoma micropus* (southern plains woodrat) in Texas. *Am J Trp Med HYG* 77, 732-736

Cajimat, M. N., Milazzo, M. L., Rollin, P. E., Nichol, S. T., Bowen, M. D., Ksiazek, T. G. y Fulhorst, C. F. (2008). Genetic diversity among Bolivian arenaviruses. *Virus Res*.

Child PL, M. R. (1967). Bolivian hemorrhagic fever: a pathologic description. Arch Pathol Lab Med , 434 - 435.

Child PL, M. R. (1967). Bolivian hemorrhagic fever:1 A pathologic description. Arch Pathol , 434 - 445.

Coto, C. E., Help, G. I. y De Tkaczewski, L. Z. (1972). Biological properties of Junin virus purified from infected mouse brain. 0025-7680 32, 281-286.

Cummins, D., Molinas, F.C., Lerer, G., Maiztegui, J. I., Faint, R. y Machin, S. J. (1990). A plasma inhibitor of platelet aggregation in patients with Argentine hemorrhagic fever. Am J Trop Med Hyg 42, 470 - 475

de Bracco, M. M., Rimoldi, M. T., Cossio, P. M., Rabinovich, A., Maiztegui, j. I., Carballal, G. y Arana, R. (1978). Argentine hemorrhagic fever. Alterations of the complement system and anti-Junin humoral response. N Engl JMed 299, 216-221.

Delgado, S., Erickson, B.R., Agudo, R., Blair, P.J., Vallejo, E., Albarino, C. G., Vargas, J., Comer, J. A., Rolling, P.E., Ksiazek, T. G., Olson, J. G. y Nichol, S.T. (2008). Chapare virus, a newly discovered arenavirus isolated from fatal hemorrhagic fever case in Bolivia. PLoS Pathog 4, e1000047.

Drosten C, K. B. (2003). 23. Drosten C, KummererMolecular diagnostics of viral hemorrhagic fevers. Antiviral Res. 2003;57:61-87. Antiviral Res. , 61 - 87.

Eddy, G. A., Wagner, F. S., Scott, S. K. y Mahlandt, B. J.(1975). Protection of monkeys against Machupo virus by the passive administration of Bolivian haemorrhagic fever immunoglobulin (human origin). Bull World Health Organ 52, 723-727.

Emonet, S.F., de la Torre, J.C., Domingo, E. y Sevilla, N. (2009). Arenavirus genetic diversity and its biological implications. Infect Genet Evol 9, 417-429.

Enria, D. (2005). Arenaviral hemorrhagic fevers: Argentine hemorrhagic fever and Lassa fever. Emerging neurological infectins. In Neurological Disease and Therapy, p. 505

Enria, D., Bowen, M. D., Mills, J. N., Shieh, W. J., Bausch, D. y Peters, C. J. (2004) Arenavirus infections. In Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens, and Practice, pp. 1191-1212. Edited by R. L. Guerrant, D. H. Walker, P. F. Weller y W. B. Saunders.

Enria D. A, Briggiler, A. (1984). Importance of dose neutralising antibodies in treatment of Argentine haemorrhagic fever with immune plasma. Lancet , 255 - 256.

Enria D. A, Briggiler, A. (2007). Treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antiviral . Antiviral Res.*008 , 132 - 139.

Enria, D., Briggiler, A. M. y Feuillade, M. R. (1998). An overview of the epidemiological, ecological and preventive hallmarks of Argentine Hemorrhagic Fever (Junin virus). *Bull Inst Pasteur*, 12.

Enria, D. A., Briggiler, A. M., Fernandez, N. J., Levis, S. C. y Maiztegui, J. I. (1984). Importance of dose of neutralising antibodies in treatment of Argentine haemorrhagic fever with immune plasma. *Lancet* 2, 255-256.

Fisher-Hoch SP, T. O.-O. (1995). Review of cases of nosocomial Lassa fever in Nigeria: the high price of poor medical practice. *BMJ* , 857 - 859.

Ghiringhelli, P. D., Rivera-Pomar, R. V., Lozano, M. E., Grau, O. y Romanowsky, V. (1991). Molecular organization of Junin virus S RNA: complete nucleotide sequence, relationship with other members of the Arenaviridae and unusual secondary structures. *J Gen Virol* 72, 2129-2141.

Green, D. E., Mahlandt, B. G. y McKee, K. J. (1987). Experimental Argentine hemorrhagic fever in rhesus macaques: virus-specific variations in pathology. *J Med Virol* 22, 113-133.

Harrison, L. H., Halsey, N. A., McKee, K. T., Jr., Peters, C. J., Barrera Oro, J. G., Briggiler, A. M., Feuillade, M. R. y Maiztegui, J. I. (1999). Clinical case definitions for Argentine hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis* 28, 1091-1094.

Hughes, J. (1995). Conference on "Emerging Infectious Diseases: Meeting the Challenge". *Emerg Infect Dis.*, (pág. 101).

James N, M. a. (1998). "Ecologic Studies of Rodent Reservoirs: Their Relevance for Human Health. *Emerging Infectious Diseases* , 6.

Johnson, K. M. Kuns, M. L., MacKenzie, R. B., Webb, P. A. y Yunker, C. E. (1966). Isolation of Machupo virus from wild rodent, *Calomys callosus*. *J. Trop Med Hyg* , 103-106.

Johnson K . M, MacKenzie, R. B., Webb, P. A. y Kuns M. L.(1965). Chronic infection of rodents by Machupo virus. *Science* , 1618 - 1619.

Johnson, K. M. (1965). Epidemiology of Machupo virus infection: III. Significance of virological observations in man and animals. *Am J Trop Med Hyg* , 816 - 818.

Johnson, K. M., Wiebenga, P. A., Justines, G. y Beye, H. K. (1965). Virus Isolations from Human Cases of Hemorrhagic Fever in Bolivia. *Proc Soc Exp Bio Med* 118, 113-118.

Kenyon, R. H., McKee, K. J., Zack, P. M., Rippey, M. K., Vogel, A. P., York, C., Meegan, J., Crabbs, C. y Peters, C. J. (1992). Aerosol infection of rhesus macaques with Junin virus. *Intervirology* 33, 23-31.

Lecompte, ter Meulen, J., Emonet, S., Daffis, S. y Charrel, R.N. (2007). Genetic identification of Kodoko virus, a novel arenavirus of the African pigmy mouse (*Mus Nannomys minutoides*) in West Africa. *Virology* 364, 178-183.

Levis, S. C., Saavedra, M. C., Ceccoli, C., Falcoff, E., Feuillade, M.R., Enria, D. A., Maiztegui, J. I. y Falcoff, R. (1984). Endogenous interferon in Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 149, 428-433

Levis, S. C., Saavedra, M. C., Ceccoli, C., Feuillade, M. R., Enria, D. A., Maiztegui, J. I. y Falcoff, R. (1985). Correlation between endogenous interferon and the clinical evolution of patients with Argentine hemorrhagic fever. *J Interferon Res* 3, 7.

MacKenzie RB, B. H. (1964). Epidemic hemorrhagic fever in Bolivia: a preliminary report of the epidemiologic and clinical findings in a new epidemic area in South America. *J. Tropical Med Hyg* , 620 - 625.

Maiztegui, J. I. (1975). Clinical and epidemiological patterns of Argentine haemorrhagic fever, pp 385-575: *Bull WHO*

Maiztegui, J. I. (1975). Clinical and epidemiological patterns of Argentine haemorrhagic fever. *Bull World Health Organ* 52, 567-575.

Maiztegui J. I., Fernandez, N. J. y de Damilano, A. J. (1979). Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine haemorrhagic fever and association between treatment and a late neurological syndrome. *Lancet* 2, 1216 - 1217.

Maiztegui, J. I., Laguens, R. P., Cossio, P. M., Casanova, M. B., de la Veja, M. T., Ritacco, V., Segal, A., Fernandez, N. J. y Arana, R. M. (1975). Ultrastructural and immunohistochemical studies in five cases of Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 132, 35-53.

Mando, O. G. (1977). Hepatic and enzymatic alterations in Argentine hemorrhagic fever. *Medicina (Buenos Aires)*, 3.

Meeting, W. (1994). Emerging infectious diseases. *Bull World Health Organ* , 845 - 850.

Mercado, R. (1990). Fiebre Hemorrágica Boliviana. Revista de la Sociedad de Neurología. Revista de la Sociedad de Neurología .

Meyer, B. J., de la Torre, J. C. y Southern, P. J. (2002). Arenaviruses: genomic RNAs, transcription, and replication. Curr Top Microbiol Inmunol 262, 139-157.

Mitchell SW, M. J. (1984). Physicochemical inactivation of Lassa, Ebola, and Marburg viruses and effect on clinical laboratory analyses. J Clin Microbiology , 486 - 489.

Morse, S. S. (1999). "Factors in the Emergence of Infectious Diseases". . Emerging Infectious Diseases , 904.

Organization, P.A.H., Machupo Hemorrhagic Fever. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. Vol. II.2003

Palacios, G., Druce, J., Du, L., Tran, T., Birch, C., Briese, T., Conlan, S., Quan, P. L., Hui, J., Marshall, J., Simons, J. F., Egholm, M., Paddock, C. D., Shieh, W. J., Goldsmith, C. S., Zaki, R., Catton, M. y Lipkin, W. I. (2008). A new arenavirus in a cluster of fatal transplant-associated diseases. N Engl J Med 358, 991-998.

Peters, C. J., Kuehne, R. W. y Mercado, R. R. (1974). Hemorrhagic fever in Cochabamba, Bolivia, 1971. Am J Epidemiol 99: 425-433.

Peters, C. J. y Oldstone, M. A. (2002). Human infection with arenaviruses in the americas. In Arenaviruses I: the epidemiology, molecular and cell biology of arenaviruses, pp 65-74. Edited by R. W. compans, M. Cooper, H. Koprowski, M. B. A. Oldstone, M. Potter y P. K. Vogt: Springer.

Rivera Pomar, R. V., Manzella, E. M., Ghiringhelli, P. D., Grau, O. y Romanowsky, V. (1991). Patterns of transient expression of the arenavirus nucleocápsid protein gene in transfectes cells. MicroscElectron BioCelular 15, 41-55.

Ruggiero, H. Magnoni, Cl. Milani, H. Cintora, A. Perez Izquierdo, F. (1972). Tratamiento de la FHA con plasma convaleciente. La prensa Médica Argentina, Buenos Aires, v59, 1578,

Romay, M. (2000). Fiebre Hemorrágica Boliviana. Anuario Epidemiológico. Ministerio de Salud y Previsión Social, 81-84

Salas, B. V. (1994). "Latin American Hemorrhagic Fevers," . Infectious Disease Clinics of North America , 56.

Salazar-Bravo, J., Ruedas, L. A. y Yates, T. L. (2002). Mammalian reservoirs of arenavirus. In *Arenaviruses I: the epidemiology, molecular and cell biology of arenaviruses*, pp. 25-63. Edited by R. W. Compans, M. Cooper, H. Koprowski, M. B. A. Oldstone, M. Potter y P. K. Vogt: Springer

Salvato, M. S., Clegg, J. C. S., Peters, C. J., Rico-Hesse, R. y Romanowsky, V. (2005). *Arenaviridae* In *Virus Taxonomy VIIIth report of the ICTV*, pp. 725-733. Edited by C. M. Fauquet, J. Maniloff, M. A. Mayo, U. Desselberger y L. A. Ball. London: Elsevier/Academic Press

Stephen S. Morse, e. (1993). *Emerging Viruses* . University Press, (pág. 226). New York.

Stinebaugh BJ, S. F. (1966). Bolivian hemorrhagic fever: a report of four cases. *Am J Med Trop Hyg* , 217 - 230.

Strecker, T., Eischler, R., Meulen, J., Weissenhorn, W., Dieter, K. H., Garten, W. y Lenz, O. (2003). Lassa virus Z protein is a matrix protein and sufficient for the release of virus-like particles [corrected]. *J Virol* 77, 10700-10705.

Traub, E. (1935). A filterable virus recovers from mice. *Science* 81: 198-299.

Villegas Romay M. (2000). *Anuario Epidemiológico* . La Paz: Ministerio de Salud y Previsión Social - Dirección General de Epidemiología.

Weissenbacher, M. C., de Guerrero, L. B. y Boxaca, M. C. (1975). Experimental biology and pathogenesis of Junin virus among laboratory workers. *J Infect Dis* 137, 309-313.

WHO, W. H. (1985). "Report of a WHO Expert Committee, Haemorrhagic Fevers," *Technical Report Series no. 721*. Geneva.

WHO, W. H. (1985). "Technical Report Series 721," *Viral Haemorrhagic Fevers. Report of a WHO Expert Committee*.

11. ANEXOS

A) ANEXO 1.

RECuento DE LEUCOCITOS

Para el recuento de leucocitos se emplea la pipeta dilutora con una dilatación en la parte proximal que permite una dilución del 1/20. Alternativamente puede emplearse también un capilar graduado a 0.05 mL.

TÉCNICA

Realizar la toma de muestra sanguínea según técnica.

1. Enrasar la pipeta de dilución hasta 0.5 con sangre total.
2. Aspirar el líquido de turk hasta el siguiente enrase con lo cual se consigue una dilución de la sangre del /20. Para facilitar la aspiración, se conecta el extremo proximal de la pipeta de dilución a un tubo de goma de 25 a 30 cm que lleve incorporada una boquilla.
3. Agitar suavemente el contenido del bulbo, y una vez desechadas las tres primeras gotas, se procede a llenar la cámara cuentaglóbulos por capilaridad.
4. Observar al microscopio mediante el objetivo de 40X.
5. Contar los 4 cuadrados de los extremos de la cámara de Neubauer (1 mm).
6. Para el cálculo de los resultados se procede a multiplicar el número de leucocitos contados en los 4 cuadrados, por el factor 50. (Vives Corrons JL, 2006)

B) ANEXO 2.

RECuento DE PLAQUETAS

Para el recuento de plaquetas la sangre total se diluye en una solución que impida la agregación de las plaquetas. El recuento puede hacerse, al igual que en el caso de los eritrocitos y leucocitos, mediante un microscopio óptico, aunque para una mejor visualización de las plaquetas, y gracias a su carácter birrefringente, es recomendable emplear uno de contraste de fases.

TÉCNICA

1. Se incide en el pulpejo del dedo tras desechar la primera gota.
2. Aspirar por capilaridad la micropipeta de 20 uL manteniéndola horizontal.
3. Se diluye el contenido de la pipeta en 1.98 mL de solución de oxalato de amonio al 1%. Presionar varias veces las paredes del recipiente hasta que la muestra quede diluida en la solución.
4. Se deja la muestra en agitación durante 5 minutos.
5. Llenar la cámara de Neubauer y dejarla en reposo durante a 15 minutos en una cámara húmeda para evitar la evaporación.
6. Mediante el microscopio óptico se cuentan las plaquetas presentes en 8 cuadraditos de los 16 que existen en un cuadro de la cámara; se aconseja contar los cuadraditos situados en diagonal. Luego se cuentan otros 8 cuadraditos en otro cuadro situado en el ángulo opuesto de la cámara.
7. Para el cálculo de los resultados: la suma de los dos recuentos (16 cuadritos) corresponde a las plaquetas presentes en un volumen de 0.1 uL. Multiplicar por 10 (valor de 1 uL), luego por 100 (factor de dilución). (Vives Corrons JL, 2006)

C) ANEXO 3.

MÉTODO DEL MICROHEMATÓCRITO

Para la medida del Hematócrito se determina aplicando a la sangre total una fuerza de $12 - 15 \times 10^3$ rpm en un tubo capilar. Por su mayor rapidez, simplicidad y fiabilidad, es el método recomendado por el ICSH (International Committee for Standardization in Haematology) y el NCCLS (National Committee for Clinical and Laboratory Standards).

MATERIAL

1. Sangre total (50 uL) tratada con EDTA-K₃.
2. Tubos capilares de vidrios desechables y no graduados cuyas dimensiones son: 1 mm de diámetro interior, 7.5 cm de longitud y un espesor de pared entre 0.18 y 0.23 mm. Estos tubos capilares vienen comercializados con y sin anticoagulante. Los capilares con anticoagulante contienen heparina a la concentración de 2 U y una franja roja en uno de sus extremos. Los capilares sin anticoagulante carecen de la franja roja. Este tipo de capilares son los que se recomiendan en la práctica clínica.
3. Cera o plastilina para cerrar uno de los extremos del tubo capilar una vez lleno de sangre.
4. Centrífuga de microhematócrito con radio superior de 8 cm, que permite aplicar una fuerza centrífuga que varía entre 10.000 y 15.000 rpm durante un tiempo controlado automáticamente.
5. Lector de microhematócrito capaz de indicar directamente la relación entre la longitud total de la columna sanguínea y la correspondiente a la columna de eritrocitos.

TÉCNICA

1. Llenar hasta un máximo de tres cuartas partes de la capacidad del tubo capilar con sangre total y sellar un extremo del mismo con cera o plastilina.

2. Centrifugar el capilar durante 5 minutos (o 10 minutos si el hematocrito es >0.5). La temperatura no debe ser superior a 40 °C durante todo el tiempo que dure la centrifugación.

3. Finalizada la centrifugación, comprobar que no se haya producido salida de sangre del capilar y extraerlo de la centrífuga. Para leer el resultado puede emplearse un lector de microhematócrito, colocando el tubo en una ranura al efecto, de modo que la línea de separación de plasma/eritrocitos coincida con la línea vertical de la ranura. Se mueve el disco giratorio de manera que una de las líneas que lleva grabadas pase por el límite inferior de la columna eritrocitaria y la otra por el límite superior del plasma. El valor hematocrito puede leerse directamente sobre el lector. Si no se dispone de lector, el hematocrito puede determinarse mediante una simple regla graduada. La determinación del hematocrito debe realizarse por duplicado y la diferencia entre los dos valores obtenidos nunca debe ser superior a 0.01.

D) ANEXO 4.

VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR

Tradicionalmente, este proceso se ha determinado midiendo la longitud de la columna de plasma (en mm) que queda por encima de los eritrocitos después de un tiempo de sedimentación (1 – 2 horas). Dado que el tiempo mínimo necesario para completar todo el proceso es de 40 minutos, la medida se ha estandarizado en 60 minutos.

TÉCNICA

1. Sangre total (1- 2 mL) tratada con anticoagulante EDTA.
2. Pipeta de sedimentación. Es un tubo calibrado de cristal o material plástico desechable con medidas bien definidas de longitud (300 ± 1.5 mm) y calibre (2.55 ± 0.15 mm), que deben mantenerse estrictamente constantes a lo largo del mismo. En su superficie externa, el tubo – llamado también pipeta de Westergren – tienen grabada una escala graduada en milímetros (mm) desde 0. Además, cuenta con un soporte con capacidad variable que inmoviliza la pipeta en posición estrictamente vertical ($\pm 1^\circ$) e impide la salida de sangre por el extremo inferior de la misma.
3. Llenar la pipeta de Westergren mediante una propipeta, o cualquier otro sistema de succión mecánico, hasta que la sangre alcance el enrase o marca de 0.
4. Colocar la pipeta en el soporte procurando que quede estrictamente vertical. Debe vigilarse de modo especial la temperatura ambiente o la presencia de vibraciones, la incidencia directa de la luz solar u otros factores capaces de modificar la prueba. La pipeta debe permanecer en dicha posición durante un tiempo de 60 minutos.
5. Una vez transcurrido éste tiempo, se lee la distancia entre la superficie del menisco de la columna eritrocitaria y la parte superior de la columna de sangre situada a nivel de la marca 0 de la escala graduada. El valor de ésta distancia,

expresado en milímetros, corresponde al de la eritrosedimentación durante la primera hora.

E) TABLA 14.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	MARZO	ABRIL				MAYO				JUNIO				JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE				NOVIEMBRE				DICIEMBRE				ENERO														
	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4																							
ELABORACIÓN PROTOCOLO	█																																																			
ELABORACIÓN BASE DE DATOS									█																																											
RECOLECCIÓN DE DATOS									█				█				█				█																															
ANÁLISIS DE DATOS																									█																											
REDACCIÓN DE RESULTADOS																													█																							
REDACCIÓN TESIS																													█																							
PRESENTACIÓN TESIS																													█																							

12. CONSENTIMIENTO INFORMADO**UNIVERSITAT DE BARCELONA****COMISSIÓ DE BIOÈTICA****ANNEX I**

Declaració de no existència d'experimentació en éssers humans ni la utilització de mostres biològiques d'origen humà.

El/La sotaginant , investigador/a principal del projecte intitulat

DECLARO QUE:

El projecte abans ressenyat no implica cap tipus d'experimentació en éssers humans ni la utilització de mostres biològiques d'origen humà.

El que faig constar a fi que la Comissió de Bioètica de la Universitat de Barcelona n'emeti l'informe corresponent.

Nom i cognoms: Valeria Brückner Cuéllar

Departament:

Adreça postal:

Telèfon:

Fax:

Correu electrònic:

Signatura:

Barcelona, 28 de septiembre de 2013 .

Aquest full s'ha adjuntar a la sol·licitud del projecte de recerca que queda dipositada a l'Oficina de Gestió de la Recerca i Convenis.