

Biomédica 2011;31:451-64

REVISIÓN DE TEMA

Hantavirus como agentes emergentes de importancia en Suramérica

Andrés F. Londoño¹, Silvana Levis², Juan D. Rodas¹¹ Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias, Centauro, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia² Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas, Pergamino, Argentina

Los albores del siglo XX estuvieron marcados por el surgimiento de agentes infecciosos y el resurgimiento de otros considerados controlados, eventos ambos posiblemente conectados con alteraciones ecológicas que condujeron al reconocimiento de un notorio cambio climático, del cual apenas comenzamos a ver los efectos.

Entre todas las variedades de agentes infecciosos considerados nuevos, los virus sobresalen en número no sólo por su capacidad de proliferación, sino también por su versatilidad genética, lo que los hace más diestros para evolucionar y adaptarse a nuevas circunstancias.

Uno de los agentes virales más ubicuos y populares de las Américas en los últimos tiempos, son los transmitidos por roedores silvestres y urbanos, y entre estos, están los hantavirus causantes de un conocido síndrome pulmonar humano. Este género viral, del cual se han descubierto cerca de 18 agentes sólo en Suramérica en las últimas dos décadas, pertenece a la familia Bunyaviridae; aunque muchos de sus representantes sólo causan infecciones persistentes en roedores silvestres (miembros de la subfamilia Sigmodontinae) y subclínicas en el hombre, otros pueden causar una letalidad humana del 60 %.

El objetivo de este documento fue revisar el estado actual del conocimiento de algunos aspectos generales de los hantavirus y las enfermedades que producen en el mundo, mencionando de paso los hallazgos más recientes en nuestro país. Al final se discuten algunas de las muchas dudas aún presentes respecto a la importancia clínica y los impactos que estos agentes puedan ocasionar sobre la salud pública humana en Colombia.

Palabras clave: hantavirus, enfermedades transmisibles emergentes, ratones, personas, agricultura, Colombia.

Hantavirus as important emerging agents in South America

The dawning of the 20th century was marked by the emergence of new infectious disease agents and the appearance of others previously thought controlled. Both phenomena were possibly connected with ecological disturbances that led to the recognition of a dramatic climate change, of which the effects are only now becoming noticeable.

Among the variety of agents to be considered, the many new viruses stand out, not only for their numerical proliferation, but also for their genetic versatility. It is this quality that provides them dexterity for evolving new strategies and adaptations to changing environmental conditions.

Recently, some of the most ubiquitous and well-publicized viral agents in the American continents have been the rodent-borne viruses, and among these are the hantaviruses, etiological agents of pulmonary syndromes. Approximately 18 hantaviruses (belonging to the family Bunyaviridae), have been discovered in South America during the last 20 years, and although most of them cause persistent infections and subclinical infections in wild rodents (particularly members of the subfamily Sigmodontinae) and humans respectively; some others might also be highly lethal for humans.

The goal herein is to review the state of the art regarding general aspects of hantaviruses and the diseases they cause around the world, highlighting the most recent findings in Colombia. Finally, the many unanswered questions will be recognized and highlighted concerning clinical importance and socio-economic impact of these agents on quality of public health in Colombia.

Key words: Hantavirus; communicable diseases, emerging; mice, persons, agriculture, Colombia.

Contribución de los autores:

Andrés Londoño recopiló gran parte de la información bibliográfica y del contenido en las tablas.

Silvana Levis asesoró la revisión, sugirió modificaciones de estilo y suministró ideas para la discusión.

Juan D. Rodas corrigió el manuscrito, propuso el orden y manejo de los distintos temas y estructuró la discusión.

En los últimos 30 años, se han identificado más de 30 agentes etiológicos nuevos que causan enfermedades infecciosas. Algunos de ellos son responsables de enfermedades emergentes potencialmente letales para los humanos, como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus del Ébola, el de Marburg y los arenavirus, responsables de fiebres hemorrágicas, varios virus asociados a encefalitis y los hantavirus, agentes etiológicos en las Américas del síndrome pulmonar por hantavirus (1). Algunas de estas enfermedades están asociadas a roedores, que actúan como reservorios de agentes infecciosos llamados robovirus (*rodent-borne viruses*). Entre estos agentes se encuentran los miembros de dos géneros de virus ARN de polaridad negativa, los arenavirus y los hantavirus, ambos de distribución mundial (2).

El género Hantavirus pertenece a la familia Bunyaviridae; en éste género se clasifican varios agentes, algunos de los cuales causan la fiebre hemorrágica con síndrome renal que se presenta en Asia y Europa, otros, la nefritis epidémica en Europa central, y otros, el síndrome pulmonar por hantavirus en el continente americano (3). Anualmente se registran entre 150.000 y 200.000 casos de fiebre hemorrágica con síndrome renal en todo el mundo, más de la mitad de los cuales ocurre en China, con una letalidad entre 1 y 15 % (4). Para el síndrome pulmonar por hantavirus se encuentra una menor incidencia, cerca de 2.000 casos hasta el 2004, con una letalidad aproximada de 20 % (5) y que osciló entre 40 y 60 %, para los primeros casos que se presentaron en Norteamérica (6).

Aunque existen múltiples evidencias de infección por hantavirus en Suramérica (cuadros 1 y 2), en Colombia sólo contamos con escasos estudios de tipo serológico y ninguna prueba genética de su presencia. El objetivo de esta revisión fue hacer un recuento histórico de los principales temas hasta llegar a los trabajos que han demostrado la circulación de estos virus en Colombia, incluyendo la primera evidencia genética de hantavirus en nuestro país.

Correspondencia:

Juan David Rodas, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera 75 N° 65-87, oficina 47-150, Ciudadela de Robledo; Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias, Centauro, Sede de Investigación Universitaria, Carrera 53 N° 61-30, laboratorio 233, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
Telefax: (574) 219 9131 y 219 6525
juandavid.rodas@gmail.com

Recibido: 28/02/11; aceptado: 11/05/11

Morfología y estructura

Los hantavirus poseen una forma oval o esférica de 80 a 120 nm de diámetro, aunque algunos otros miembros de la familia Bunyaviridae pueden tener formas alargadas (170 nm) que son menos comunes. Son virus encapsulados, con cápside helicoidal, cuyo genoma es ARN monocatenario, de polaridad negativa y trisegmentado. Cada segmento se encuentra unido en forma no covalente a través de los extremos 5'-3' complementarios, simulando la forma de un mango de sartén (3,7).

La cápsula se obtiene por gemación en el aparato de Golgi de las células eucariontes y está formada por una bicapa lipídica con un grosor aproximado de 5 a 7 nm. Todos los hantavirus insertan dos glucoproteínas virales en la cápsula, anteriormente denominadas G₁ y G₂, observándose al microscopio electrónico como proyecciones hexagonales de 5 a 10 nm de longitud. La G₁ y la G₂ cumplen las veces de ligandos para la adherencia del virus a su receptor en las células blanco (en este caso, las β integrinas), favoreciendo la fusión de las membranas (8). Más recientemente, dichas glucoproteínas se han denominado Gn y Gc, refiriéndose respectivamente a los extremos aminoterminal o carboxiterminal de la poliproteína que les da origen (3).

Cada virión contiene tres nucleocápsides formadas por cada uno de los segmentos de ARN y la proteína N. Cada segmento genómico se denomina según su tamaño: L, M y S, como grande, mediano y pequeño. El segmento L codifica por la transcriptasa viral o ARN polimerasa dependiente de ARN. El M codifica por las dos glucoproteínas anteriormente mencionadas (Gn y Gc). Finalmente, el segmento S, codifica la proteína de la nucleocápside o N. Las cápsides están constituidas por la proteína N, que se asocia con la formación de anticuerpos específicos para el género (3).

Propiedades físicas

El hecho de que los agentes del género Hantavirus posean cápsula, los hace sensibles a la mayoría de los desinfectantes y detergentes de uso doméstico, incluidas las soluciones de hipoclorito de sodio y el alcohol etílico al 70 %. Su labilidad a las radiaciones ultravioleta ocasiona su rápida destrucción en ambientes ventilados con exposición al sol. El virus es inactivado a una temperatura superior a 37 °C (por ejemplo, 30 minutos a 60 °C), mientras que permanece estable a 4 °C durante 12 horas. Igualmente, se inactiva en condiciones extremas de pH y con altas concentraciones salinas (5).

Cuadro 1. Principales hantavirus desde Panamá hasta el Cono Sur de Suramérica

Hantavirus patógenos descritos desde Panamá hasta el Cono Sur de Suramérica		
Hantavirus	Reservorio	Referencia
Choclo virus	<i>Oryzomys fulvescens</i>	Salazar-Bravo, <i>et al.</i> 2004
Castelo dos Sonhos Virus	Reservorio no identificado	Johnson, <i>et al.</i> , 1999
Araraquara virus	<i>Bolomys lasiurus</i>	Johnson, <i>et al.</i> , 1999
Juquitiba virus	<i>Oryzomys nigripes</i>	Suzuki, <i>et al.</i> , 2004
Laguna Negra virus	<i>Calomys laucha</i>	Johnson, <i>et al.</i> , 1997
Orán virus	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	Calderón, <i>et al.</i> , 1999
Bermejo virus	<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	Padula <i>et al.</i> , 2002
Central Plata virus	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	Delfraro, <i>et al.</i> , 2003
Lechiguanas virus	<i>Oligoryzomys flavescens</i>	Levis, <i>et al.</i> , 1997
Andes virus	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	Levis, <i>et al.</i> , 1998
Hantavirus no-patógenos descritos desde Panamá hasta el Cono Sur de Suramérica		
Hantavirus	Reservorio	Referencia
Calabazo virus	<i>Zygodontomys brevicauda cherriei</i>	Salazar-Bravo, <i>et al.</i> , 2004
Maporal virus	<i>Oecomys bicolor</i> y <i>Oligoryzomys fulvescens</i>	Fulhorst, <i>et al.</i> , 2004 Milazzo, <i>et al.</i> , 2002
Caño Delgadito Virus	<i>Sigmodon alstoni</i>	Fulhorst, <i>et al.</i> , 1997
Anajatuba virus	<i>Oligoryzomys fornesi</i>	Rosa, <i>et al.</i> , 2005
Rio Mearim virus	<i>Holochilus sciureus</i>	Rosa, <i>et al.</i> , 2005
Rio Mamore virus	<i>Oryzomys microtis</i>	Bharadwaj, <i>et al.</i> , 1997
Maciel virus	<i>Necromys benefactus</i>	Levis, <i>et al.</i> , 1998
Pergamino virus	<i>Akodon azarae</i>	Levis <i>et al.</i> , 1998

Cuadro 2. Países desde Panamá hasta el Cono Sur de Suramérica, en los cuales se ha reportado el síndrome pulmonar por hantavirus.

Virus	País	Referencia
Choclo virus	Panamá	Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2000
Castelo dos Sonhos virus	Brasil	Johnson, <i>et al.</i> , 1999
Araraquara virus	Brasil	Johnson, <i>et al.</i> , 1999
Juquitiba virus	Brasil	Da Silva, <i>et al.</i> , 1997
Laguna Negra virus	Bolivia	Johnson, <i>et al.</i> , 1997
	Paraguay	Johnson, <i>et al.</i> , 1997
	Argentina	Levis, <i>et al.</i> , 2004
	Brasil	Raboni, <i>et al.</i> , 2009
Orán virus	Argentina	Calderón, <i>et al.</i> , 1999
Bermejo virus	Argentina	Padula, <i>et al.</i> , 2002
Central Plata virus	Argentina	Martínez, <i>et al.</i> , 2001
Lechiguanas virus	Argentina	Levis, <i>et al.</i> , 1997
Andes virus	Argentina	Martínez, <i>et al.</i> , 2010
	Chile	Toro, <i>et al.</i> , 1998

Ciclo de replicación

Luego de su adhesión mediante las glucoproteínas Gn y Gc, se produce la endocitosis de la partícula viral, y dentro de la vesícula endocítica se da la fusión de la cápsula viral con la membrana vesicular, lo que posibilita la entrada del virus. El virus se replica en el citoplasma de las células infectadas. Una vez que ocurre la transcripción del ARN genómico, se produce la síntesis proteica. Las proteínas son dirigidas al retículo endoplásmico

rugoso, donde se da la formación de la cápside. Las nucleocápsides así formadas emigran al aparato de Golgi, donde adquieren la envoltura por gemación; luego se agrupan para formar los nuevos viriones de la progenie que salen de la célula por exocitosis (3).

Historia

En las décadas de 1930 y 1940, los médicos rusos y japoneses describieron una enfermedad febril grave en los soldados de las tropas militares

en el este de Rusia y en el noreste de China que denominaron “nefritis epidémica” y “fiebre hemorrágica epidémica”, respectivamente. En aquel entonces se sugirió que ambas enfermedades podrían tener como agente causal un mismo virus (9). Años más tarde, a comienzos de la década de los 50, durante la guerra de Corea, se presentaron 3.200 casos de fiebre hemorrágica asociada a un síndrome con falla renal y una elevada letalidad en soldados de las Naciones Unidas. (3).

En 1976, Lee, *et al.*, demostraron que los sueros sanguíneos de los pacientes reaccionaban en pruebas serológicas con antígenos de tejido pulmonar de *Apodemus agrarius* (ratón campestre rayado) (10,11). De estos tejidos, los mencionados autores lograron aislar un agente al cual llamaron virus Hantaan, por el río del mismo nombre donde se presentó el primer brote de la enfermedad, y donde fue capturado el roedor (12); a la postre, el virus Hantaan fue designado como el prototipo del género Hantavirus. A partir de esta época, la fiebre hemorrágica con síndrome renal se comenzó a considerar como una infección endémica en varios países del continente Asiático y Europeo, presentándose anualmente miles de casos, especialmente en China (4,13). En 1981, se logró cultivar *in vitro* el virus Hantaan, y así se tuvo la primera oportunidad de estudiar sistemáticamente a este patógeno (14).

En América, el primer hantavirus asociado con enfermedad en humanos fue reconocido por primera vez en mayo de 1993, en Four Corners, región de Estados Unidos donde confluyen los estados de Nuevo México, Arizona, Colorado y Utah, donde se registró un brote de una enfermedad respiratoria grave con una letalidad de 52 % (6,15); a esta nueva entidad clínica se la denominó síndrome pulmonar por hantavirus (16-18). El agente etiológico de este síndrome se denominó virus Sin Nombre (16-18). Investigaciones epidemiológicas posteriores revelaron que el reservorio del virus Sin Nombre era el ratón ciervo (*Peromyscus maniculatus*) (19) y que, probablemente, el brote ocurrió como resultado de cambios climáticos (aumento de la pluviosidad), que favorecieron la disponibilidad de alimento y, por ende, el aumento en la población de estos roedores y su contacto con los humanos (20). A finales de ese mismo año en Juititaba, Brasil, fue confirmado por serología un brote de síndrome pulmonar por hantavirus en el que fallecieron dos personas; el nuevo hantavirus, caracterizado genéticamente a partir de tejido de

una persona fallecida en Sao Paulo, se denominó Juititaba (21,22).

Tres años más tarde, en 1996, se caracterizó el virus Andes a partir de un brote de síndrome pulmonar por hantavirus ocurrido en el suroeste de Argentina (23) y, en 1997, Johnson, *et al.*, lograron caracterizar el virus Laguna Negra a partir de muestras de riñón y corazón de dos roedores *Calomys laucha* seropositivos(24). Desde 1993 hasta la fecha, se ha reconocido la enfermedad y se han caracterizado genéticamente diferentes hantavirus en Argentina (23), Bolivia (25), Brasil (21), Chile (26), Paraguay (27), Uruguay (28) y Panamá (29); hubo un posible caso en Venezuela, aún sin publicar ni confirmar (A. Cáceres, citado por Rivas, 2003)(30).

En la actualidad, se han reconocido cerca de unos 50 tipos de hantavirus en el mundo, algunos de ellos aún en estudio (31,32).

En el año 2004, Máttar, *et al.*, informaron la primera evidencia serológica de circulación de hantavirus en Colombia; los investigadores reportaron una prevalencia de anticuerpos séricos contra hantavirus de 13,5 % en trabajadores sanos de áreas rurales de los departamentos de Sucre y Córdoba. Posteriormente, en 2006, Alemán, *et al.*, reportaron una prevalencia de 2,1 % en 336 roedores capturados en once municipios del departamento de Córdoba. Los porcentajes de resultados seropositivos, específicos por género de roedores, fueron 5,9 % en *Heteromys* sp. (1 de 17), 8,5 % en *Oryzomys* sp. (4 de 47), 9,1 % en *Oligoryzomys* sp. (1 de 11) y 50 % en *Proechimys* sp. (1 de 2) (33,34).

Más recientemente, nuestro grupo de investigación corroboró los datos de circulación serológica en humanos (datos sin publicar) y en roedores (35), gracias a una investigación financiada por Colciencias, realizada en tres municipios del Urabá antioqueño. Además, se encontró la primera evidencia genética de estos virus en roedores capturados en el municipio de Necoclí (figura 1).

A diferencia del trabajo de Máttar, *et al.*, realizado en personas sanas, nuestra población de estudio fueron pacientes febriles, negativos para malaria —examinados por gota gruesa—, que consultaron en los municipios de Apartadó, Turbo y Necoclí durante el período de agosto de 2007 a agosto de 2008. Se determinó una prevalencia humana de anticuerpos de tipo IgG anti-hantavirus por la técnica ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent*

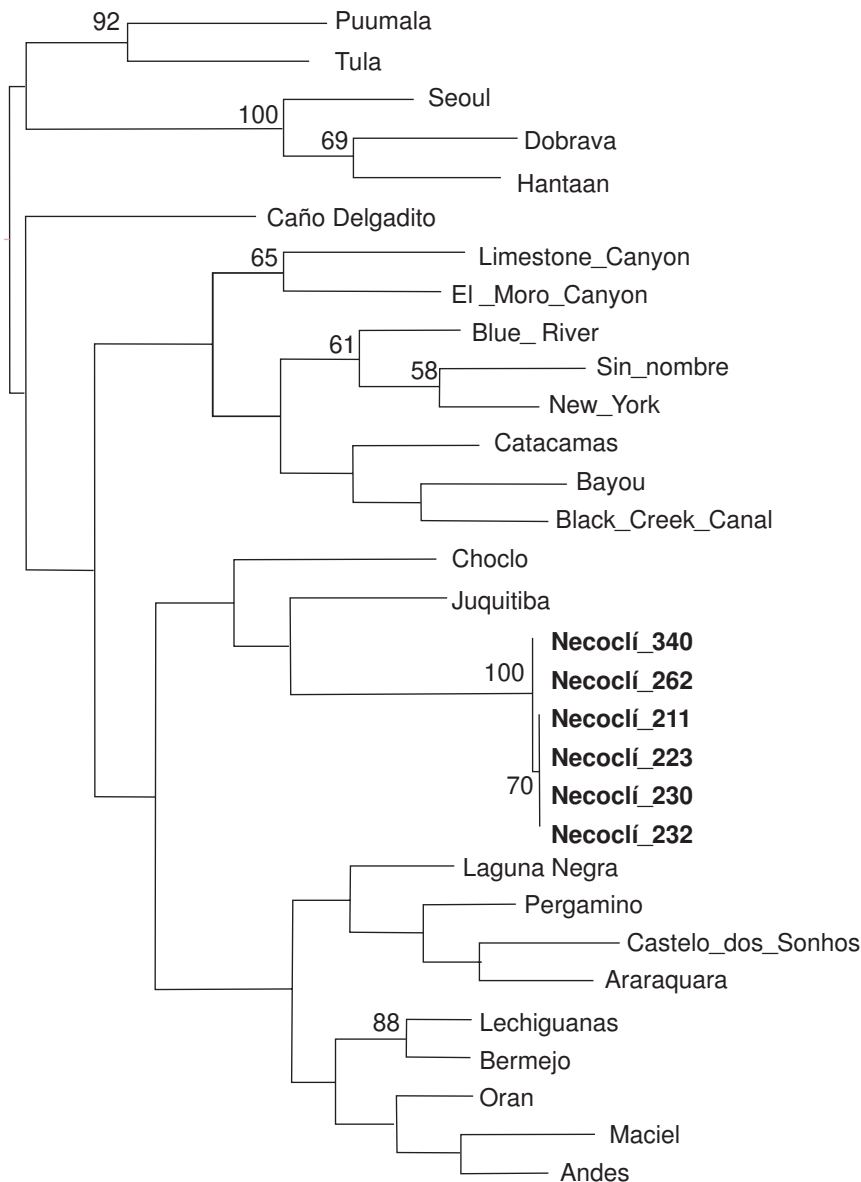


Figura 1. Árbol filogenético de hantavirus detectados en Necoclí, mostrando su relación con otros hantavirus del Nuevo Mundo. Diseñado con el método de máxima parsimonia. El análisis fue realizado con el programa PAUP, versión 4.10, y el árbol fue dibujado con el programa FigTree, versión 1.1.2. El árbol fue enraizado con 5 hantavirus del Viejo Mundo.

Assay) de 0,9 % (2 de 220). En uno de estos dos pacientes, se obtuvo una muestra en el periodo de convalecencia, sin que se observara seroconversión; estos resultados indicarían que se trataba de una infección pasada por hantavirus.

En cuanto al estudio realizado en animales, simultáneamente se capturaron 354 roedores en los municipios antes mencionados y se encontró una prevalencia de anticuerpos de tipo IgG anti-hantavirus de 4 % (15/354). Todos los roedores seropositivos fueron de la especie *Zygodontomys cherriei* (rata de la caña), lo que corresponde a 14 % de

resultados seropositivos para la especie (15 de 109 capturados). Once de los 15 *Z. cherriei* seropositivos resultaron positivos por RT-PCR para hantavirus; el análisis filogenético de las secuencias de nucleótidos de un fragmento del segmento genómico S correspondientes a 6 *Z. cherriei*, muestra que las mismas forman un “clade” único muy relacionado con el virus Juquitiba (figura 1) (35). Estos resultados indican la circulación de un hantavirus relacionado con el hantavirus Juquitiba en *Z. cherriei* de Colombia. Hasta el presente, se desconoce la capacidad de estos virus de infectar a humanos.

Epidemiología

Los hantavirus tienen una distribución mundial y, probablemente, debido a la similitud de su sintomatología con otros síndromes febriles indiferenciados —tales como leptospirosis, rickettsiosis, dengue y malaria—, la incidencia real de la infección producida por ellos podría superar los casos notificados (3).

En general, los principales reservorios son los roedores (2,36); sin embargo, se ha descrito que el reservorio del virus Thottapalayam es una musaraña (*Suncus murinus*) (37). Recientemente, se han identificado nuevos hantavirus en múltiples especies de musarañas (orden *Soricomorpha*, familia *Soricidae*), tanto en el Viejo Mundo como en las Américas, lo que sugiere que estos insectívoros podrían tener un papel en la ciclo ecológico de las infecciones por hantavirus.

El hombre se considera un huésped accidental con base en su baja capacidad de transmitirlo; sólo se ha registrado un caso de contagio entre humanos en Argentina (38). La transmisión por medio de heridas y mordeduras ocasionadas por ratones infectados, aunque inusual, también se ha documentado (39).

Los hantavirus conforman el único género de la familia Bunyaviridae que no es un arbovirus (*Arthropod-Borne viruses*). Solamente en Rusia, Japón y China, se ha reportado la posibilidad de que un tipo de ácaros (*Laelaps jettmari*) sea vector de un hantavirus. En China se demostró, incluso, la multiplicación del virus en dichos ácaros, así como la transmisión transovárica y transestadial —mantenimiento de la infección en los cambios de estadios, por ejemplo, de larva a ninfa— en los mismos (9,13,40).

La observación de que cada hantavirus tiene un género y especie de roedor diferente como reservorio primario, y de que sería en parte la distribución del reservorio lo que determinaría la distribución geográfica de cada hantavirus, ha dado lugar a la teoría de una posible evolución simultánea. Dicha hipótesis sostiene, con base en los análisis filogenéticos, que la evolución de los hantavirus se encuentra asociada a la de sus reservorios naturales. Lo anterior se observa mediante una evidente divergencia simultánea, cuando se comparan los análisis filogenéticos de los hantavirus y sus reservorios, que representa un indicio definitivo de especiación simultánea de los hantavirus con sus reservorios (41).

Los hantavirus americanos (hantavirus del Nuevo Mundo) causantes de síndrome pulmonar por hantavirus son portados por roedores de la subfamilia de *Sigmodontinae* (31), mientras que los hantavirus europeos y asiáticos (hantavirus del Viejo Mundo) provienen de las subfamilias *Murinae* y *Arvicolinae* (42).

Como se mencionó anteriormente, los brotes de hantavirus se han asociado frecuentemente a cambios estacionales de los factores climáticos, los cuales generan, a su vez, cambios en la dinámica de la población de roedores, que traen como consecuencia la competencia entre especies por el alimento, el espacio o el apareamiento, así como a la presencia o ausencia de depredadores y a las intervenciones humanas que alteran el ecosistema. Todos los anteriores factores se han contemplado como posibles explicaciones para el aumento del contacto entre los roedores y el hombre, especialmente en las zonas rurales (20,43-46).

Entre los factores de riesgo para la infección por hantavirus se encuentran oficios tales como los trabajos de granja y las actividades de limpieza o el ingreso a habitaciones cerradas con alta probabilidad de presencia de ratones, como galpones, cabañas, garajes, graneros, etc. Igualmente, estarían dentro de los grupos de alto riesgo, los campistas, espeleólogos y las personas que trabajan en campo con manipulación de estos animales y de su orina y heces, o que debido a actividades recreativas se acercan a sus madrigueras (5).

Inmunopatología

Los cuadros clínicos asociados con la infección por hantavirus —fiebre hemorrágica con síndrome renal y síndrome pulmonar por hantavirus— se explican en parte por su tropismo y su receptor de reconocimiento. Las células blanco son el endotelio vascular de diferentes órganos, mientras que los macrófagos, las células dendríticas y las células dendríticas foliculares, se consideran blancos secundarios de los hantavirus (47,48). La entrada de los hantavirus es mediada por receptores específicos del tipo de las β integrinas que, normalmente, cumplen funciones de mantenimiento de la integridad capilar, la reparación vascular y la respuesta inmunitaria celular (8).

La primera línea de defensa contra los virus es la inmunidad innata mediada por la producción de interferón de tipo 1 (IFN-1). Durante la replicación viral, el ARN de doble cadena (ARNdc) es el principal blanco para la activación de la vía del

IFN-1. De esta manera, las células infectadas crean un estado antiviral, tanto para ellas como para las vecinas que aún no han sido infectadas.

El IFN-1 activa la transcripción de proteínas antivirales, como la proteína Mx, una GTPasa que inhibe la replicación viral (3,49). Los trabajos *in vitro* con células endoteliales de vena umbilical humana, infectadas con el virus Hantaan, muestran un aumento en la expresión de interferón beta (IFN- β) como respuesta temprana antiviral, mientras que el factor regulador de interferón-7 (IRF-7), la proteína MxA y el procesamiento de antígenos, se presentan un poco más tardíamente (50). Otros estudios han demostrado que, incluso, las partículas del virus Sin Nombre inactivadas con rayos ultravioleta, estimulan la transcripción de genes del interferón (51).

Los hantavirus en cultivos celulares no producen un efecto citopático directo, lo que ha hecho pensar que su patogénesis podría ser explicada por los efectos secundarios sobre el funcionamiento de la célula blanco (endotelial) y, más específicamente, por la alteración de las moléculas usadas como receptores, es decir, las β integrinas, de manera que deterioraría la adhesión de los endotelios, haciéndolos más permeables.

Además, la respuesta inmunitaria celular y la respuesta inflamatoria que se da en el órgano infectado, parecen jugar un papel muy importante en el daño que sufre el huésped cuando tiene la infección (para este caso el humano, que es quien sufre la enfermedad), presentándose una inmunopatogénesis (patogénesis mediada por el sistema inmunitario), en la cual aparentemente las células dendríticas cumplen un papel importante. Los ensayos realizados con virus Hantaan muestran que las células dendríticas inmaduras que son infectadas, estimulan más eficientemente las células T que las células dendríticas maduras. Al mismo tiempo, estas células infectadas liberan una gran cantidad de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (FNT α) y el interferón alfa (IFN α) (47).

Tres hipótesis han tratado de explicar el mecanismo por el cual se aumenta la permeabilidad capilar que acompaña los síndromes clínicos asociados con la infección por los hantavirus:

- 1) el ataque por parte de las células T citotóxicas contra las células endoteliales infectadas que expresan antígenos virales;
- 2) el efecto directo del FNT α producido por monocitos/macrófagos sobre los endotelios; y

- 3) un efecto viral directo sobre la función de las células endoteliales (52).

Con respecto a este último punto, vale la pena resaltar que algunos autores han demostrado que los hantavirus patógenos inhiben selectivamente la función migratoria de las células endoteliales, la cual es esencial para la reparación y el mantenimiento de la integridad vascular (53).

Un hallazgo que apoya la primera hipótesis, se observó en el seguimiento clínico de un soldado croata con fiebre hemorrágica con síndrome renal, que mostró que en los estadios tempranos de la infección había un pequeño aumento de los linfocitos T CD4+ y un incremento en el receptor soluble de la interleucina 6. Cuando el paciente desarrolló dicho síndrome, todos los marcadores de activación de células T aumentaron (54).

Asimismo, en otros estudios se ha encontrado una estrecha asociación entre la gravedad del síndrome pulmonar por hantavirus y el aumento de las células T CD8+ específicas del virus Sin Nombre. Los pacientes con síndrome pulmonar por hantavirus grave que requirieron asistencia respiratoria mecánica, tuvieron valores de hasta 44,2 % de células T CD8+, mientras que los que presentaban un síndrome moderado y no requirieron asistencia respiratoria, tenían valores de hasta 9,8 % de células T CD8+ (55). Todo esto indica que el daño por hantavirus es de causa múltiple, en el cual la respuesta de citotoxicidad mediada por células juega un papel crucial.

Infeción por hantavirus

Roedores. La infección por hantavirus en su especie de roedor reservorio, se caracteriza por la ausencia de signos clínicos y el establecimiento de una infección persistente por meses o años (56). La transmisión entre los roedores se da por vía horizontal, principalmente por rasguños o mordeduras; los aerosoles también juegan un papel importante en la transmisión (57).

Los resultados de los estudios experimentales en roedores huésped, indican que hay una fase aguda, en la cual la replicación viral produce una viremia que alcanza su pico, aproximadamente, a las dos semanas después de la infección. Esta etapa es seguida por una fase de diseminación y replicación en el endotelio vascular de diferentes órganos, llegando a una fase de infección persistente, con ciclos de replicación a pesar de la presencia de títulos altos de anticuerpos.

Estos estudios coinciden en la presencia de infección persistente en pulmones, tanto en reservorios de virus del Viejo Mundo como en reservorios del nuevo mundo, y la eliminación de partículas virales en secreciones como la saliva, la orina y las heces, siendo la saliva la más importante (58-61). Además, estudios en *Rattus norvegicus* con el virus Seoul, muestran que, además de la predisposición que tienen los machos a adquirir la infección por las riñas territoriales, estos son más propensos que las hembras, por una deficiencia en la respuesta inmunitaria innata, mediada por influjo hormonal (62). Los mecanismos que favorecen la infección persistente en el reservorio, son desconocidos. Se cree que algunas de las respuestas inmunitarias desencadenadas en los humanos durante la infección, pueden ser suprimidas en el reservorio para establecer la persistencia viral (63). Los estudios de Easterbrook, *et al.*, muestran que las células T reguladoras (CD4+CD25+Foxp3+) podrían estar jugando un papel muy importante, ya que se encuentran aumentadas y activas en pulmones de roedores infectados, órgano donde se encuentra más frecuentemente el antígeno viral en infecciones crónicas. Las células T reguladoras favorecen la infección persistente por supresión o regulación negativa de citocinas proinflamatorias y células T efectoras (64).

Humanos. En contraste con la infección asintomática de los reservorios, la infección en los humanos frecuentemente resulta en enfermedad (63) y surge como consecuencia de la exposición a los aerosoles provenientes de saliva, orina y heces de roedores (65,66). En un comienzo, la infección se da en las células endoteliales de la microcirculación pulmonar; luego el virus pasa al torrente circulatorio y se replica en las células endoteliales de diferentes órganos (48). Existen tres formas clínicas comúnmente asociadas con la infección humana por hantavirus en diferentes sitios geográficos y con condiciones propias del agente y del huésped, a saber: fiebre hemorrágica con síndrome renal, síndrome pulmonar por hantavirus y nefritis epidémica.

Fiebre hemorrágica con síndrome renal. Se ha considerado clásicamente como una enfermedad rural, asociada con actividades agrícolas y con conflictos bélicos (67). El período de incubación es de dos a cuatro semanas y, típicamente, el curso de la enfermedad se divide en cinco fases: febril, hipotensiva, oligúrica, diurética y convaleciente.

El curso de la enfermedad varía desde casos subclínicos hasta fatales, dependiendo principalmente del virus implicado en la infección. Este síndrome es producido por los denominados virus del Viejo Mundo y, en orden ascendente de gravedad, tenemos al virus Puumala como el que provoca cuadros clínicos menos graves, pasando por el virus Seoul y llegando al virus Hantaan, el cual causa un cuadro de fiebre hemorrágica con síndrome renal generalmente grave. (68). Durante la fase febril, a menudo hay manifestaciones adicionales, como sed, náuseas, y vómito, dolor abdominal, fotofobia, visión borrosa, mareos y petequias. Además, se presenta formación de inmunocomplejos y coagulación intravascular diseminada, la cual es común en estos casos, pero no se presenta en cuadros de síndrome pulmonar por hantavirus. Los resultados de laboratorio clínico muestran trombocitopenia, linfocitosis y, en los cuadros más graves, proteinuria (10,69).

Síndrome pulmonar por hantavirus. Es una enfermedad aguda, a menudo fatal, restringida al continente americano. La letalidad alcanza cifras entre 40 y 60 %. Se caracteriza por infiltrado pulmonar intersticial y compromiso cardiorrespiratorio, clínicamente parecido al síndrome de dificultad respiratoria del adulto y, por sus características clínicas, actualmente se conoce como síndrome pulmonar por hantavirus. En la mayoría de los casos confirmados, se presenta con fiebre, escalofríos, dolor muscular, dolor de cabeza y síntomas gastrointestinales (70). El período de incubación para el virus Sin Nombre se determinó entre 9 y 33 días, con una media de 14 a 17 días (71), mientras que para el virus Andes es de 7 a 39 días, con una media de 18 días (72).

El síndrome se caracteriza por una fase prodrómica, que dura de dos a cuatro días y que se puede extender por 10 días; los síntomas comunes a esta fase se mencionan en el párrafo anterior. En los estadios finales de la fase prodrómica, los pacientes pueden sufrir de abdomen agudo. En Chile, hasta 25 % de los pacientes presentan erupción cutánea transitoria y de 10 a 20 % tienen derrame conjuntival. Luego sigue la fase cardiopulmonar, que se inicia con tos y dificultad respiratoria. En los casos leves, los pacientes se pueden estabilizar con oxígeno sin necesidad de asistencia respiratoria mecánica. Los casos graves, que representan al menos 60 % de los hospitalizados con síndrome pulmonar por hantavirus, desarrollan edema pulmonar e insuficiencia respiratoria en 12 horas o menos,

y requieren intubación y asistencia respiratoria mecánica.

Las radiografías de tórax en la fase del pródromo suelen ser normales, pero en la fase cardiopulmonar se observa edema intersticial bilateral. La mayoría de los casos graves desarrolla choque cardiogénico, hemoconcentración, acidosis láctica y la muerte en pocos minutos u horas después del inicio del choque. Esta fase dura de dos a cuatro días, pero en pacientes mantenidos con oxigenación por membrana extracorpórea, puede durar más tiempo. Los que sobreviven, entran a una fase diurética y, posteriormente, a una prolongada convalecencia (69,73).

Nefritis epidémica. En Europa central, se presenta una forma leve de fiebre hemorrágica con síndrome renal llamada nefritis epidémica; esta enfermedad es causada por el hantavirus Puumala y su reservorio es el roedor de la subfamilia Arvicolinae, *Myodes glareolus*.

El periodo de incubación tiene una media de dos a tres semanas, pero puede ser muy variable, como en el caso de una operaria de campo que después de trabajar en la captura de *M. glareolus* para la búsqueda del hantavirus Puumala, se infectó con el virus y a las seis semanas se iniciaron los síntomas clínicos. El inicio de la enfermedad se caracteriza por aparición brusca de fiebre, seguida por síntomas como dolor de cabeza, dolor abdominal, náuseas, vómito, diarrea y signos de insuficiencia renal. En algunos casos (hasta en 25 %) se observan miopatías agudas. La nefritis epidémica tiene un buen pronóstico y sólo una parte de los pacientes requieren hemodiálisis (74).

Diagnóstico viral

El diagnóstico de las infecciones por hantavirus comprende métodos clásicos tales como los serológicos y las técnicas moleculares. El diagnóstico definitivo se basa en pruebas serológicas para la detección de anticuerpos específicos de tipo IgM, los cuales se encuentran presentes generalmente desde el comienzo de los síntomas.

Clásicamente se ha utilizado la técnica de inmunofluorescencia indirecta (3), pero la más utilizada tanto en diagnóstico como en estudios epidemiológicos, es la ELISA, adaptándola con antígenos autóctonos de cada región (75,76). La ELISA IgM de captura que utiliza antígenos recombinantes o lisados celulares, ha permitido la detección de los casos de síndrome pulmonar

por hantavirus en la mayoría de los países americanos. Esta técnica detecta reacciones antigénicas cruzadas y demostró ser de utilidad en las infecciones agudas causadas por hantavirus genéticamente diferentes al antígeno utilizado en la prueba.

El aislamiento viral de muestras sanguíneas en la fase aguda no es utilizado de rutina; por lo general es negativo y, además, requiere de condiciones de bioseguridad de nivel tres o más. La razón por la cual es difícil cultivarlo en estas condiciones es desconocida, pero, es probable que la presencia de una fuerte respuesta inmunitaria con el inicio de la enfermedad interfiera con el cultivo por la presencia de anticuerpos neutralizadores.

La inmunohistoquímica se utiliza como prueba confirmatoria, en tejidos tomados de necropsias hechas a pacientes que mueren por la infección. Con esta prueba se logró diagnosticar la causa de muerte de un joven de 23 años que presentó síntomas indicativos de síndrome pulmonar por hantavirus en el año de 1983 y de quien aún se conservaban muestras de tejido (77).

La RT-PCR, por su parte, se ha convertido en una prueba de diagnóstico de gran valor, complementaria a las serológicas y particularmente efectiva durante la fase aguda de la enfermedad humana, o para la detección de virus en reservorios persistentemente infectados. Mediante el estudio de las secuencias amplificadas por esta vía, también ha sido posible comparar genéticamente los nuevos hantavirus con los ya disponibles en el Genbank y, de esa forma, establecer las distancias evolutivas entre los agentes del mismo género (3).

Tratamiento

No se cuenta con un tratamiento antiviral eficaz contra el síndrome pulmonar por hantavirus, aunque el fármaco ribavirina ha disminuido la letalidad por fiebre hemorrágica con síndrome renal, mostrando un efecto benéfico estadísticamente significativo cuando el tratamiento se aplica en etapas tempranas de la enfermedad (78).

Por el contrario, en Norteamérica, la ribavirina no ha mostrado ningún efecto benéfico en el síndrome pulmonar por hantavirus, pero los estudios se han llevado a cabo en la etapa cardiopulmonar. Lo anterior sugiere que la eficacia del tratamiento puede depender de la fase de la infección y de la gravedad de la enfermedad cuando se inicia el tratamiento, siendo particularmente efectivo sólo cuando se usa en la infección temprana (79-81).

Al parecer, la administración de anticuerpos neutralizadores durante la fase aguda del síndrome pulmonar por hantavirus, podría ser una alternativa efectiva de tratamiento y profilaxis contra la infección por hantavirus. Esta aproximación se basa en las observaciones de Bharadwaj, *et al.*, quienes midieron anticuerpos en pacientes hospitalizados y notaron que los títulos bajos de anticuerpos neutralizadores a menudo se asociaban con un cuadro clínico grave de la enfermedad, mientras que los títulos altos lo hacían con un cuadro leve (82). Además, Klingström, *et al.*, han demostrado la efectividad protectora de la inmunización pasiva en macacos (*Macaca fascicularis*) contra retos del hantavirus Puumala (83).

El tratamiento clínico eficaz depende principalmente de la administración cuidadosa de soluciones, la vigilancia hemodinámica y el soporte respiratorio. La evaluación de la evolución clínica del choque en casos de síndrome pulmonar por hantavirus, debe orientarse por el conocimiento de la fisiopatología básica del trastorno, es decir, la filtración profunda de capilares pulmonares en presencia de disfunción primaria del miocardio (5).

Prevención y control

El descubrimiento del mecanismo inmunitario protector contra hantavirus se ha visto obstaculizado por la falta de un buen modelo animal para la enfermedad (84). Sin embargo, varias vacunas se han evaluado como posibles candidatas, por su eficacia e inmunogenicidad. Entre ellas se incluyen vacunas inactivadas, vacunas de ADN, proteínas recombinantes y vectores virales como los adenovirus, los cuales han sido construidos para expresar la nucleoproteína o la glucoproteína (Gn y Gc) del virus Andes, y han sido probadas en hámsters, induciendo en ellos una apropiada respuesta inmunitaria protectora (85).

Se han desarrollado vacunas inactivadas contra la fiebre hemorrágica con síndrome renal, derivadas tanto de cerebro de ratón como de cultivos celulares, y se han probado en poblaciones humanas de Asia; sin embargo, ninguna se ha aprobado para su uso en los Estados Unidos (84). En Corea existe una vacuna comercial, Hantavax®, derivada de cerebro de ratón lactante; se ha utilizado por más de 10 años y no se han reportado efectos secundarios (84,86). En humanos también se han probado vacunas con vectores virales, como el virus de "vaccinia" recombinante que expresa los segmentos S y M del virus Hantaan, pero aún están en fase experimental (87).

Las medidas de prevención están enfocadas en evitar el contacto con roedores, y en la protección con mascarillas y guantes durante la limpieza de sitios de riesgo, tales como los sitios de depósito prolongado de alimentos y en centros de experimentación animal. Es importante llevar a cabo campañas de control de la población de roedores, tanto en el medio rural como en las ciudades, y es fundamental limitar el acceso de los roedores a las viviendas, así como evitar en todo momento la formación de aerosoles (5)

Discusión

Desde mayo de 1993 se reconoció un grupo de hantavirus capaces de causar el denominado síndrome cardiopulmonar, el cual comenzó en Norteamérica, y a partir de esta época, se dieron hicieron reportes en otros países de Centroamérica y Suramérica. En 2004 y 2006, se publicaron los primeros estudios serológicos que demostraron la circulación en el norte de Colombia, de hantavirus en humanos y roedores, respectivamente.

Como se mencionó anteriormente, hace poco comprobamos la circulación de hantavirus en roedores y humanos mediante serología y, con estudios genéticos, en roedores del Urabá antioqueño colombiano (35); además, los análisis filogenéticos preliminares sugieren la identificación de un nuevo hantavirus. Por la experiencia de otros investigadores en Suramérica (comunicación personal con Juan Arbiza de Uruguay y Silvana Levis, coautora de este manuscrito, entre otros) y la propia, sabemos que, en la medida que se buscan pruebas de una manera ordenada y sistemática, existe gran posibilidad de encontrar y hacer una buena descripción de estos agentes, con el potencial descubrimiento de nuevos agentes virales.

Vale la pena destacar que la posibilidad de falsos positivos en roedores en nuestro estudio es improbable, ya que de la mayoría de los que fueron serológicamente positivos, también se obtuvieron demostraciones genéticas. En cuanto a los falsos negativos, es factible, aunque de nuevo bastante improbable, haber capturado animales que habiendo estado expuestos a los hantavirus aún no hubieran desarrollado una respuesta serológica detectable (ventana inmunológica); de cualquier manera, para detectar estos sería necesario practicar RT-PCR a todos los animales seronegativos, trabajo que resultaría bastante oneroso y posiblemente frustrante, y a la larga, agregaría escaso valor científico a nuestros resultados. Es debido a lo

anterior que la estrategia comúnmente empleada por todos los investigadores consultados en el cono sur de Suramérica, es la serología de posibles reservorios, seguida de la prueba molecular de los mismos. Este parece ser el método más eficiente y barato para obtener los mejores resultados.

De otro lado, es muy probable que varios de los virus detectados no sean patógenos para el hombre y, de hecho, según el análisis filogenético, nuestras secuencias se parecen más al virus Calabazo de Panamá (no patógeno para humanos) que al Choclo (patógeno para los humanos). Sin embargo, las implicaciones clínicas de la exposición a estos nuevos agentes para la salud pública humana, aún son motivo de controversia y se podría especular que, en algunos casos, las infecciones por hantavirus podrían confundirse clínicamente con leptospirosis pulmonar, influenza o rickettsiosis, debido a la falta de técnicas de diagnóstico disponibles. Más aún, podrían estarse presentando casos que aún no han sido detectados, debido a que nuestra muestra ha sido insuficiente, a que carecemos de los reactivos específicos (antígenos) para detectar los virus circulantes en nuestro medio, o simplemente, a que nuestro sistema de atención en salud es insuficiente para dar apropiada cobertura a toda la población, particularmente a los que, como en nuestro estudio, se encuentran en zonas de difícil acceso geográfico o en condiciones socioeconómicas precarias y pasan desapercibidos para una vigilancia epidemiológica inexistente.

Acorde con lo anteriormente expuesto, tenemos intenciones de continuar con este trabajo, haciendo intentos de aislamiento para obtener los reactivos "autóctonos" y desarrollar pruebas más específicas. Así mismo, aspiramos a conseguir recursos adicionales para desarrollar un estudio epidemiológico más amplio y juicioso en la zona descrita en nuestro estudio previo. Consideramos que se requiere también investigación de estos virus en diferentes partes del país, donde los cultivos agrícolas abundan y, por lo tanto, favorecen la proliferación de roedores silvestres y el aumento del contacto entre humanos y roedores, condición fundamental para su transmisión. Además, creemos que se requieren técnicas sensibles y directas (es decir, de detección antigénica o genética) para la detección de otros agentes posiblemente involucrados en los síndromes antes descritos y que nos permitan, en un futuro, establecer los factores de riesgo y las zonas de mayor posibilidad de contacto y transmisión con agentes emergentes.

Sólo al final de estos trabajos, podremos contar con las bases epidemiológicas y técnicas para diferenciar y manejar apropiadamente muchas de las entidades clínicas que hoy permanecen como un misterio, y evitar muertes innecesarias provocadas por brotes prevenibles.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Financiación

La publicación del presente manuscrito y los resultados en él resaltados, son producto del estudio *Search for serological and genetic evidence of emergent and re-emergent agents in humans and urban and rural rodents in Antioquia, Colombia*, patrocinado por Colciencias, código 111534319203.

Referencias

1. **Snell NJ.** Examining unmet needs in infectious disease. *Drug Discov Today.* 2003;8:22-30.
2. **Mills JN, Childs JE.** Ecologic studies of rodent reservoirs: Their relevance for human health. *Emerg Infect Dis.* 1998;4:529-37.
3. **Schmaljohn C.** Bunyaviridae. In: Wilkins LW, editor. *Fields virology.* 5th edition. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 1742-89.
4. **Lee HW, Lee PW, Baek LJ, Chu YK.** Geographical distribution of hemorrhagic fever with renal syndrome and hantaviruses. In: Calisher CH, editor. *Hemorrhagic fever with renal syndrome, tick- and mosquito-borne viruses.* Vienna: Springer-Verlag; 1991. p. 5-18.
5. **OPS.** Hantavirus en las Américas. Guía para el diagnóstico, el tratamiento, la prevención y el control. 1999. Fecha de consulta: 16 de diciembre de 2009. Disponible en: <http://www.paho.org/spanish/AD/DPC/CD/hantavirus-1993-2004.htm>
6. **Khan AS, Khabbaz RF, Armstrong LR, Holman RC, Bauer SP, Graber J, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome: The first 100 US cases. *J Infect Dis.* 1996;173:1297-303.
7. **Khaiboullina SF, Morzunov SP, St. Jeor SC.** Hantaviruses: Molecular biology, evolution and pathogenesis. *Curr Mol Med.* 2005;5:773-90.
8. **Gavrilovskaya IN, Shepley M, Shaw R, Ginsberg MH, Mackow ER.** Beta 3 integrins mediate the cellular entry of hantaviruses that cause respiratory failure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:7074-9.
9. **Gajdusek DC.** Virus hemorrhagic fevers. Special reference to hemorrhagic fever with renal syndrome (epidemic hemorrhagic fever). *J Pediatr.* 1962;60:841-57.
10. **Kanerva M, Mustonen J, Vaheri A.** Pathogenesis of Puumala and other hantavirus infections. *Rev Med Virol.* 1998;8:67-86.
11. **Lee HW, Lee PW.** Korean hemorrhagic fever. Demonstration of causative antigen and antibodies. *Korean J Intern Med.* 1976;19:371-83.

12. **Lee HW, Lee PW, Johnson KM.** Isolation of the etiologic agent of Korean Hemorrhagic fever. *J Infect Dis.* 1978;137:298-308.
13. **Song G.** Epidemiological progresses of hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Chin Med J (Engl).* 1999;112:472-7.
14. **French GR, Foulke RS, Brand OA, Eddy GA, Lee HW, Lee PW.** Korean hemorrhagic fever: Propagation of the etiologic agent in a cell line of human origin. *Science.* 1981;211:1046-8.
15. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Update: Outbreak of hantavirus infection—southwestern United States, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1993;42:477-9.
16. **Hjelle B, Jenison S, Torrez-Martínez N, Yamada T, Nolte K, Zumwalt R, et al.** A novel hantavirus associated with an outbreak of fatal respiratory disease in the southwestern United States: Evolutionary relationships to known hantaviruses. *J Virol.* 1994;68:592-6.
17. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Hantavirus pulmonary syndrome—United States, 1993. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1994;43:45-8.
18. **Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, Rollin PE, Ksiazek TG, Feldmann H, et al.** Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science.* 1993;262:914-7.
19. **Childs JE, Ksiazek TG, Spiropoulou CF, Krebs JW, Morzunov S, Maupin GO, et al.** Serologic and genetic identification of *Peromyscus maniculatus* as the primary rodent reservoir for a new hantavirus in the southwestern United States. *J Infect Dis.* 1994;169:1271-80.
20. **Engelthaler DM, Mosley DG, Cheek JE, Levy CE, Komatsu KK, Ettestad P, et al.** Climatic and environmental patterns associated with hantavirus pulmonary syndrome, Four Corners region, United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5:87-94.
21. **da Silva MV, Vasconcelos MJ, Hidalgo NT, Veiga AP, Canzian M, Marotto PC, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome. Report of the first three cases in Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1997;39:231-4.
22. **Iversson LB, Travassos da Rosa AP, Rosa MD, Lomar AV, Sasaki M, LeDuc JW.** Infecção humana por hantavírus nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. *Rev Ass Med Bras.* 1994;40:85-92.
23. **López N, Padula P, Rossi C, Lazaro ME, Franze-Fernández MT.** Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology.* 1996;220:223-6.
24. **Johnson AM, Bowen MD, Ksiazek TG, Williams RJ, Bryan RT, Mills JN, et al.** Laguna Negra virus associated with HPS in western Paraguay and Bolivia. *Virology.* 1997;238:115-27.
25. **Hjelle B, Torrez-Martínez N, Koster FT.** Hantavirus pulmonary syndrome-related virus from Bolivia. *Lancet.* 1996;347:57.
26. **Toro J, Vega JD, Khan AS, Mills JN, Padula P, Terry W, et al.** An outbreak of hantavirus pulmonary syndrome, Chile, 1997. *Emerg Infect Dis.* 1998;4:687-94.
27. **Williams RJ, Bryan RT, Mills JN, Palma RE, Vera I, De Velasquez F, et al.** An outbreak of hantavirus pulmonary syndrome in western Paraguay. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;57:274-82.
28. **Padula PJ, Colavecchia SB, Martínez VP, Gonzalez Della Valle MO, Edelstein A, Miguel SD, et al.** Genetic diversity, distribution, and serological features of hantavirus infection in five countries in South America. *J Clin Microbiol.* 2000;38:3029-35.
29. **Vincent MJ, Quiroz E, Gracia F, Sánchez AJ, Ksiazek TG, Kitsutani PT, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome in Panama: Identification of novel hantaviruses and their likely reservoirs. *Virology.* 2000;277:14-9.
30. **Rivas YJ, Moros Z, Morón D, Uzcátegui MG, Durán Z, Pujol FH, et al.** The seroprevalences of anti-hantavirus IgG antibodies among selected Venezuelan populations. *Ann Trop Med Parasitol.* 2003;97:61-7.
31. **Klein SL, Calisher CH.** Emergence and persistence of hantaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2007;315:217-52.
32. **NCBI.** Taxonomy. 2009. Fecha de consulta: 16 de diciembre de 2009. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=11598>.
33. **Mattar S, Parra M.** Serologic evidence of hantavirus infection in humans, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2004;10:2263-4.
34. **Alemán A, Iguaran H, Puerta H, Cantillo C, Mills J, Ariz W, et al.** First serological evidence of Hantavirus infection in rodents in Colombia. *Rev Salud Pública (Bogotá).* 2006;8(Suppl.1):1-12.
35. **Londoño AF, Díaz FJ, Agudelo-Florez P, Levis S, Rodas JD.** Genetic evidence of hantavirus infections in wild rodents from northwestern Colombia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011;11:701-8.
36. **Lee HW, Baek LJ, Johnson KM.** Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, from wild urban rats. *J Infect Dis.* 1982;146:638-44.
37. **Song JW, Baek LJ, Schmaljohn CS, Yanagihara R.** Thottapalayam virus, a prototype shrew-borne hantavirus. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:980-5.
38. **Wells RM, Sosa Estani S, Yadon ZE, Enría D, Padula P, Pini N, et al.** An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: Person-to-person transmission? Hantavirus Pulmonary Syndrome Study Group for Patagonia. *Emerg Infect Dis.* 1997;3:171-4.
39. **Schultze D, Lundkvist A, Blauenstein U, Heyman P.** Tula virus infection associated with fever and exanthema after a wild rodent bite. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002;21:304-6.
40. **Arikawa J, Yoshimatsu K, Kariwa H.** Epidemiology and epizootiology of hantavirus infection in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2001;54:95-102.
41. **Jackson AP, Charleston MA.** A cophylogenetic perspective of RNA-virus evolution. *Mol Biol Evol.* 2004;21:45-57.
42. **Schmaljohn C, Hjelle B.** Hantaviruses: A global disease problem. *Emerg Infect Dis.* 1997;3:95-104.
43. **Carroll DS, Mills JN, Montgomery JM, Bausch DG, Blair PJ, Burans JP, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome in Central Bolivia: Relationships between reservoir hosts,

- habitats, and viral genotypes. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72:42-6.
44. **Chu YK, Owen RD, González LM, Jonsson CB.** The complex ecology of hantavirus in Paraguay. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69:263-8.
 45. **McIntyre NE, Chu YK, Owen RD, Abuzeineh A, De la Sancha N, Dick CW, et al.** A longitudinal study of Bayou virus, hosts, and habitat. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73:1043-9.
 46. **Morens DM, Folkers GK, Fauci AS.** The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature.* 2004;430:242-9.
 47. **Raftery MJ, Kraus AA, Ulrich R, Kruger DH, Schonrich G.** Hantavirus infection of dendritic cells. *J Virol.* 2002;76:10724-33.
 48. **Zaki SR, Greer PW, Coffield LM, Goldsmith CS, Nolte KB, Foucar K, et al.** Hantavirus pulmonary syndrome. Pathogenesis of an emerging infectious disease. *Am J Pathol.* 1995;146:552-79.
 49. **Kanerva M, Melen K, Vaheri A, Julkunen I.** Inhibition of Puumala and Tula hantaviruses in vero cells by MxA protein. *Virology.* 1996;224:55-62.
 50. **Kim IW, Hwang JY, Kim SK, Kim JK, Park HS.** Interferon-stimulated genes response in endothelial cells following Hantaan virus infection. *J Korean Med Sci.* 2007;22:987-92.
 51. **Prescott J, Ye C, Sen G, Hjelle B.** Induction of innate immune response genes by Sin Nombre hantavirus does not require viral replication. *J Virol.* 2005;79:15007-15.
 52. **Terajima M, Hayasaka D, Maeda K, Ennis FA.** Immunopathogenesis of hantavirus pulmonary syndrome and hemorrhagic fever with renal syndrome: Do CD8+ T cells trigger capillary leakage in viral hemorrhagic fevers? *Immunol Lett.* 2007;113:117-20.
 53. **Gavrilovskaya IN, Peresleni T, Geimonen E, Mackow ER.** Pathogenic hantaviruses selectively inhibit beta3 integrin directed endothelial cell migration. *Arch Virol.* 2002;147:1913-31.
 54. **Markotic A, Gagro A, Dasic G, Kuzman I, Lukas D, Nichol S, et al.** Immune parameters in hemorrhagic fever with renal syndrome during the incubation and acute disease: Case report. *Croat Med J.* 2002;43:587-90.
 55. **Kilpatrick ED, Terajima M, Koster FT, Catalina MD, Cruz J, Ennis FA.** Role of specific CD8+ T cells in the severity of a fulminant zoonotic viral hemorrhagic fever, hantavirus pulmonary syndrome. *J Immunol.* 2004;172: 3297-304.
 56. **Meyer BJ, Schmaljohn CS.** Persistent hantavirus infections: Characteristics and mechanisms. *Trends Microbiol.* 2000;8:61-7.
 57. **Padula P, Figueroa R, Navarrete M, Pizarro E, Cadiz R, Bellomo C, et al.** Transmission study of Andes hantavirus infection in wild sigmodontine rodents. *J Virol.* 2004;78:11972-9.
 58. **Botten J, Mirowsky K, Kusewitt D, Bharadwaj M, Yee J, Ricci R, et al.** Experimental infection model for Sin Nombre hantavirus in the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:10578-83.
 59. **Botten J, Mirowsky K, Kusewitt D, Ye C, Gottlieb K, Prescott J, et al.** Persistent Sin Nombre virus infection in the deer mouse (*Peromyscus maniculatus*) model: Sites of replication and strand-specific expression. *J Virol.* 2003;77:1540-50.
 60. **Hutchinson KL, Rollin PE, Peters CJ.** Pathogenesis of a North American hantavirus, Black Creek Canal virus, in experimentally infected *Sigmodon hispidus*. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59:58-65.
 61. **Lee PW, Yanagihara R, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC.** Pathogenesis of experimental Hantaan virus infection in laboratory rats. *Arch Virol.* 1986;88:57-66.
 62. **Hannah MF, Bajic VB, Klein SL.** Sex differences in the recognition of and innate antiviral responses to Seoul virus in Norway rats. *Brain Behav Immun.* 2008;22:503-16.
 63. **Easterbrook JD, Klein SL.** Immunological mechanisms mediating hantavirus persistence in rodent reservoirs. *PLoS Pathog.* 2008;4:e1000172.
 64. **Easterbrook JD, Zink MC, Klein SL.** Regulatory T cells enhance persistence of the zoonotic pathogen Seoul virus in its reservoir host. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104:15502-7.
 65. **Lee HW, van der Groen G.** Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Prog Med Virol.* 1989;36:62-102.
 66. **Mesic S, Almedin H.** Investigation of modes of hantavirus infection transmission from rodents to humans. *Med Arh.* 2008;62:229-30.
 67. **Enria DA, Levis SC.** Emerging viral zoonoses: Hantavirus infections. *Rev Sci Tech.* 2004;23:595-611.
 68. **Vapalahti O, Mustonen J, Lundkvist A, Henttonen H, Plyusnin A, Vaheri A.** Hantavirus infections in Europe. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:653-61.
 69. **Peters CJ, Simpson GL, Levy H.** Spectrum of hantavirus infection: Hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. *Annu Rev Med.* 1999;50:531-45.
 70. **Rivers MN, Alexander JL, Rohde RE, Pierce JR Jr.** Hantavirus pulmonary syndrome in Texas: 1993-2006. *South Med J.* 2009;102:36-41.
 71. **Young JC, Hansen GR, Graves TK, Deasy MP, Humphreys JG, Fritz CL, et al.** The incubation period of hantavirus pulmonary syndrome. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62:714-7.
 72. **Vial PA, Valdivieso F, Mertz G, Castillo C, Belmar E, Delgado I, et al.** Incubation period of hantavirus cardiopulmonary syndrome. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1271-3.
 73. **Mertz GJ, Hjelle B, Crowley M, Iwamoto G, Tomacic V, Vial PA.** Diagnosis and treatment of new world hantavirus infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2006;19:437-42.
 74. **Kramski M, Achazi K, Klempa B, Kruger DH.** Nephropathia epidemica with a 6-week incubation period after occupational exposure to Puumala hantavirus. *J Clin Virol.* 2009;44:99-101.
 75. **Raboni SM, Levis S, Rosa ES, Bisordi I, Delfraro A, Lemos E, et al.** Hantavirus infection in Brazil: Development and evaluation of an enzyme immunoassay and immunoblotting based on N recombinant protein. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007;58:89-97.
 76. **Schountz T, Calisher CH, Richens TR, Rich AA, Doty JB, Hughes MT, et al.** Rapid field immunoassay for detecting

- antibody to Sin Nombre virus in deer mice. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1604-7.
77. **Zaki SR, Albers RC, Greer PW, Coffield LM, Armstrong LR, Khan AS, et al.** Retrospective diagnosis of a 1983 case of fatal hantavirus pulmonary syndrome. *Lancet.* 1994;343:1037-8.
78. **Huggins JW, Hsiang CM, Cosgriff TM, Guang MY, Smith JI, Wu ZO, et al.** Prospective, double-blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy of hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis.* 1991;164:1119-27.
79. **Chapman LE, Mertz GJ, Peters CJ, Jolson HM, Khan AS, Ksiazek TG, et al.** Intravenous ribavirin for hantavirus pulmonary syndrome: Safety and tolerance during 1 year of open-label experience. Ribavirin Study Group. *Antivir Ther.* 1999;4:211-9.
80. **Mertz GJ, Miedzinski L, Goade D, Pavia AT, Hjelle B, Hansbarger CO, et al.** Placebo-controlled, double-blind trial of intravenous ribavirin for the treatment of hantavirus cardiopulmonary syndrome in North America. *Clin Infect Dis.* 2004;39:1307-13.
81. **Jonsson CB, Hooper J, Mertz G.** Treatment of hantavirus pulmonary syndrome. *Antiviral Res.* 2008;78:162-9.
82. **Bharadwaj M, Nofchissey R, Goade D, Koster F, Hjelle B.** Humoral immune responses in the hantavirus cardiopulmonary syndrome. *J Infect Dis.* 2000;182:43-8.
83. **Klingstrom J, Stoltz M, Hardestam J, Ahlm C, Lundkvist A.** Passive immunization protects cynomolgus macaques against Puumala hantavirus challenge. *Antivir Ther.* 2008;13:125-33.
84. **Schmaljohn C.** Vaccines for hantaviruses. *Vaccine.* 2009;27(Suppl.4):D61-4.
85. **Safronetz D, Hegde NR, Ebihara H, Denton M, Kobinger GP, St. Jeor S, et al.** Adenovirus vectors expressing hantavirus proteins protect hamsters against lethal challenge with Andes virus. *J Virol.* 2009;83:7285-95.
86. **Sohn YM, Rho HO, Park MS, Kim JS, Summers PL.** Primary humoral immune responses to formalin inactivated hemorrhagic fever with renal syndrome vaccine (Hantavax): Consideration of active immunization in South Korea. *Yonsei Med J.* 2001;42:278-84.
87. **Schmaljohn CS, Hasty SE, Dalrymple JM.** Preparation of candidate vaccinia-vectored vaccines for haemorrhagic fever with renal syndrome. *Vaccine.* 1992;10:10-3.