

Fiebres Hemorrágicas por Hantavirus en Venezuela Hemorrhagic Fevers by Hantavirus in Venezuela

Clovis Vásquez*, **Rosalba Salas****, **Nuris de Manzione*****, **Héctor Paredes*****, **Lorenzo Basile***** y **Víctor Alarcón***.

* Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". MSDS.

** Asesora en Virología del Caribbean Epidemiology Centre (CAREC, PAHO-OMS). Trinidad y Tobago.

*** Centro de Investigaciones de Virosis Hemorrágicas y Enfermedades Transmisibles (CIVIHET). Estado Portuguesa, Venezuela.

Resumen

El género Hantavirus perteneciente a la familia Bunyaviridae, comprende al menos 30 virus, incluyendo aquellos que causan Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (FHRS) y los Hantavirus asociados con Síndrome Pulmonar (SPH). Los Hantavirus tienen su reservorio fundamental en los roedores y se atribuye a cada uno una especie de roedor como reservorio principal, pero se ha demostrado que un mismo Hantavirus puede infectar a diferentes especies de roedores y que una misma especie de roedor puede resultar infectada por varios Hantavirus.

Otra característica importante de los Hantavirus es que establecen una infección crónica de por vida en sus huéspedes naturales, denominada infección tolerante persistente, lo que resulta en una viremia con la eliminación del virus en forma continua, a través de orina, heces y saliva. La incidencia por edad y sexo de los individuos infectados, se encuentra relacionada directamente con la práctica de actividades rurales y el contacto directo con los roedores o sus excretas. El diagnóstico de laboratorio se puede realizar utilizando técnicas tales como aislamiento e identificación del virus, detección de anticuerpos clase específicos tipo IgM e IgG y detección del genoma viral por biología molecular. Los Hantavirus constituyen un importante problema de salud pública, debido a su amplia distribución mundial, elevado potencial infeccioso y capacidad de producir enfermedades severas en el humano.

Palabras Clave: Hantavirus, Fiebres Hemorrágicas, Roedores, Epidemiología.



Summary

The Hantavirus belonging to the Bunyaviridae family, contain 30 virus at least, including those that cause Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and the Hantavirus associated with Lung Syndrome. The Hantavirus has its fundamental reservoir in rodents and it is attributed to each virus one kind of a rodent as main reservoir, but it has been demonstrated that one Hantavirus can infect different species of rodents and one rodent species can be infected by several Hantavirus. Another important characteristic of the Hantavirus is that they establish a chronic infection for life in its natural hosts, denominated persistent tolerant infection, that result in a viremia with continuous elimination of the virus, through urine, feces and saliva. The incidence for sex and age of infected hosts is related directly with the practice of rural activities and direct contact with the rodents or his excretes. The laboratory diagnosis can be carried out by techniques such as virus isolation and identification, detection class specific IgM and IgG antibodies and viral genome detection by molecular biology. The Hantavirus constitutes an important problem of public health, due to their wide distribution world, high infectious potential and capacity of producing severe illnesses in the human.

Key words: Hantavirus, Hemorrhagic fevers, rodents, epidemiology.



FIEBRES HEMORRÁGICAS POR HANTAVIRUS EN VENEZUELA

Características de los Hantavirus (Figura 1)

FAMILIA: Bunyaviridae

GÉNERO: Hantavirus

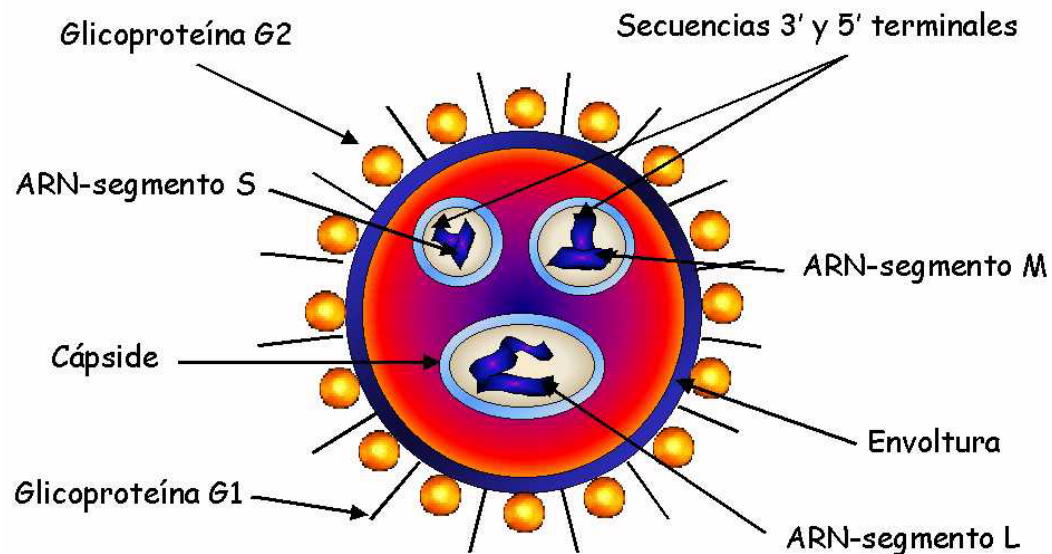
PARTÍCULA VIRAL: Virión pleomórfico

GENOMA: ARN lineal trisegmentado: L, M y S

ESTRUCTURA: Posee 4 proteínas estructurales:

- Proteína N: Nucleocápside
- Proteína L: ARN – Polimerasa
- Glicoproteína G1: Envoltura
- Glicoproteína G2: Envoltura

VECTOR: Roedores



Modificado de: Saz JV, Gegúndez MI, Beltran M. Hantavirus, Editorial Junta de Castilla y León, España, 1997

Figura 1. Estructura de los Hantavirus



El género Hantavirus, perteneciente a la familia Bunyaviridae, comprende al menos 30 virus, incluyendo a aquellos que causan fiebre hemorrágica con síndrome renal y los hantavirus asociados con síndrome pulmonar (1-4).

Los Hantavirus son un amplio grupo de virus que tienen su reservorio natural en roedores y a partir de ellos pueden infectar al hombre. Aunque muchas de las infecciones por hantavirus son subclínicas y los cuadros que evolucionan en forma leve pasan frecuentemente inadvertidos, se estima que actualmente la prevalencia real de estas infecciones supera con creces el número de casos notificados (5-7).

Características comunes del género Hantavirus

- Tienen reservorio natural en roedores.
- La infección ha sido descrita como un cuadro febril al que se asocian fenómenos hemorrágicos con alteraciones renales y en otros casos manifestaciones clínicas respiratorias.
- Se atribuye a cada hantavirus una especie de roedor como reservorio principal, pero se ha demostrado que un mismo hantavirus puede infectar diferentes especies de roedores y que una misma especie de roedor puede resultar infectada por varios hantavirus (8-11).

Mecanismo de transmisión

La transmisión del virus se realiza fundamentalmente por vía respiratoria, mediante la inhalación de aerosoles contaminados con saliva, orina y heces (12). La mordedura es otro mecanismo de transmisión, así como la ingesta de alimentos contaminados.

La incidencia por edad y sexo de las infecciones por hantavirus se encuentra directamente relacionada con la práctica de actividades rurales y con el contacto directo con roedores. La enfermedad aparece con mayor frecuencia entre personas de 20 a 30 años y son poco frecuentes los casos en niños menores de 10 años. La infección afecta a personas de ambos sexos aunque la prevalencia entre varones es mayor.

La posibilidad de transmisión de persona a persona no ha sido demostrada, aún cuando hay evidencias de contacto interhumano. En Argentina se ha demostrado la aparición de algunos casos que podrían responder a este mecanismo (Figura 2) (13-17).





Figura 2. Transmisión de los Hantavirus

Entornos epidemiológicos

Se pueden diferenciar tres entornos epidemiológicos (6):

Entorno rural: dentro del tipo rural los reservorios varían en función de la región geográfica. Los casos clínicos rurales aparecen durante todo el año, pero existen picos estacionales, que coinciden con un incremento del número de roedores infectados y por lo tanto hay mayor frecuencia de contacto entre roedores y humanos. Este mayor contacto viene dado en función de la actividad sexual de los roedores y de la búsqueda de alimento, además de coincidir con las temporadas de siembra, cosechas agrícolas y las variaciones cíclicas en las poblaciones de roedores.

Entorno urbano: viene dado por la circulación durante todo el año de ciertos virus del género Hantaan, tal como el virus Seoul, cuyo reservorio principal son los roedores del género *Rattus rattus*. Los casos urbanos han sido esporádicos y no ha sido fácil demostrar la existencia de enfermedad humana.

Animales de experimentación: los casos clínicos que aparecen como consecuencia de la transmisión a partir de estos animales, se diagnostican habitualmente en trabajadores de laboratorio que están en contacto directo con diferentes especies de roedores.



Reservorios de los Hantavirus

Los roedores infectados por hantavirus eliminan virus por orina, heces y saliva, siendo la mordedura otro mecanismo de transmisión, así como la ingesta de alimentos contaminados, especialmente bebidas enlatadas (Figuras 3, 4, 5 y 6) (8-10, 12, 18, 19). La distribución geográfica de los hantavirus y sus reservorios se muestra en la Figura 7.



Figura 3. *Peromyscus maniculatus*. Reservorio del Virus sin nombre

Figura 4. *Oligoryzomys fulvescens*. Reservorio del Virus Lechiguanas

Figura 5. *Sigmodon hispidus*. Reservorio de los Virus Black Creek Canal y Muleshoe

Figura 6. *Sigmodon alstoni*. Reservorio del Virus Caño Delgadito.





Figura 7. Distribución geográfica de los hantavirus y sus reservorios en el continente americano.

Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (FHRS)

Es un cuadro clínico de evolución severa y es causado por distintos hantavirus antigénicamente indistinguibles del virus Hantaan (3, 4, 6, 20):

- Virus Hantaan (Corea)
- Virus Seoul (Corea)
- Virus Dobrava-Belgrado (Eslovenia)
- Virus Puumala (Finlandia)

El período de incubación es de dos a tres semanas. Las características clínicas y fisiopatológicas han sido agrupadas en cinco fases evolutivas: fase febril, fase hipotensiva, fase oligúrica, fase diúrica y fase convaleciente (Figura 8) (20, 21, 26).

Fase febril: dura de tres a siete días. El paciente presenta fiebre de 40°C, escalofríos, malestar general, debilidad, anorexia, cefalea, vértigos y dolor retro-ocular. También se puede presentar dolor abdominal intenso, dolor de espalda y en la región renal. Se evidencian los primeros síntomas hemorrágicos conjuntivales y petequias diseminadas en axilas, cuello, cara, paladar blando y tórax anterior.



Fase hipotensiva: puede durar desde unas horas hasta dos días. Se presenta con taquicardia, hipotensión, náuseas, vómitos, disminución de la conciencia, confusión y hemorragias capilares. Hay además proteinuria, hematuria, elevación de la úrea y de la creatinina séricas.

Fase oligúrica: dura de tres a siete días. Hay hipertensión causada por hipervolemia debido a la oliguria. Aparecen hepistaxis, hemorragias cerebrales, conjuntivales, digestivas, genitales y púrpura. La muerte se puede producir debido al daño vascular y el shock agudo.

Fase diurética: dura de días a semanas. Se observa un alto volumen de orina.

Fase convalesciente: dura de dos a tres meses. La mortalidad por esta enfermedad es del 5 al 15 %.

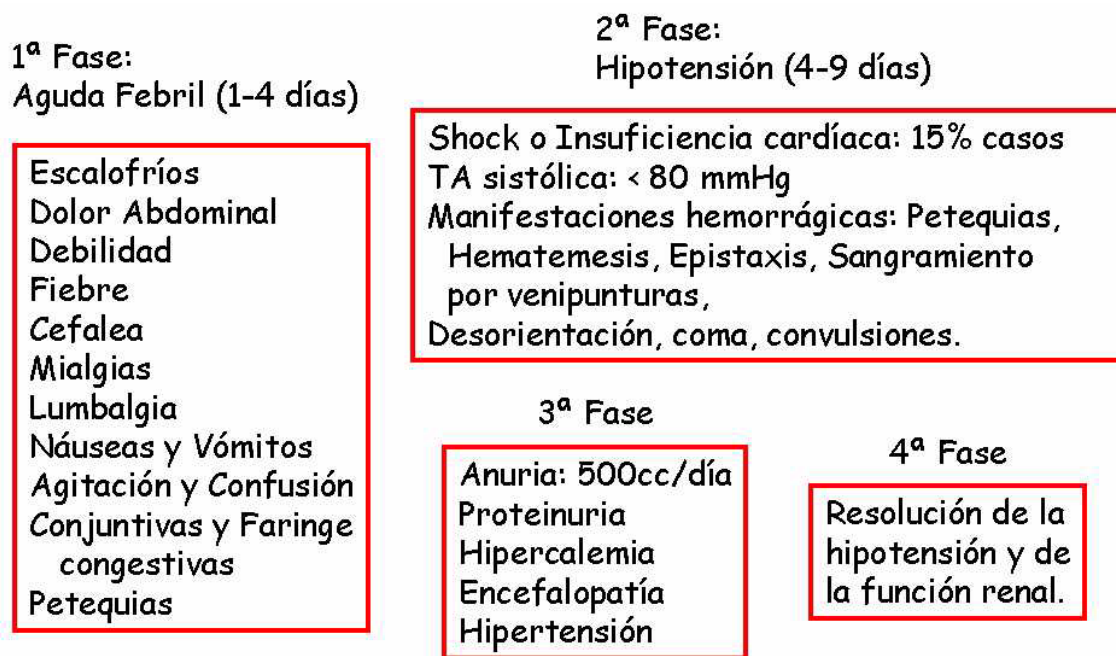


Figura 8. Hallazgos clínicos en la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal.

Los hallazgos de laboratorio en la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal son (3, 4):

- Leucocitosis de 20 – 40.000 cel/ml, con mielocitos y metamielocitos (3º a 4º día)
- Linfocitosis en la convalecencia con eosinofilia en la 3ª semana (5%). 5 a 25% de linfocitos atípicos.
- Hemoconcentración
- Velocidad de sedimentación globular aumentada
- Trombocitopenia: < 100.000/mm³
- Tiempo de sangría elevado
- Aumento de la fragilidad vascular: 75% de los casos



- Tiempo de protrombina normal

Se debe realizar diagnóstico diferencial de la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal con las siguientes entidades clínicas (20, 21):

- Dengue hemorrágico
- Fiebres hemorrágicas suramericanas
- Fiebre Amarilla
- Leptospirosis
- Malaria
- Púrpura trombocitopénica complicada
- Rickettsiosis
- Ehrlichiosis

El manejo de la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal debe incluir:

- Ingreso temprano a un centro hospitalario
- Medidas de soporte adecuadas
- Control de la diuresis y manejo hídrico estrictos
- Monitoreo hidroelectrolítico
- Control de presión arterial
- Antibiotecoterapia

Síndrome Pulmonar por Hantavirus (HSP)

Es un cuadro clínico de evolución severa causado por distintos hantavirus:

- Virus sin nombre (USA)
- Virus New York (USA)
- Virus Black Creek Canal (USA)
- Virus Bajou (USA)
- Virus Laguna Negra (Paraguay)
- Virus Andes (Argentina)

Se inicia con un cuadro febril acompañado de mialgias, cefalea, tos, náuseas, vómitos, respiración entrecortada, síntomas intestinales, taquipnea y taquicardia. Se evidencia trombocitopenia, neutrofilia, hematocrito elevado, presencia de linfocitos atípicos y discreta microhematuria. Hay presencia de infiltrados pulmonares intersticiales bilaterales que conllevan a un derrame pleural y daño capilar localizado exclusivamente en los pulmones. Se observa el desarrollo de edema pulmonar progresivo con hipoxia e hipotensión severa y se produce un aumento de la permeabilidad capilar. Los pacientes fallecen al cabo de siete días debido al shock séptico e hipovolémico y a las complicaciones cardíacas que se producen. La mortalidad es elevada, entre 40 al 70 % (Figura 9) (22-25).



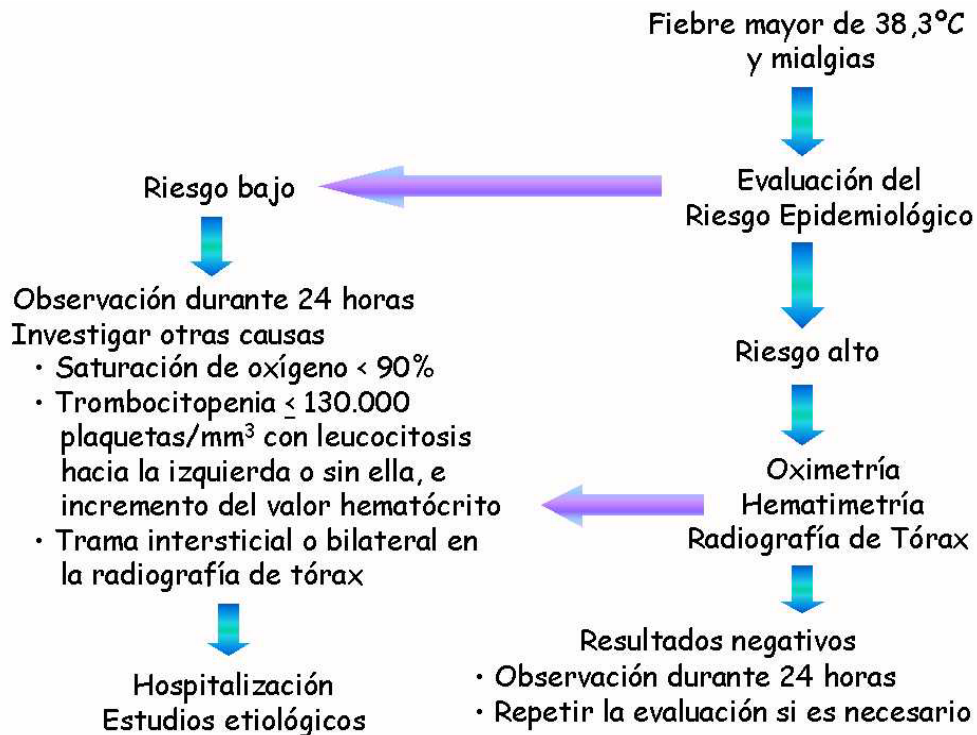


Figura 9. Algoritmo para el Síndrome Pulmonar por Hantavirus

Entre los mecanismos de patogénesis del HSP caben señalar el síndrome de daño capilar, que afecta principalmente los pulmones y que trae como consecuencia la salida de plasma hacia los espacios y tejidos extravasculares, acompañado de hemoconcentración y trombocitopenia, lo cual puede conducir a la hipotensión y al shock. En el HSP los tejidos pulmonares demuestran infiltración de linfocitos T tipo CD4+ y CD8+, además de edema alveolar pero con una relativa arquitectura tisular intacta. El número de células productoras de linfocinas tales como interferón γ (IFN- γ), interleuquinas 2 y 4 (IL-2 e IL-4), factor de necrosis tumoral β (TNF- β) y monoquinas tales como TNF- α , IL-1 α e IL-6 en los tejidos pulmonares, es significativamente mayor en pacientes con HSP que en pacientes controles normales. Un alto número de células productoras de citoquinas fue también detectada entre las células sanguíneas mononucleares periféricas (PBMC) (3, 27-29).

Se debe realizar diagnóstico diferencial con las siguientes entidades clínicas:

- Infección respiratoria aguda
- Influenza
- Neumonía neumocócica
- Sepsis respiratoria complicada
- Parvovirus
- Tuberculosis



El Flujoograma a seguir para el diagnóstico diferencial del Síndrome Pulmonar por Hantavirus se observa en la Figura 10 (30).

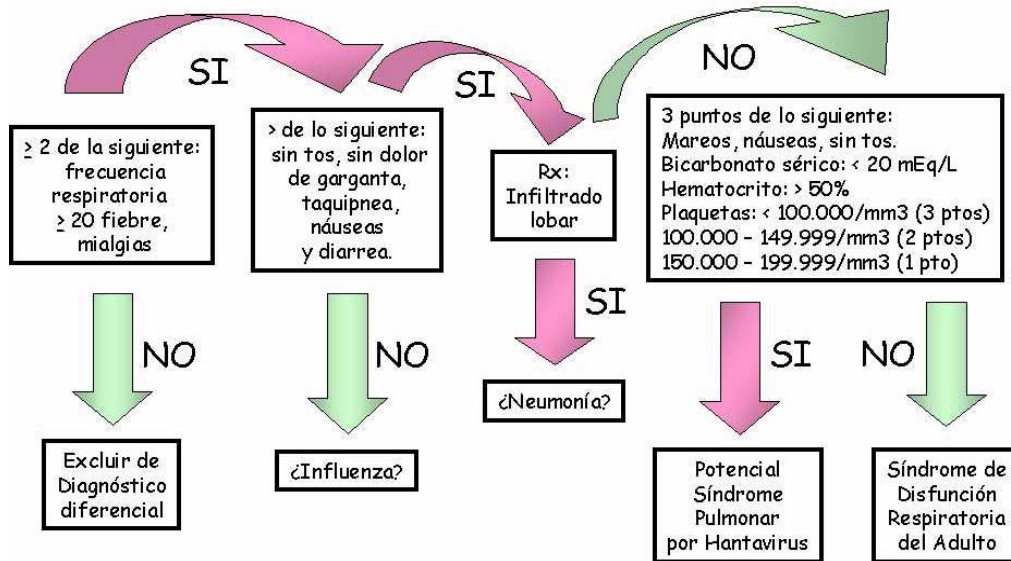


Figura 10. Flujoograma para el diagnóstico diferencial del Síndrome Pulmonar por Hantavirus y otras patologías

La progresión clínica del Síndrome Pulmonar por Hantavirus se presenta en la Figura 11.



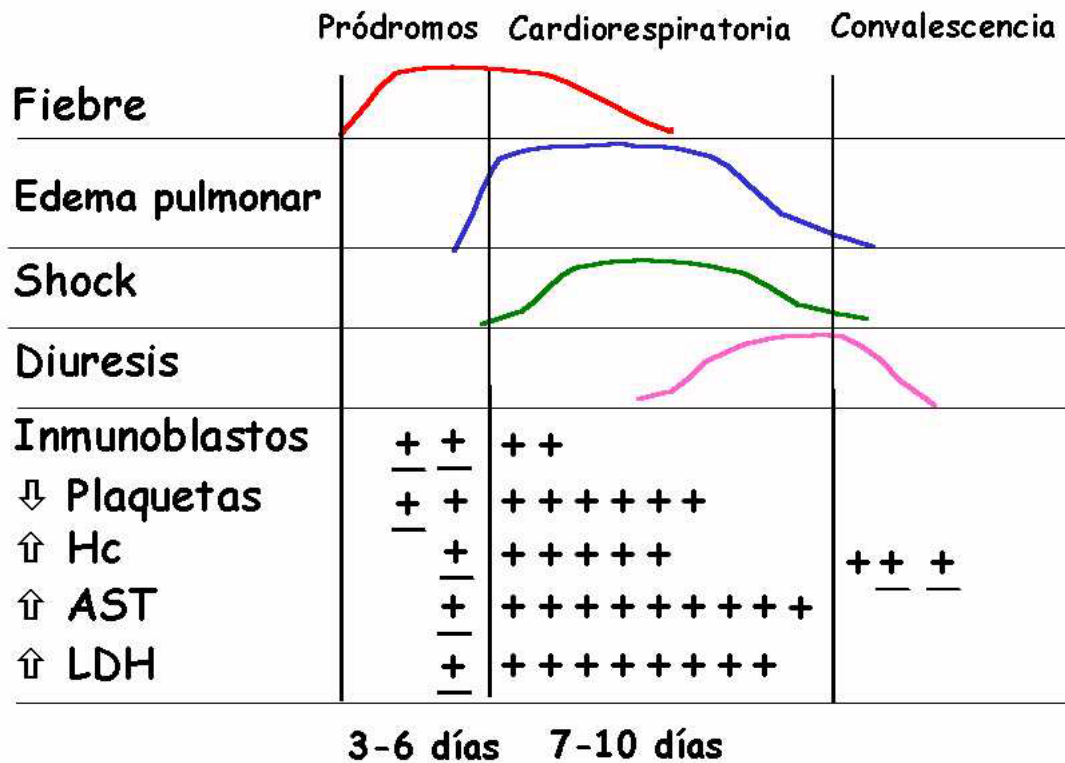


Figura 11. Progresión Clínica del Síndrome Pulmonar por Hantavirus

El manejo del Síndrome Pulmonar por Hantavirus debe incluir:

- Ingreso temprano a la unidad de cuidados intensivos
- Uso de agentes inotrópicos (Dobutamida)
- Manejo hídrico cuidadoso (No usar diuréticos de asa)
- Uso de catéter de Swan-Ganz
- Ventilación mecánica
- Monitoreo constante
 - Saturación de oxígeno
 - Balance hidroelectrolítico
 - Presión arterial
- Antibiotecoterapia: Doxiciclina, Ceftrixone o Ampicilina-Sulbactam (3, 25, 27).

Se ha descrito infección sin clínica conocida en humanos para los siguientes hantavirus (3):

- Virus Prospect-Hill (USA)
- Virus Caño Delgadito (Venezuela)
- Virus Thai-74 (Tailandia)
- Virus Isla Vista (USA)
- Virus Río Mamore (Bolivia)
- Virus Muleshoe (USA)



- Virus Tula (Rusia)
- Virus Khavarovsk (Rusia)
- Virus Topogratou (Rusia)
- Virus Maporal
- Virus El Moro Canyon (USA)
- Virus Río Segundo (Costa Rica)
- Virus Thotta Palayam (India)

Virus Caño Delgadito

FAMILIA: Bunyaviridae

GÉNERO: Hantaan

ÁCIDO NUCLÉICO: ARN de cadena simple, segmentado en tres partes: S, M y L

RESERVORIO: Roedor (*Sigmodon alstoni*)

En los estudios ecológicos realizados en función de la vigilancia de FHV, se logró el aislamiento en roedores de dos hantavirus venezolanos denominados Caño Delgadito y Maporal (Figura 12) (33).

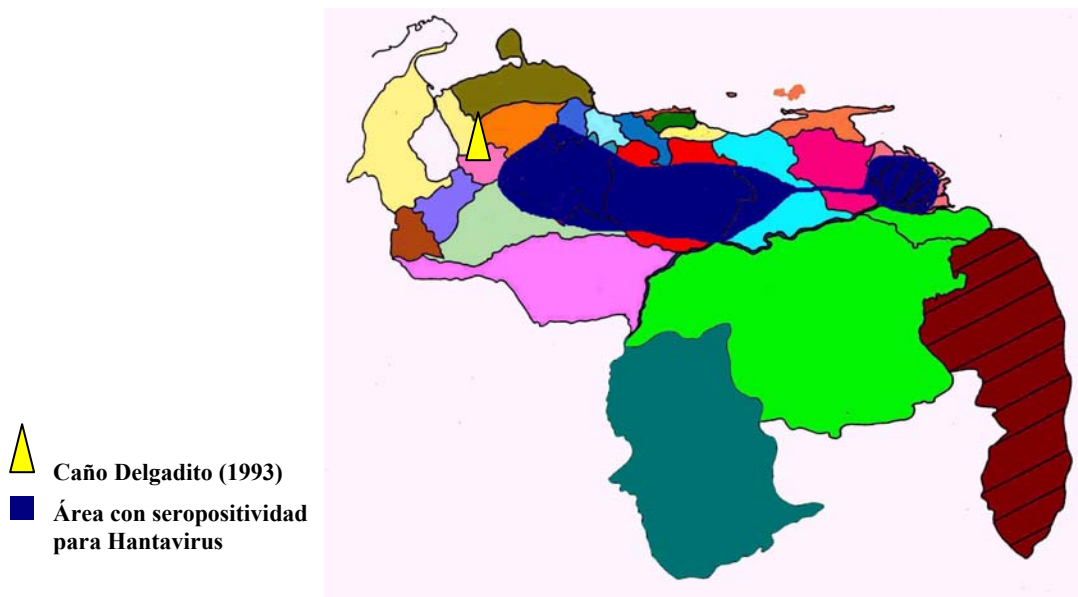


Figura 12. Vigilancia epidemiológica de los Hantavirus en Venezuela 1999 – 2004.

Toma, conservación y transporte de las muestras para el diagnóstico de laboratorio de las Fiebres Hemorrágicas por Hantavirus



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

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

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

En caso de pacientes fallecidos, debe realizarse la autopsia. Se toman pequeños fragmentos de tejido (pulmón, hígado, bazo), se colocan en viales individuales sin agregarle formol ni solución salina, se rotulan con la identificación del paciente y se envían inmediatamente las muestras refrigeradas a Epidemiología o a la Coordinación de Estudios de Fiebre Hemorrágica Venezolana. Si se envían directamente al Instituto Nacional de Higiene, hacerlo en suficiente hielo seco (34, 35).

Diagnóstico de laboratorio de las Fiebres Hemorrágicas por Hantavirus.

Aislamiento viral

El diagnóstico etiológico específico para los Hantavirus puede hacerse mediante el aislamiento e identificación del agente viral a partir de muestras serológicas tomadas durante la fase aguda de la enfermedad, es decir, de 3 a 7 días del inicio del cuadro clínico o a partir de sangre y tejidos en los casos fatales. La utilización de líneas celulares, tales como células Vero E-6 y posterior aplicación de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), empleando anticuerpos policlonales específicos contra los Hantavirus, tanto de la Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (FRS) como del Síndrome Pulmonar (HSP), permite confirmar el diagnóstico (3, 36, 37).



RT-PCR

Mediante la amplificación parcial del ARN viral por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa, utilizando transcriptasa reversa (RT-PCR) y utilizando primers genéricos y específicos para Hantavirus, se puede lograr un diagnóstico confirmatorio (38-41).

Serología

También se usa la detección de anticuerpos clase específicos tipo Ig M e Ig G en muestras de suero recolectadas en la fase aguda tardía y fase convalescente de la enfermedad, es decir, a los 15 y 30 días, utilizando la técnica de IFI cuantitativa o el ensayo inmunoenzimático ELISA, para la detección de anticuerpos clase específicos tipo Ig M e Ig G (3, 36, 37).

Hantavirus en Venezuela

Casos humanos por hantavirus en Venezuela

1. Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal: Municipio Guanarito, Estado Portuguesa, Septiembre de 1993. Confirmado por serología mediante la detección de anticuerpos clase específicos tipo Ig G por IFI cuantitativa.
2. Síndrome Pulmonar por Hantavirus: El Tigre, Estado Anzoátegui, Julio de 1999. Confirmado por serología mediante la detección de anticuerpos clase específicos tipo Ig M e Ig G, por las técnicas de IFI cuantitativa y ELISA.

A pesar de haberse confirmado la circulación de hantavirus, asociados a procesos hemorrágicos con síndrome renal y síndrome pulmonar por detección serológica de anticuerpos en el laboratorio de aislamiento viral del INHRR, no ha sido posible lograr el aislamiento en humanos de alguno de estos agentes virales, debido básicamente a la ausencia de criterios para el diagnóstico diferencial a partir de las evidencias clínicas, fase aguda, historia y antecedentes epidemiológicos del paciente, toma de muestra adecuada y en cantidad suficiente, conservación en función de la cadena de frío y transporte en hielo seco de las muestras enviadas para diagnóstico. Esto determina que cuando las mismas ingresan al laboratorio, sean inadecuadas para el aislamiento, identificación y caracterización de estos agentes virales.

Grupos de riesgo

Los grupos de alto riesgo para la infección por Hantavirus son (42):

- Personas que desarrollan actividades en el campo tales como:
 - Agricultores
 - Ganaderos
 - Leñadores
 - Zoólogos
 - Guardias Forestales
- Empleados de empresas de desratización
- Personas que trabajan en el control de roedores



- Personal de Laboratorio que trabaje con estos virus (Figuras 13 y 14)
- Personal de Bioterio



Figuras 13 y 14. Personal de laboratorio en trabajo de campo

Tratamiento

Ya que los virus Hantavirus y Puumala son los mayores agentes etiológicos de la FHSR en el continente euroasiático, se ha diseñado una vacuna inactivada con formalina contra los Hantavirus que se denomina Hantavax y está disponible en Corea desde 1990. Hantavax contiene 5 μ g de proteína y menos de 0,01 ng de proteína básica de mielina. La velocidad de seroconversión de la vacuna fue de 52%, 96% y 63% para anticuerpos inmunofluorescentes y 25%, 75% y 16% para la prueba de seroneutralización por reducción de placas después de 1, 3 y 12 meses de la primera vacunación respectivamente (43).

En China, para FHSR hay dos tipos de vacunas monovalentes inactivadas, preparadas a partir de células de riñón de ratas de Mongolia (MGKC) para Hantavirus y de células de riñón de hamster dorado (GHKC) para el virus Seoul más una vacuna bivalente partir de MGKC, que han sido exitosamente desarrolladas. Inducen excelentes anticuerpos neutralizantes para Hantavirus con 90 – 100% de seroconversión después de 3 dosis de vacunación (44).

Otra alternativa de tratamiento en etapa de experimentación es el uso de la Rivabirina por vía intravenosa (45)

Prevención

Las mejores medidas de prevención se realizan en función de la educación a la comunidad y se ponen en práctica en base a (34, 42):

- Control intradomiciliario de roedores
- Control peridomiciliario de roedores
- Medidas de seguridad



Reconocimiento

La recopilación de la información, realización de los estudios de laboratorio, análisis de los datos y la descripción científica de la información contenida en este documento, fue posible llevarla a cabo gracias a la valiosa colaboración, mística, abnegación y perseverancia del grupo de investigadores venezolanos que conforman el equipo de trabajo de vigilancia de Fiebre Hemorrágica Venezolana, tales como:

- Dra. Rosalba Salas MSc. Asesora en Virología para el Área de Latinoamérica y del Caribe de PAHO-OMS en el CAREC de Trinidad y Tobago.
- Dra. Nuris de Manzione. Médico Epidemiólogo, Directora del Centro de Investigaciones de Virosis Hemorrágicas y Enfermedades Transmisibles (CIVIHET) y Coordinadora del Programa de Vigilancia de Fiebre Hemorrágica Venezolana, Guanare, Edo. Portuguesa.
- Dr. Héctor Paredes. Médico de Salud Pública, adjunto del CIVIHET y Coordinador de estadística y trabajo de campo de FHV, Guanare, Edo. Portuguesa.
- Dr. Lorenzo Basile. Médico Internista e Infectólogo, Jefe del Servicio de Medicina Interna del Hospital Miguel Oraá, Guanare, Edo. Portuguesa.
- Lic. Víctor Alarcón. Jefe del Laboratorio de Biología Molecular, Sección de Aislamiento Viral, Instituto nacional de Higiene "Rafael Rangel".



Referencias

1. Schmaljohn C, Hjelle B. Hantavirus: A global disease problem. *Emerg Infect Dis* 1997; 3(2): 95-104.
2. Nichol ST, Ksiazek TG, Rollin PE, Peters CI. Hantavirus pulmonary syndrome and newly described hantaviruses in the United States. En: Elliott R.M., editor. *The Bunyaviridae*. New York Plenum Press. 1996. 269-80 pp.
3. Nichol ST. Bunyaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, *et al*, editors. *Fields Virology*. 4th ed. Philadelphia. Lippincott, Williams &Wilkins. 2001. 1603-33 pp.
4. Gajdusek DC, Goldfarb LG, Goldfaber D. *Bibliography of hemorrhagic fever with renal syndrome*. Second Edition. Bethesda (MD). National Institutes of Health. 1987 Pub No. 88. 3603 pp.
5. Mckee K, LeDuc J, Peters C. Hantaviruses. In: Belshe RB, editor. *Textbook of human virology*. St. Louis: Mosby Year Book 1991. 615-32 pp.
6. Hjelle B, Jenison S, Goade D, Green W, Feddersen R, Scott A. Hantaviruses: clinical, microbiologic and epidemiologic aspects. *Crit Rev Lab Sci* 1995; 32: 469-508.
7. Enría DA. Emergencia de los hantavirus en las Américas y en la Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1998; 58(1): 15-18.
8. Lee H, Lee P, Baek L, Song C, Seong I. Intraspecific transmission of Hantaan virus, etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, in rodent *Apodemus agrarius*. *Am J Trop Med Hyg* 1981; 30: 1106-12.
9. Armstrong L, Zaki S, Goldoft M, Todd R, Khan A, Khabbatz R, *et al*. Hantavirus pulmonary syndrome associated with entering or cleaning rarely used, rodent-infested structures. *J Infect Dis* 1995; 172: 1166.
10. Rawlings J, Torrez-Martínez N, Nelly S, Moore G, Hicks B, Pichuantes S, *et al*. Cocirculation of multiple hantaviruses in Texas, with characterization of the S genome of a previously-undescribed virus of cotton rats (*Sigmodon hispidus*). *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55: 672-9.
11. Rowe JE, St. Jeor SC, Riolo J, Otteson EW, Monroe MC, Henderson WW, *et al*. Coexistence of several novel hantaviruses in rodents indigenous to North America. *Virology* 1995; 213: 122-30.
12. Wells RM, Young J, Williams RJ, *et al*. Hantavirus transmission in the United States. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 361-5.
13. Vitek CR, Breiman RF, Ksiazek TG, *et al*. Evidence against person-to-person transmission of hantavirus to health care workers. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 824-6.
14. Wells RM, Estani SS, Yadón ZE, *et al*. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 171-4.
15. Enría D, Padula P, Segura EL, *et al*. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina: Possibility of person-to-person transmission. *Medicina (Buenos Aires)* 1996; 58: 709-11.
16. Padula P, Edelstein A, Miguel SD, López NM, Rossi CM, Rubinovich RD. Hantavirus pulmonary syndrome (HPS) outbreak in Argentina: Possibility of person-to-person transmission of Andes virus. *Virology* 1998; 241(2): 323-30.
17. Chaparro JJ, Vega J, Ferry W, *et al*. Assessment of person-to-person transmission of hantavirus pulmonary syndrome in a hospital setting. *J Hosp Infect* 1998; 40(4): 281-5.
18. Hjelle B, Anderson B, Torrez-Martínez N, Song W, Gannon WF. Prevalence and geographic genetic variation of hantaviruses of New World harvest mice (*Reithrodontomys*) identification of a divergent genotype from a Costa Rican *Reithrodontomys mexicanus*. *Virology* 1995; 207:452-9.
19. Mills JN, Childs JE, Ksiazek TG, Peters CJ, Valleca WM. *Methods for trapping and sampling small mammals for virology testing*. Atlanta: United States of America. Department Health and Services. Centres for Disease Control and Prevention. 1995.



20. Lee HW. Epidemiology and pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome. In: Elliott R.M. editor. *The Bunyaviridae*. New York: Plenum Press. 1996. 253-67 pp.
21. Mertz G, Hjelle B, Bryan R. Hantavirus infection. In: Fauci A, Schrier R, editors. *Advances in internal medicine*. Chicago: Mosby Year Book Inc., 1996. 373-425.
22. Ksiazek TG, Peters CJ, Rollin PE, Zaki S, Nichol S, Spiropoulou C, *et al.* Identification of a new North American hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52:117-23.
23. Nerurkar VR, Song JW, Song KJ, Nagle JW, Hjelle B, Jenison S, *et al.* Genetic evidence for a hantavirus enzootic in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) captured a decade before the recognition of hantavirus pulmonary syndrome. *Virology* 1994; 204: 563-8.
24. Enríe DA, Pinheiro F. Rodent-borne emerging viral zoonosis. Hemorrhagic fevers and hantavirus infections in South America. *Infect Dis Clin North Am* 2000; 14: 167-84.
25. Peters CJ. Hantavirus pulmonary syndrome in the Americas. En: Scheld WM, Craig WA, Hughes JB, eds. *Emerging Infections* Washington D.C.: ASM Press 1998.
26. Schmaljohn AL, Li D, Negley DL, Bressler DS, Turell MJ, Korch GW, *et al.* Isolation and initial characterization of a newfound hantavirus from California. *Virology* 1995; 206: 963-72.
27. Zaki SR, Greer PW, Coffield LM, *et al.* Hantavirus pulmonary syndrome: pathogenesis of an emerging infectious disease. *Am J Pathol* 1998; 146: 552-79.
28. Mori M, Rothman AL, Kurane I, *et al.* High levels of cytokine-producing cells in the lung tissues of patients with fatal hantavirus syndrome. *J Infect Dis* 1999; 179: 295-302.
29. Duchin JS, Koster FT, Peters CJ, Simpson B, Tempest SR, Zaki T, *et al.* Hantavirus pulmonary syndrome: A clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. *New Engl J Med* 1994; 330: 949-55.
30. Moolenaar RL, Dalton C, Lipman HB, *et al.* Clinical features that differentiate hantavirus pulmonary syndrome from three other acute respiratory illnesses. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 643-9.
31. Fulhorst CF, Monroe MC, Salas R, Duno G, Utrera A, Ksiazek TG, *et al.* Isolation characterization and geographic distribution of Caño Delgadito a newly discovered South American hantavirus (family Bunyaviridae). *Virus Research* 1997; 51:159-71.
32. Fulhorst CF, Milazzo ML, Duno G, Salas RA. Experimental infection of the *Sigmodon alstoni* cotton rat with Caño Delgadito virus, a South American hantavirus. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67: 107-11.
33. Milazzo ML, Eyzaguirre EJ, Molina CP, Fulhorst CF. Maporal viral infections in the Syrian golden hamster: A model of hantavirus pulmonary syndrome. *J Infect Dis* 2002; 186: 1390-5.
34. United States of America, Department of Health and Human Services. Centres for Disease Control and Prevention. Hantavirus infection-southwestern United States: Interim recommendations for risk reduction. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1993; 42: 11-3.
35. Weissenbacher M, Merani MS, Hodara VL, *et al.* Hantavirus infection in laboratory and wild rodents in Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1990; 50: 43-6.
36. Chu YK, Rossi C, LeDuc J, Lee H, Schmaljohn C, Darymple J. Serological relationships among viruses in the Hantaviruses genus, family Bunyaviridae. *Virology* 1994; 198: 196-204.
37. Chu YK, Jennings G, Schmaljohn A, Elgh F, Hjelle B, Lee HW, *et al.* Cross-neutralization of hantaviruses with immune sera from experimentally-infected animals and from hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome patients. *J Infect Dis* 1995; 172: 1581-4.



38. Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, Rollin PE, Ksiazek TG, Feldman H, *et al.* Genetic identification of a hantavirus associated with an outbreak respiratory illness. *Science* 1993; 262: 914-7.
39. Hjelle B, Torrez-Martinez N, Koster FT, Jay M, Ascher MS, Brown T, *et al.* Epidemiologic linkage of rodent and human hantavirus genomic sequences in case investigations of hantavirus pulmonary syndrome. *J Infect Dis* 1996; 173: 781-6.
40. Schmaljohn C, Hasty S, Dalrymple J, LeDuc J, Lee H, von Bonsdorff C-H, *et al.* Antigenic and genetic properties of viruses linked to hemorrhagic fever with renal syndrome. *Science* 1985; 227: 1041-4.
41. Spiropoulou CF, Morzunov S, Feldman H, Sanchez A, Peters CJ, Nichol ST. Genome structure and variability of a virus causing hantavirus pulmonary syndrome. *Virology* 1994; 200: 715-23.
42. Organización Mundial de la Salud: Bioseguridad en laboratorios de Microbiología y Biomedicina. 4ta edición. Atlanta 2002.
43. Ho-Wang L, Yong-Kyu C, Yang-Dae W, Chang-Nam A, Hun-Kim E, Evengniy T, Ana G. Vaccines against hemorrhagic fever with renal syndrome. In: *Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases (Hantaviral and Arenaviral Diseases)*. JF Saluzzo, B Dodet, eds. Editions Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS. 1999: 147-56 pp.
44. Yu Y, Zhu Z, Yao Z, Dong G. Inactivated cell-culture Hantavirus vaccine developed in China. In: *Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases (Hantaviral and Arenaviral Diseases)*. JF Saluzzo, B Dodet, eds. Editions Scientifiques et Medicales. Elsevier SAS. 1999: 157-61 pp.
45. Schmaljohn C, Kanrud K, Hooper J. Recombinant DNA vaccines for hantaviruses. In: *Factors in the Emergence and Control of Rodent-borne Viral Diseases (Hantaviral and Arenaviral Diseases)*. JF Saluzzo, B Dodet eds. Editions Scientifiques et Medicales Elsevier SAS 1999: 163-73 pp.

