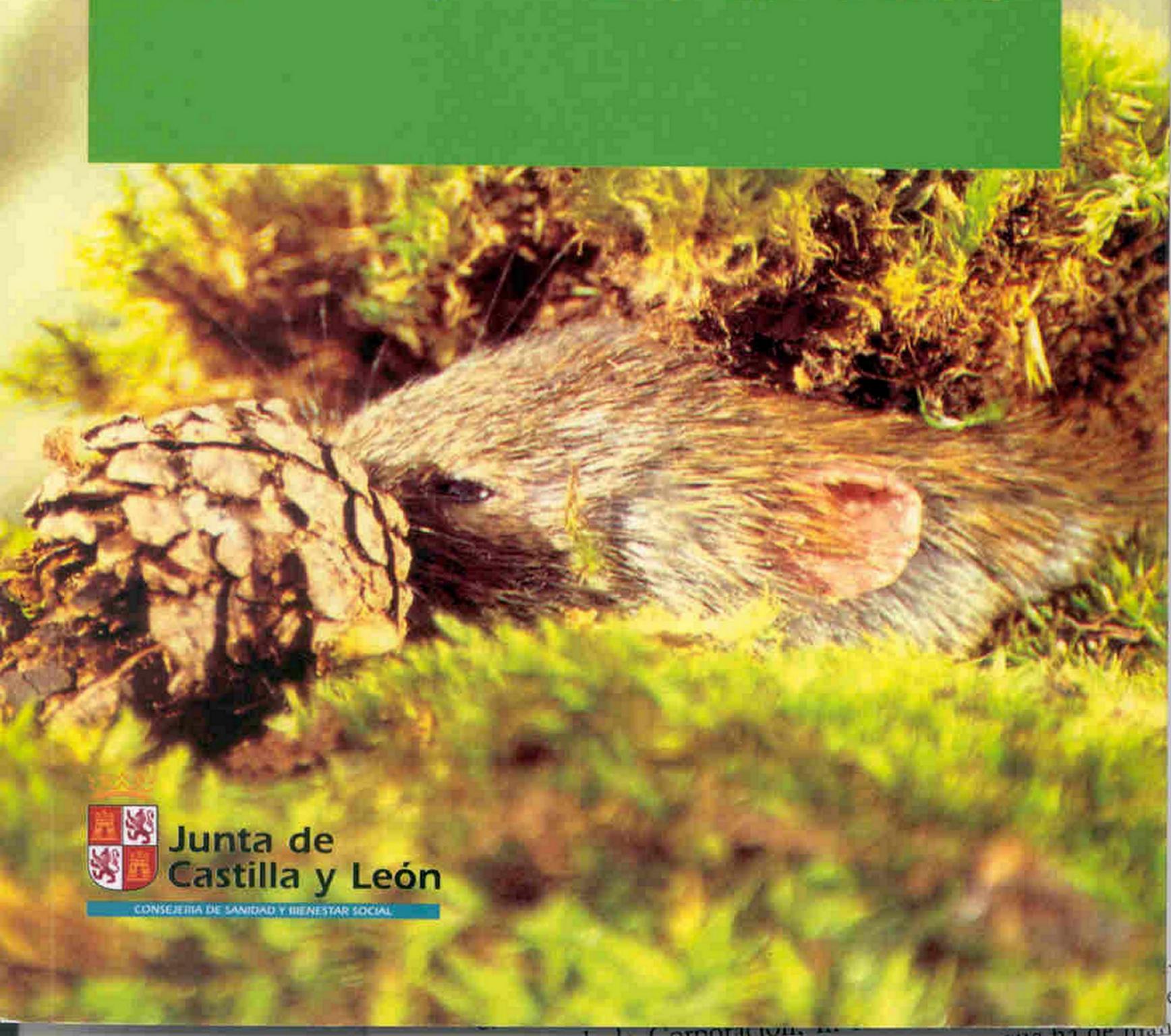


José Vicente Saz Pérez
M.^a Isabel Gegúndez Cámara
María Beltrán Dubón

HANTAVIRUS



Junta de
Castilla y León

CONSEJERÍA DE SANIDAD Y BIENESTAR SOCIAL

Hantavirus

José Vicente Saz Pérez
M.^a Isabel Gegúndez Cámara
María Beltrán Dubón

Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Medicina
Universidad de Alcalá

Índice

Introducción	4
Historia	6
Aspectos virológicos	9
Características morfológicas y estructurales	9
Replicación viral	10
Propiedades físicas y biológicas	10
Clasificación	11
Epidemiología	13
Reservorios	13
Entornos epidemiológicos	14
Mecanismo de transmisión	16
Grupos de riesgo	17
Distribución geográfica	17
Patogenia	20
Alteraciones vasculares	20
Alteraciones renales	20
Fenómenos hemorrágicos	21
Alteraciones respiratorias	22
Respuesta inmune	23
Respuesta celular	23
Respuesta de anticuerpos.....	23
Respuesta a los antígenos víricos	23
Inmunocomplejos	24
Reacciones cruzadas.....	24
Manifestaciones clínicas	25
Fiebre hemorrágica de Corea	25
Infección por el virus Seoul	27
Nefropatía epidémica.....	27
Infección por el virus Dobrava-Belgrado	28
Síndrome pulmonar por Hantavirus	28
Otras manifestaciones clínicas por Hantavirus	30

Diagnóstico	31
Aislamiento del virus	31
Detección de antígenos	31
Microscopía electrónica	32
Reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa	32
Diagnóstico serológico	32
Tratamiento	35
Prevención	36
Hantavirus en España	37
Bibliografía	40

Introducción

En las dos últimas décadas las enfermedades infecciosas han sufrido una verdadera revolución, y las circunstancias que han contribuido a este hecho son numerosas. El impresionante desarrollo de la antibioterapia desde los años treinta hasta nuestros días, junto a la disponibilidad de vacunas eficaces frente a enfermedades, como la viruela o la difteria, que habían causado verdaderos estragos en la población, fueron en su momento los factores determinantes de una falsa sensación de seguridad, pues, aparentemente, las enfermedades infecciosas estaban controladas o eran fácilmente controlables. Sin embargo, nada más lejos de la realidad, ya que, a pesar del elevado número de fármacos disponibles en la actualidad, la continua aparición de mecanismos de resistencia a los antimicrobianos en numerosas especies bacterianas, ha convertido al tratamiento de los procesos infecciosos en un problema clínico de primer orden, y por tanto, en una cuestión de plena actualidad. Por otra parte, las excelentes expectativas que ofrecía el desarrollo de las primeras vacunas, se han visto en parte defraudadas; aunque es cierto que en la actualidad disponemos de métodos de inmunoprofilaxis para numerosas enfermedades infecciosas, también lo es que en otros casos, a pesar de los numerosos intentos, los esfuerzos para conseguirlos han sido infructuosos. Sin embargo, la reciente aplicación de las nuevas técnicas de ingeniería genética en la elaboración de vacunas, mediante las cuales se han conseguido importantes éxitos, como en el caso de la hepatitis B, han abierto un nuevo y esperanzador camino en esta dirección.

Existen otros hechos trascendentes que han contribuido a este nuevo renacer de la patología infecciosa. Algunas enfermedades, sobre las que durante muchos años planeó la sospecha de una etiología infecciosa, como por ejemplo la enfermedad de Whipple o la enfermedad por arañazo de gato, han visto recientemente confirmada esta posibilidad, demostrándose la identidad de los agentes responsables. En otras entidades, consideradas clásicamente como procesos orgánicos, en las que nunca, ni de forma remota, se llegó a suponer una causa infecciosa, como la úlcera péptica y la gastritis, se ha demostrado su origen bacteriano, y que están causados por microorganismos no identificados previamente. En determinados cuadros clínicos de origen infeccioso, bien definidos, como en el caso de la hepatitis vírica, donde parecía conocerse los agentes causales más importantes, las publicaciones científicas nos sorprenden, de forma ya casi habitual, con el continuo descubrimiento de nuevos agentes infecciosos que se encuentran involucrados en su etiología.

Otra situación especialmente interesante, es la de determinadas enfermedades infecciosas, muchas de ellas conocidas desde antiguo, que se consideraban controladas, incluso pasaban prácticamente desapercibidas en algunas regiones del mundo, y sin embargo, en la actualidad parecen reaparecer de forma más virulenta. Un ejemplo de esta situación es la tuberculosis, una vieja enfermedad que durante los últimos años fue relegada de las prioridades sanitarias al ser considerada una entidad controlada y en remisión, y que como consecuencia de un fuerte incremento en su incidencia, en la actualidad representa un importante problema de salud pública, siendo uno de los procesos infecciosos de mayor repercusión social y sanitaria.

Pero, a pesar del indudable interés de las cuestiones comentadas anteriormente, sin ningún género de duda, el factor más importante que ha determinado el gran auge actual de las enfermedades infecciosas, ha sido el reconocimiento de un ingente número de nuevas entidades. A principios de la década de los ochenta se describió un cuadro clínico, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), que por la peculiar evolución de la enfermedad, la gravedad con la que cursaba, el elevado número de afectados y su amplia distribución geográfica, y evidentemente, por su novedad, modificó la percepción que se tenía hasta el momento de los procesos infecciosos, y alertó sobre la posibilidad de detectar enfermedades previamente desconocidas. La aparición del SIDA, aún siendo de por sí un hecho verdaderamente trascendental, es solamente la "punta del iceberg" de una larga lista de nuevas enfermedades.

En los últimos veinte años se ha multiplicado el número de enfermedades infecciosas y microorganismos previamente desconocidos, tanto que, la descripción de una nueva entidad o la identificación de un nuevo agente infeccioso se han convertido en hechos prácticamente habituales. Casos como la reciente descripción de las ehrlichiosis, o el de la borreliosis de Lyme, una de las enfermedades que en los últimos años ha provocado un mayor impacto en

las publicaciones científicas, sólo son la muestra de una extensa relación que sería prolijo enumerar. Ha sido tal el número de nuevos procesos infecciosos descritos en los últimos años, que se ha acuñado un nuevo término para referirse a ellos: enfermedades emergentes. Esta denominación fue utilizada inicialmente para agrupar las enfermedades infecciosas de nueva aparición, causadas por microorganismos que no habían sido identificados con anterioridad; pero, a pesar de la corta vida del término, la vertiginosa sucesión de acontecimientos ha obligado a ampliar paulatinamente su acepción. En la actualidad, esta expresión, en su sentido más amplio, se aplica para referirse a cualquier entidad infecciosa, causada por microorganismos previamente desconocidos, así como para aludir a las nuevas enfermedades, con independencia de su etiología.

Dentro de las enfermedades emergentes se incluyen también los procesos que han experimentado un importante aumento en su incidencia, a pesar de haberse considerado previamente controlados; si bien en este último caso, ya comienzan a designarse bajo una nueva denominación: "enfermedades reemergentes". Las enfermedades emergentes, son probablemente, uno de los retos más importantes a los que se enfrenta la ciencia médica actual. Dentro de las denominadas enfermedades emergentes, son probablemente los virus, el grupo de microorganismos que desempeñan el papel protagonista. En los últimos años han sido numerosos los nuevos virus identificados, alguno de ellos como el virus Ébola, con una amplia repercusión, no sólo en la comunidad científica, sino incluso en los medios de comunicación social. Otro género de virus que, en los últimos tiempos, también ha suscitado especialmente la atención, son los Hantavirus. En la primavera de 1993 se observó, en una región de Norteamérica, la aparición de un brote epidémico de una nueva y grave enfermedad respiratoria; poco tiempo después, se demostró que esta entidad, estaba causada por un grupo de virus perteneciente al género Hantavirus, y fue denominada síndrome pulmonar por Hantavirus. Los virus causantes de esta nueva enfermedad, aunque pertenecientes a un género conocido, no habían sido detectados con anterioridad, ni en la región de la epidemia, ni en ninguna otra del mundo. El síndrome pulmonar por Hantavirus, descrito inicialmente en Norteamérica, es un claro ejemplo de enfermedad emergente¹; una nueva entidad que aparece como consecuencia de un conjunto de factores ambientales que favorecen la infección humana a partir de los reservorios naturales, y que está causada por un grupo de virus que no habían sido previamente identificados. El primer Hantavirus fue aislado en 1976, en la actualidad se reconocen más de veinte especies diferentes, y prácticamente las dos terceras partes han sido identificados tras la aparición de la epidemia americana.

Los Hantavirus son un amplio grupo de virus que tienen su reservorio natural en los roedores y que, a partir de ellos, pueden infectar al hombre. Se encuentran distribuidos de forma prácticamente universal, y se ha demostrado que son responsables de diversas enfermedades humanas. La importancia de estos virus y su verdadero impacto sanitario en las diferentes regiones del mundo no están claramente establecidos, pues aunque algunos Hantavirus son conocidos desde hace décadas, la mayoría han sido identificados en los últimos cinco años. De las regiones geográficas donde estos virus son mejor conocidos, solamente en el Sureste asiático, una de las zonas endémicas, se comunican anualmente más de 150.000 casos con una mortalidad cercana al 5%. Sin embargo, muchas de las infecciones por Hantavirus son, probablemente, subclínicas y los cuadros que evolucionan de forma leve pasan frecuentemente inadvertidos, por lo que se estima que la prevalencia real de estas enfermedades supera con creces el número de casos notificados. La ubicuidad de los Hantavirus y su potencial para provocar enfermedades severas en el hombre, determinan que, en términos generales, estos virus representen un importante problema sanitario¹.

Historia

Clásicamente, la infección por Hantavirus ha sido descrita como un cuadro febril al que se asocian alteraciones renales y fenómenos hemorrágicos. Aunque el conocimiento científico de estos cuadros clínicos es relativamente reciente, existen algunas referencias previas que sugieren que estas enfermedades no son realmente nuevas, sino que han acompañado al hombre a lo largo de la historia.

Las primeras referencias históricas que relacionan fiebres hemorrágicas y alteraciones renales aparecen en un antiquísimo texto de medicina chino que data de hace más de mil años (Whang Jae Kyung, año 960). En la guerra civil americana, se describieron aproximadamente 14.000 casos de una extraña enfermedad conocida como "nefritis de guerra"², enfermedad que por sus características podría tener relación con estos virus. Ya en nuestro siglo, durante la I Guerra Mundial, varios miles de soldados ingleses estacionados en Flanders presentaron una enfermedad de manifestaciones clínicas compatibles con la nefropatía epidémica (NE), una entidad causada por Hantavirus y descrita posteriormente en los países escandinavos. Posteriormente, en la II Guerra Mundial, se detectaron cerca de 16.000 casos de fiebre hemorrágica epidémica entre las tropas alemanas estacionadas en Laplands (Finlandia) y en Yugoslavia. Todas estas situaciones, similares a las causadas por Hantavirus, aunque, evidentemente, no han podido ser verificadas, bien pudieran responder a la misma etiología.

Al margen de estos posibles antecedentes históricos, las primeras descripciones clínicas en las que se basa su conocimiento actual se deben a las observaciones realizadas por médicos soviéticos y japoneses³ entre los años 1930 y 1940. En 1932 se detectó en la cuenca baja del río Amur (un territorio de la antigua U.R.S.S. en la frontera con Manchuria) una enfermedad renal no conocida previamente. Poco tiempo después, la armada japonesa, estacionada en Manchuria, contabilizó alrededor de 12.000 casos de esta misma enfermedad entre un contingente de tropas de más de un millón de soldados. Investigadores de ambos países, soviéticos y japoneses, estudiaron esta entidad, concluyendo, simultáneamente y de forma independiente, que se trataba de una patología infecciosa de origen probablemente vírico. Durante estas investigaciones, tanto soviéticos (1939-1940) como japoneses (1936-1945), lograron provocar la aparición de enfermedad en voluntarios humanos, mediante inyecciones intravenosas e intramusculares de sangre y orina obtenidas de pacientes. A pesar de los resultados conseguidos en voluntarios humanos, no se consiguió reproducir inicialmente la enfermedad en animales de experimentación².

Pocos años después, durante la guerra de Corea (1951-54), más de 3.000 soldados de las Naciones Unidas se vieron afectados por un cuadro febril hemorrágico que evolucionaba rápidamente, con inestabilidad cardiovascular, shock y fracaso renal agudo. La aparición de esta nueva y rara enfermedad, y su gran severidad, ya que presentaba una mortalidad muy elevada (cerca al 10%), despertó el interés de la comunidad científica internacional. Para profundizar en el conocimiento de esta nueva entidad, denominada fiebre hemorrágica de Corea (FHC), se intentaron desarrollar modelos experimentales, y tratando de aislar el agente responsable, se ensayó su cultivo en diversas líneas celulares, tanto de origen humano como animal. Estos estudios, aunque más exhaustivos que los realizados previamente por rusos y japoneses, resultaron igualmente infructuosos⁴. Tras el cese de las hostilidades, la enfermedad se detectó en las tropas coreanas que vigilaban la antigua zona de la combate y en los granjeros, que tras haber sido evacuados, regresaron a la misma. Posteriormente, se observaron casos clínicos similares en áreas urbanas localizadas al sur de la región donde se describió inicialmente la enfermedad⁵.

En la misma época que se desarrollaban estos acontecimientos en Corea, se describieron en Suecia siete casos de una nefropatía aguda que más tarde sería conocida como "nefropatía epidémica". Las manifestaciones clínicas que presentaba este cuadro clínico eran similares a las observadas en los pacientes del Este asiático, aunque la enfermedad era menos severa y su mortalidad sensiblemente inferior⁶.

Entre 1958 y 1959, aparecieron en las regiones de Yaroslav Oblast y de los Urales (en la Rusia europea), algunos casos de fiebre hemorrágica. Estos cuadros fueron relacionados por los médicos soviéticos con los aparecidos en la región de Tula veinte años antes. Las descripciones clínicas de estas enfermedades eran muy parecidas a las comunicadas para la

NE escandinava, e incluso a las de otros cuadros hemorrágicos descritos en Europa del Este (Hungría, Checoslovaquia, Bulgaria, Rumanía y Yugoslavia)⁷.

A pesar de los aspectos comunes que presentaban entre sí la FHC, la NE y el resto de cuadros descritos en la Rusia europea y los países del Este de Europa, se carecía de una idea de conjunto a cerca de todas ellas. El primer investigador que aventuró la hipótesis de una etiología común fue Gajdusek, quien en 1962 sugirió la posibilidad de que todas estas enfermedades podrían ser causadas por un único grupo de agentes⁸.

En 1976 se consiguió, en el Este asiático, el aislamiento de un virus, desconocido hasta el momento, a partir de los pulmones de un pequeño roedor salvaje⁹: *Apodemus agrarius*. El aislamiento de este nuevo virus, denominado Hantaan, y su posterior adaptación a cultivos celulares¹⁰, permitió el desarrollo de técnicas de diagnóstico serológico que permitieron esclarecer este grupo de enfermedades, identificando su etiología y abriendo una puerta al conocimiento de sus reservorios animales. En sólo dos años, se demostró que la enfermedad descrita en la región asiática de la antigua Unión Soviética, la fiebre epidémica hemorrágica de China y la FHC, tenían un agente etiológico común¹¹. Igualmente se pudo determinar que las fiebres de Tula y Yaroslav, y la NE escandinava, estaban causadas por virus serológicamente relacionados¹², aunque no idénticos al virus Hantaan^{13,14}.

Posteriormente, a partir de los pulmones de otro roedor salvaje, denominado *Clethrionomys glareolus*, se aisló el virus Puumala. Este nuevo virus fue identificado como el agente responsable de la NE de los países escandinavos y de las enfermedades renales descritas en la Rusia europea^{15,16}. Tras este aislamiento, en otros países del Norte y centro de Europa, se fue reconociendo paulatinamente la presencia de agentes víricos antigénicamente relacionados con el virus Puumala. En otros países europeos, como los balcánicos y en algunas zonas de la Unión Soviética, se observó que coexistían al menos dos patrones de reactividad serológica distintos, por lo que se supuso que ambos virus (Hantaan y Puumala) estaban presentes^{13,17}.

Años después de la aparición de los primeros casos en Asia, en algunas ciudades de China, Corea y Japón se observaron formas clínicas atípicas y menos severas que las conocidas hasta el momento en el Este asiático⁴. El agente responsable de estos cuadros, el virus Seoul, fue aislado, e identificado como tal, en 1982 a partir de *Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*¹⁸. Posteriormente, este virus ha sido relacionado con varios brotes epidémicos ocurridos en laboratorios de Corea, Japón, Bélgica, Francia, Holanda e Inglaterra⁴.

En Yugoslavia se conocía la existencia de los virus Hantaan y Puumala, pero se había demostrado la existencia de un patrón de reactividad serológica que no se correspondía con ningún virus conocido¹⁹. En 1992 se aislaron dos virus, denominados Belgrado y Dobrava, a partir de muestras clínicas de pacientes y de *Apodemus flavicollis*, respectivamente^{20,21}. Mediante estudios genéticos se demostró la similitud de ambos²²; fueron identificados como un nuevo y único virus, denominado Dobrava-Belgrado.

En América, tanto en el Norte como en el Sur, se encontraron anticuerpos en roedores^{23,24,25} y se aislaron virus antigénicamente relacionados con las cepas obtenidas a partir de *Rattus* spp.^{26,27}. En 1985, a partir de *Microtus pennsylvanicus*, se identificó en Norteamérica un nuevo virus sin relación con enfermedad humana: Prospect Hill^{28,29}. A pesar de todas estas evidencias y de encontrarse anticuerpos en humanos, no se pudo demostrar ningún caso de enfermedad^{23,30,31}.

Según las distintas localizaciones geográficas, las enfermedades causadas por estos virus tuvieron diferentes denominaciones. La enfermedad surgida entre las tropas de Naciones Unidas fue denominada "fiebre hemorrágica de Corea". En Escandinavia se conocía como "nefropatía epidémica" o "nefritis epidémica benigna". Los soviéticos utilizaron términos como "enfermedad de Churilov", "nefrosonefritis epidémica hemorrágica" y "nefropatía epidémica con síndrome renal". Los japoneses las llamaron "fiebre Songo" o "fiebre de Kokko". Una vez conocida la etiología común de todas estas entidades, en 1982 el grupo de la OMS encargado del estudio de estas enfermedades, recomendó unificar la terminología y englobarlas bajo la denominación "fiebres hemorrágicas con síndrome renal" (FHSR)³². Sin embargo, los hechos ocurridos en Norteamérica en 1993, han obligado a replantear nuevamente esta terminología.

En 1993 surgió en U.S.A. una epidemia de elevada mortalidad, relacionada con un nuevo Hantavirus³³. Las manifestaciones clínicas eran fundamentalmente respiratorias, y por tanto esencialmente distintas de las descritas para el resto de los Hantavirus. El primer virus identificado como responsable de este cuadro, conocido posteriormente como síndrome pulmonar por Hantavirus (SPH), fue designado inicialmente Four Corners³⁴, después Muerto Canyon y en la actualidad Sin Nombre³⁵ fue aislado a partir del roedor *Peromyscus maniculatus*³⁶. Tras la aparición de la epidemia, y en el curso de esta, se detectaron casos de enfermedad en lugares alejados del foco inicial, donde no se conocía la existencia de este roedor. Estos hechos obligaron a realizar nuevas investigaciones, de las que correcto la identificación de nuevos Hantavirus relacionados con esta enfermedad, así como la identificación de sus respectivos reservorios^{37,38}.

Aspectos virológicos

Tras el aislamiento e identificación de los primeros Hantavirus, los estudios que se realizaron revelaron que presentaban numerosas características comunes con los bunyavirus, por lo que en 1987 fueron integrados en la familia *Bunyaviridae*. En la actualidad esta familia está formada por los géneros Bunyavirus, Nairovirus, Phlebovirus, Tospovirus y Hantavirus.

Los Hantavirus presentan una morfología muy similar al resto de los bunyavirus. Su material genómico está estructurado en una única molécula de ARN con polaridad negativa, dividida en tres segmentos, cada uno de los cuales posee además una secuencia de nucleótidos 3' y 5'-terminal conservada. Por otra parte, las proteínas estructurales que poseen son similares a las de otros virus de la familia³⁹.

Sin embargo, y a pesar de las similitudes anteriormente citadas, estos virus poseen ciertas características propias por las que difieren de otros géneros incluidos en la familia *Bunyaviridae*. Los Hantavirus carecen de reacciones serológicas cruzadas con los demás miembros de la familia, su secuencia terminal genómica es única, y las estrategias utilizadas para codificar sus segmentos genómicos son diferentes a las del resto de los bunyavirus.

Además de estas diferencias, las características epidemiológicas de los Hantavirus son peculiares y radicalmente diferentes de las del resto de los bunyavirus. Como norma general, los bunyavirus se transmiten al hombre a través de artrópodos. En el caso de los Hantavirus no se ha demostrado la existencia de ningún vector biológico, y la transmisión se realiza fundamentalmente por inhalación de aerosoles originados a partir de las excretas de roedores infectados³⁹.

Características morfológicas y estructurales

Al observarlos mediante microscopía electrónica los Hantavirus muestran una morfología esférica u oval, con un diámetro medio de 122 nm y una longitud que oscila entre 110 y 160 nm^{40,41}, si bien algunas cepas aisladas en la República Popular de China exhiben un gran pleomorfismo, con viriones que miden entre 78 y 200 nm de diámetro⁴².

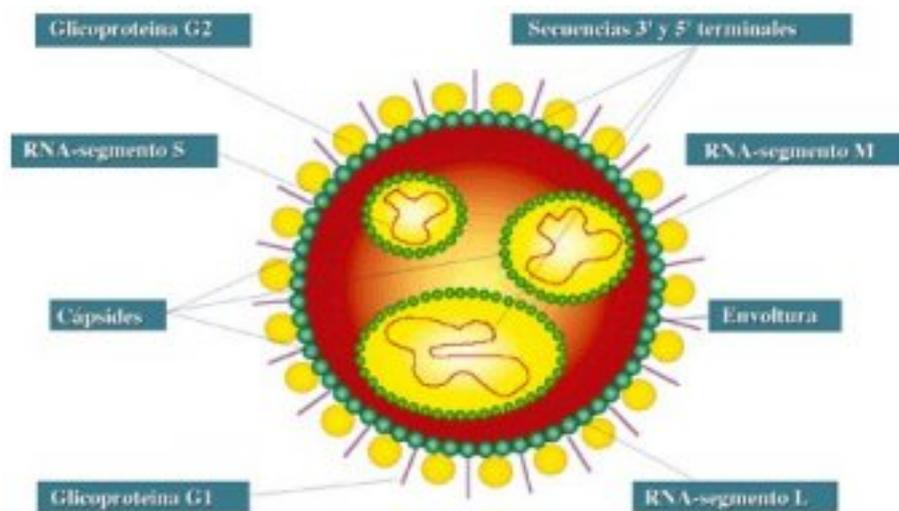


Figura 1. Esquema estructural de los Hantavirus

Por lo que respecta a la estructura del virión, son virus envueltos por una membrana fosfolipídica que obtienen del sistema de membranas intracitoplasmáticas (complejo de Golgi) de la célula huésped. En su superficie exhiben proyecciones hexagonales o pentagonales de 5 a 10 nm de longitud⁴³, compuestas por dos glicoproteínas, denominadas G1 y G2. Estas proyecciones, observadas mediante tinción negativa, muestran una imagen característica en forma de red⁴³. Encerradas por la membrana, se evidencian tres nucleocápsides gránulo-filamentosas de mayor tamaño que las de otros bunyavirus (Fig. 1).

Los Hantavirus poseen una molécula de ARN monocatenario, con polaridad negativa, trisegmentada. El ARN representa del 1 al 2% del peso total del virión. Los tres segmentos de ARN, denominados L, M y S, tienen tamaños y funciones diferentes. El segmento L o grande, con un peso molecular de 2,7 a 5 x10⁶ daltons, codifica la proteína L. El segmento M o mediano, tiene un peso molecular de 1 a 2,3 x 10⁶ daltons, y codifica las glicoproteínas de superficie G1 y G2. El segmento S o pequeño (peso molecular de 0,28 a 0,8 x 10⁶ daltons), codifica la proteína N de la nucleocápside y una proteína no estructural.

Cada virión contiene tres nucleocápsides. En cada una de ellas se localiza uno de los tres segmentos genómicos, adoptando una forma circular. El círculo se encuentra cerrado, de forma no covalente, en una zona donde se superponen las secuencias 5' y 3' terminal de los extremos de cada segmento de ARN. Ambos extremos tienen de ocho a once nucleótidos complementarios, conservados e idénticos para los tres segmentos de ARN y que difieren del resto de los bunyavirus³⁹. En las nucleocápsides aparece un único tipo de proteína (la proteína N), dividida en tres segmentos que conforman una estructura de simetría helicoidal³⁹.

Como ya se ha mencionado, los Hantavirus poseen cuatro proteínas estructurales. Una de ellas es la proteína de la nucleocápside (N), con un peso molecular de 50 a 53 Kd. Esta proteína constituye el antígeno mayor de los Hantavirus⁴⁴ y es la responsable de las reacciones cruzadas entre los distintos virus del género (anticuerpos específicos de género).

De las cuatro proteínas estructurales dos son glicoproteínas. Se localizan en la envoltura del virión y se las denomina G1 y G2. Sus pesos moleculares son de 64 a 72 Kd para la glicoproteína G1, y de 55 a 60 Kd para la G2. Ambas glicoproteínas son antígenos tipo-específicos, poseen capacidad hemaglutinante e inducen la formación de anticuerpos neutralizantes en los animales huéspedes.

La última proteína estructural, denominada L, posee un peso molecular de 200 Kd, y se le atribuye actividad de RNA-polimerasa⁴⁰.

Además de los elementos puramente estructurales de estos virus, poseen otros como lípidos y glúcidos que completan su composición. Los lípidos representan del 20% al 30% del peso total del virión, y proceden de la célula huésped. Se presentan fundamentalmente en forma de fosfolípidos, ácidos grasos y glicolípidos⁴⁰.

Por lo que respecta a los glúcidos suponen entre el 2% y el 7% del peso total. Se localizan fundamentalmente en la envoltura del virión formando parte de las proteínas G1 y G2, y también se incluyen en los glicolípidos, presentando en general un alto contenido en manosa⁴⁰.

Replicación viral

El proceso por el que estos virus se replican en la célula huésped no es conocido en detalle, aunque, de forma genérica, se sabe como se desarrolla. El virión se adhiere inicialmente a la superficie celular, y esta adhesión tiene lugar por la interacción de las glicoproteínas G1 y G2 (fundamentalmente la primera) con receptores específicos de la membrana celular. Aunque estos receptores no han sido identificados por el momento, se sabe que para que se lleve a cabo el proceso se requiere un pH ácido. Tras la fase de reconocimiento y adhesión, el virus penetra en la célula por endocitosis, gracias a la fusión de las membranas. Como resultado de este fenómeno, las nucleocápsides alcanzan el citoplasma de la célula huésped.

Una vez incluido el genoma vírico en la célula huésped, se lleva cabo la transcripción primaria que tiene lugar en el propio citoplasma. Esta se realiza por la acción de la RNA-polimerasa o transcriptasa, y su resultado es la síntesis de una cadena de RNA mensajero. A continuación se procede a la síntesis de las proteínas víricas y se replica el RNA genómico.

Simultáneamente se produce una transcripción secundaria que tiene como fin la amplificación de la síntesis de RNA mensajero.

La última fase incluye el ensamblaje de los componentes víricos y la liberación al exterior de los nuevos viriones. El proceso de ensamblaje tiene lugar en las cisternas del aparato de Golgi de la célula infectada, y la liberación de los viriones se lleva a cabo por gemación.

En relación con la replicación, un aspecto peculiar de los Hantavirus es la aparición de unos cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos de morfología y tamaño variables^{45,46}. Estos cuerpos de inclusión se aprecian mediante técnicas de microscopía de sección fina, están íntimamente asociados a las cisternas del aparato de Golgi, y de acuerdo a su morfología se distinguen tres tipos: granulares, filamentosos y gránulo-filamentosos.

Propiedades físicas y biológicas

Los Hantavirus son sensibles al desoxicolato y otros solventes lipídicos como el éter y el cloroformo. Son relativamente estables a temperaturas entre 4 y 20 °C durante aproximadamente 12 horas, pero se inactivan rápidamente cuando estas son superiores a 37 °C. Igualmente se inactivan en condiciones de pH extremas y en medios con altas concentraciones salinas².

Por lo que se refiere a sus propiedades biológicas, estos virus pueden replicarse en líneas celulares continuas como las células Vero E6 y las A549. También lo pueden hacer en líneas linfoides, como las células LYM-1 y las B95, si bien en estas últimas solamente crece el virus Hantaan⁴⁷. Una diferencia importante de los Hantavirus frente a otros bunyavirus, es que su desarrollo en medios celulares no induce la aparición de un efecto citopático, lo que dificulta la detección de su crecimiento.

Clasificación

La clasificación de este grupo de virus es compleja y ha estado sometida a continuos cambios, por lo que algunos virus han sido incluidos o excluidos sucesivamente del género Hantavirus. En los últimos años, a partir de la epidemia de 1993 en U.S.A., se ha multiplicado la identificación de nuevos Hantavirus, hecho que ha complicado aún más su clasificación.

Desde el punto de vista antigénico (serotipia), la identificación de un nuevo Hantavirus se realiza mediante la demostración de reacciones cruzadas con el resto de los serotipos conocidos. La existencia de reacciones cruzadas, que están determinadas por la presencia de la proteína N, se evidencia mediante pruebas serológicas como la inmunofluorescencia o el ELISA; para ello es necesario emplear como antígeno el virus entero o la nucleocápside. El estudio de los anticuerpos frente a las glicoproteínas G1 y G2 (antígenos tipo-específicos), permite agrupar los diferentes aislamientos de Hantavirus en serotipos. El serotipado de los Hantavirus se puede realizar por hemaglutinación o neutralización en placa, utilizando como antígeno virus enteros, o bien mediante técnicas inmunoenzimáticas y empleando las glicoproteínas como antígenos.

La identificación genética de los Hantavirus, se basa en el estudio de las características moleculares del RNA vírico. Para que un Hantavirus sea considerado como un nuevo genotipo vírico, es preciso que difiera en al menos un 25% de los nucleótidos, en cualquiera de sus segmentos genómicos, del resto de los Hantavirus conocidos. Cuando la diferencia se aprecia solamente en un número reducido de nucleótidos (de 5% a 24%), se le considera un subtipo o subespecie. La identificación genética de los Hantavirus se realiza habitualmente mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el posterior análisis de los productos amplificados mediante enzimas de restricción o con técnicas de hibridación.

Para la mayor parte de los Hantavirus conocidos la identificación genética (genotipos) se corresponde con la antigénica (serotipos). Sin embargo, el elevado número de Hantavirus reconocidos en los últimos años, ha provocado que la identificación de la mayoría de estos nuevos virus, haya sido realizada exclusivamente por técnicas genéticas, por lo que aún no se dispone de estudios serológicos.

Durante los últimos años, se han identificado numerosos Hantavirus causantes de enfermedad humana, aunque tan solo están plenamente reconocidos como especies¹ los virus: Hantaan⁹ (HTN), Puumala^{15,16} (PUU), Seoul¹⁸ (SEO), Dobrava-Belgrado^{20,21,48} (DOB), Sin Nombre^{21,49,50,51,52,53} (SN), Black Creek Canal^{54,55} (BCC), Bayou^{37,50,56} (BAY), y New York^{57,58} (NY). Al margen de estos, para los que se ha demostrado su participación directa en procesos infecciosos humanos, existe un amplio grupo de Hantavirus, de los que en la actualidad se carece de información que los relacione con algún tipo de enfermedad; dentro de él, son especies reconocidas¹ los virus:

Prospect Hill^{28,29} (PH), Thotapalayan⁵⁹ (TPM), Thailand⁶⁰ (THAI), Tula¹ (TUL), Khabarovsk⁶¹ (KHB) y El Moro Canyon^{38,62} (ELMC).

Existen otros Hantavirus, claramente identificados como virus únicos y diferentes de otras especies del género, aunque por el momento no se dispone de su caracterización completa, por lo que son considerados como probables nuevas especies¹. Dentro de este grupo están el virus Andes⁶³ (AND), responsable de los casos de SPH aparecidos en Argentina, y los virus Topografov⁶⁴ (TOP), Isla Vista⁶⁵ (ISLA), Bloodland Lake¹ (BLL), Muleshoe (MUL)⁶⁶, Rio Segundo⁶⁷ (RIOS) y Rio Mamore¹ (RIOM), no relacionados con enfermedad humana.

Un Hantavirus que quizás es preciso comentar, por aparecer de forma reiterada en la literatura, es el virus Leaky. Este virus, considerado inicialmente como un virus plenamente diferenciado e incluido en el género Hantavirus, fue excluido de él, ya que tras realizarse diferentes estudios serológicos y genéticos, se demostró que en realidad era una combinación de los virus Seoul y Puumala, esta combinación y su posterior identificación fueron causadas probablemente por un error de laboratorio^{34,68}.

Epidemiología

Reservorios

Los Hantavirus tienen su reservorio fundamental en los roedores. Dentro de este grupo de animales, cualquier especie puede actuar, en principio, como reservorio, tanto los roedores salvajes como los de origen urbano, incluso los empleados en experimentación. Aunque desde el punto de vista epidemiológico los roedores son los que desempeñan el papel más importante, también se ha descrito la infección en otros micromamíferos como los insectívoros. Al margen de los roedores, se han detectado o aislado estos virus en otros pequeños animales como comadrejas⁶⁹, conejos, gatos^{70,71,72}, murciélagos⁷³ y aves⁷⁴. En perros⁷⁵, cerdos y gallinas⁷⁶ se han encontrado anticuerpos específicos contra Hantavirus. Solamente en Rusia^{77,78} y China⁷⁹ se han demostrado antígenos de Hantavirus en al menos 16 roedores diferentes y en cuatro especies distintas de insectívoros¹⁹.

En general, y aunque pueda existir alguna excepción, se atribuye a cada Hantavirus una especie de roedor como reservorio (Tabla I). Se ha demostrado que un mismo Hantavirus puede infectar diferentes especies animales^{62,80,81,82,83} y que una especie de roedor puede resultar infectada por varios Hantavirus⁶⁶.

En resumen, los Hantavirus infectan numerosas especies animales, una de ellas actúa como reservorio principal y el resto, aunque contribuyen a la perpetuación del virus en la naturaleza, desempeñan un papel incierto con respecto a la transmisión al hombre.

Por lo que respecta a la distribución de los roedores infectados, cuando se estudian los animales de un área geográfica concreta, el porcentaje de los que se encuentran infectados suele ser muy variable y su distribución habitualmente heterogénea; de hecho, pueden existir focos de roedores infectados separados por apenas unas centenas de metros⁸⁴, rodeados de zonas libres de infección.

Especie	Reservorio
Hantaan	<i>Apodemus agrarius</i>
Puumala	<i>Clethrionomys glareolus</i>
Seoul	<i>Rattus norvegicus</i>
Prospect Hill	<i>Microtus pennsylvanicus</i>
Dobrava-Belgrado	<i>Apodemus flavicollis</i>
Thailand	<i>Bandicota indica</i>
Thottapalayam	<i>Suncus murinus</i>
Tula	<i>Microtus arvalis</i>
Sin Nombre	<i>Peromyscus maniculatus</i>
New York	<i>Peromyscus leucopus</i>
Black Creek Canal	<i>Sigmodon hispidus</i>
El Moro Canyon	<i>Reithrodontomys megalotis</i>
Bayou	<i>Oryzomys palustris</i>
Khabarovsk	<i>Microtus fortis</i>
Topografov	<i>Lemmus sibiricus</i>
Andes	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>
Isla Vista	<i>Microtus californicus</i>
Bloodland Lake	<i>Microtus ochrogaster</i>
Mulshoe	<i>Sigmodon hispidus</i>
Río Segundo	<i>Reithrodontomys mexicanus</i>
Río Mamore	<i>Oligoryzomys microtis</i>

Especies de Hantavirus y reservorios característicos de cada una de ellas.

Entornos epidemiológicos

Desde la descripción de los primeros casos clínicos de infección por Hantavirus, y en función de su localización y la del reservorio, se diferenciaron tres entornos epidemiológicos diferentes: rural, urbano y animales de experimentación.

Dentro del tipo rural, los reservorios varían en función de la región geográfica. En Corea y en el resto de los países del Este asiático, el reservorio tipo es *Apodemus agrarius*^{85,86}, aunque en China se han visto involucrados otros roedores salvajes e incluso insectívoros⁶⁹. Este roedor, *A. agrarius*, habita en el campo y se mueve dentro de un territorio muy limitado.

Los casos clínicos rurales de Asia aparecen durante todo el año, pero existen dos picos estacionales bien diferenciados: uno al final de la primavera y principios de verano, y el otro, más importante, a finales del otoño. Estos dos picos coinciden con un incremento del número de *Apodemus* infectados^{86,87} y, fundamentalmente, con una mayor frecuencia de contacto entre los roedores y el hombre. Durante el primer pico estacional, el mayor número de contactos entre seres humanos y animales infectados viene determinado por la movilidad de los roedores como consecuencia de su actividad sexual. En los meses invernales, por el contrario, es la invasión de granjas y graneros en busca de alimento, la que justifica esta circunstancia. En relación con la actividad humana, ambas épocas coinciden con las temporadas de siembra y recolección agrícolas⁸⁸. Las personas que se infectan suelen ser trabajadores del campo, con una edad entre 20 y 50 años, que realizan sus actividades en zonas próximas a las habitadas por estos roedores⁸⁷.



Figura 2. *Clethrionomys glareolus*

En Europa, dentro de este tipo epidemiológico, el roedor más importante es *Clethrionomys glareolus*⁸⁹ (Figura 2), fundamentalmente en Europa central, los países escandinavos y la región europea de Rusia. La distribución estacional de la enfermedad es similar a la descrita para *A. agrarius*, aunque el pico primaveral se retrasa a mediados y finales del verano, coincidiendo con el incremento de actividades lúdicas en el campo. En los países del Norte de Europa es característica la aparición de la enfermedad en brotes epidémicos (nefropatía epidémica); estos brotes están íntimamente relacionados con variaciones cíclicas en las poblaciones de estos roedores^{89,90}.



Figura 3. *Microtus Arvalis*

En los países balcánicos y en la Rusia europea, en función de los diferentes virus, se han descrito otras especies de roedores salvajes que pueden actuar como reservorio. Entre estos caben destacar: *Apodemus flavicollis*⁹¹, *Mus musculus*⁹² y *Microtus arvalis*⁸⁰ (Fig. 3).

En el continente americano, hasta hace pocos años, la información era escasa. Tras el brote epidémico aparecido en 1993 en U.S.A. los estudios se intensificaron, y en la actualidad, en este país, se conocen más de cinco especies diferentes de roedores salvajes que actúan como reservorios de distintos Hantavirus: *Peromyscus maniculatus*³⁵, *Reithrodontomys megalotis*^{38,62,82}, *Sigmoidon hispidus*^{37,93}, *Peromyscus leucopus*^{57,58} y diferentes especies de *Microtus*²⁸.

El segundo entorno epidemiológico en el que pueden aparecer las infecciones por Hantavirus es el urbano. Este entorno epidemiológico se encuentra directamente relacionado con un único virus, el virus Seoul, o bien con serotipos muy estrechamente vinculados a él. Los reservorios más importantes para este virus son las ratas (*Rattus norvegicus* y *Rattus rattus*). Las infecciones transmitidas por ratas ocurren durante todo el año, pero tienden a ser más frecuentes en otoño e invierno⁸⁷.

Dentro de este tipo epidemiológico, tanto los reservorios como el virus presentan una distribución prácticamente universal. Los casos urbanos aparecen característicamente de forma esporádica. Se conoce la enfermedad causada por el virus Seoul⁹⁴ en Corea, Japón, China, Malasia y Sri Lanka; pero aunque se ha investigado, no se ha conseguido demostrar la existencia de enfermedad humana causada por este virus ni en África ni en América⁷⁰. En Europa, se han identificado recientemente casos de enfermedad por este virus en Irlanda⁹⁵ y Yugoslavia⁹⁶.

Los casos clínicos que aparecen como consecuencia de la transmisión a partir de animales de experimentación, se diagnostican habitualmente en trabajadores de laboratorio que están en contacto estrecho con diferentes especies animales. Los reservorios son, en general, distintas especies de roedores de laboratorio, y al igual que en el entorno urbano, el virus que se transmite es fundamentalmente Seoul⁴. Teóricamente, la enfermedad puede presentarse en cualquier parte del mundo, pero en el momento actual solamente se han documentado casos en Asia y en Europa.



Figura 4. *Apodemus Sylvaticus*

La enfermedad contraída a partir de animales de laboratorio puede aparecer de forma esporádica, pero habitualmente lo hace en pequeños brotes epidémicos. Se pueden presentar en cualquier época del año, pero existe una mayor acumulación de casos en los meses fríos⁹⁷, probablemente en relación con un menor índice de humedad ambiental, como consecuencia del empleo de sistemas de calefacción, aunque también podría contribuir a esta mayor incidencia invernal la menor aireación de los estabularios.

Mecanismo de transmisión

Los roedores infectados por Hantavirus eliminan virus por saliva, orina y heces. El tiempo durante el cual pueden excretar virus depende fundamentalmente de la especie de roedor. Así, el periodo de tiempo durante el que *Apodemus agrarius* elimina virus por heces es inferior a un mes; sin embargo por orina y saliva lo hace durante prácticamente un año. En *Rattus* sp. y en roedores de laboratorio el tiempo de eliminación suele ser menor, entre una y dos semanas aproximadamente⁹⁸, aunque con algunas excepciones: en Japón se ha observado la existencia de infección persistente en ratas urbanas⁹⁹.

La transmisión del virus entre roedores se realiza fundamentalmente por vía respiratoria, mediante la inhalación de aerosoles originados a partir de materiales contaminados con saliva, orina o heces de animales infectados. Se ha demostrado que al cabo de aproximadamente 10 días de contacto entre roedores infectados y no infectados, en los pulmones de estos últimos se pueden detectar antígenos de Hantavirus⁴.

Aunque menos frecuente, la mordedura puede ser otro mecanismo de transmisión que suele tener lugar durante encuentros agresivos entre roedores¹⁰⁰. Hasta el momento actual, la transmisión vertical no ha sido confirmada en roedores⁸⁵. Sin embargo, se sabe que las hembras transfieren a los fetos anticuerpos específicos frente a Hantavirus. Estos anticuerpos presentan un carácter protector frente a la infección, aunque son de corta duración. Hasta la desaparición de estos anticuerpos existe un cierto grado de resistencia a la infección, pero al alcanzar la madurez sexual los roedores se infectan y los antígenos víricos son detectables en sus pulmones^{81,101}.

La transmisión de los Hantavirus al hombre se produce al entrar éste en contacto con los reservorios, fundamentalmente a través de la inhalación de aerosoles originados a partir de materiales contaminados con heces, orina y saliva de roedores infectados^{4,39}. Aunque de forma más infrecuente, y al igual que ocurre entre los animales, la transmisión también puede ocurrir de modo directo, por mordedura del roedor⁹⁸. Otro mecanismo de contagio posible, pero probablemente poco frecuente, es la ingesta de alimentos contaminados con excretas de roedores¹⁰².

En el hombre, de forma puntual, se ha descrito la transmisión vertical¹⁰⁰, pero no existen evidencias de otras formas de contagio interhumano, si bien es cierto que cuando se ha investigado en voluntarios sanos se ha conseguido reproducir la enfermedad mediante la inoculación parenteral de sangre y orina de enfermos^{4,103}. Tras la aparición del SPH en

U.S.A., se investigó en personas con intensa exposición respiratoria a pacientes ingresados con esta enfermedad (trabajadores de unidades de cuidados intensivos), la posibilidad de transmisión persona a persona; sin embargo no se pudo comprobar esta circunstancia, ni tan siquiera se logró demostrar en estos trabajadores, producción de anticuerpos frente a Hantavirus¹⁰⁴. A pesar de estas evidencias en contra del contagio interhumano, se ha comunicado recientemente en Argentina la aparición de algunos casos que podrían responder a este mecanismo de transmisión¹⁰⁵.

La pertenencia de los Hantavirus a la familia *Bunyaviridae*, una de cuyas características genéricas es su transmisión mediante artrópodos, ha suscitado la posibilidad de que este mismo mecanismo pudiera participar en la transmisión de Hantavirus entre los propios roedores o bien de estos al hombre. A pesar de las investigaciones al respecto, en la actualidad se carece de datos que confirmen esta posibilidad; no se ha conseguido aislar Hantavirus de ningún artrópodo, ni se ha logrado el crecimiento en cultivos celulares de sus tejidos^{4,94,98}.

Grupos de riesgo

Teniendo en cuenta las peculiares características epidemiológicas de estos virus, son un grupo de alto riesgo para la infección por Hantavirus los empleados de empresas de desratización o de control de roedores¹⁰⁶, igualmente presentan mayor riesgo que la población general todas aquellas personas cuya actividad laboral se desarrolla habitualmente en el campo^{107,108,109,110}, como agricultores, ganaderos, leñadores, zoólogos o guardas forestales, incluso los que de forma más o menos esporádica realizan algún tipo de actividad en zonas rurales (soldados, cazadores, pescadores, excursionistas, recolectores de setas...etc). También supone un grupo de alto riesgo el personal de laboratorio, especialmente el que trabaja directamente con este tipo de virus, pero también el encargado del manejo y cuidado de animales, sobre todo de roedores⁸⁷.

La incidencia por edad y sexo de las infecciones por Hantavirus se encuentra directamente relacionada con la práctica de actividades rurales o bien con el contacto directo con roedores. La enfermedad aparece con mayor frecuencia en personas con edades comprendidas entre 20 y 30 años, y los casos en niños menores de 10 años son raros^{87,111}. Afecta a ambos sexos, aunque la prevalencia es mayor en varones¹⁰⁰.

Distribución geográfica

Aunque las primeras descripciones clínicas de este grupo de enfermedades parecían confinar a estos virus a unas regiones geográficas muy restringidas, los numerosos estudios seroepidemiológicos realizados en humanos y en diversas especies de roedores, así como las descripciones posteriores de casos clínicos, han demostrado que los Hantavirus están ampliamente distribuidos por todo el mundo^{4,70,87}.

A lo largo de la historia se han descrito dos importantes zonas endémicas que se localizan en medios rurales. La primera se situaba en Asia oriental e incluía Corea, la región asiática de Rusia y el Noroeste de China. Actualmente se sabe que la infección por Hantavirus también está presente en otros países próximos a estos, como los del Sudeste asiático y los de la costa del Pacífico^{94,112} (Japón, Burna, Fiji, Hong Kong, India, Malasia, Singapur, Nueva Guinea, Filipinas, Taiwan y Sri Lanka). En Asia, las formas clínicas son fundamentalmente severas y están causadas por el virus Hantaan.



Figura 5. Infección por Hantavirus en Europa.

La segunda zona endémica se localizaba en el continente europeo. Los primeros casos diagnosticados en Europa, lo fueron en los países escandinavos¹¹³, y posteriormente en los centroeuropeos, balcánicos, y en la región europea de Rusia. Sin embargo, en la actualidad se han documentado enfermos en la mayor parte de los países (Figura 5): Albania¹¹⁴, Alemania¹⁰⁷, Austria¹¹⁵, Bélgica¹¹⁶, Bulgaria, antigua Checoslovaquia, Dinamarca, Finlandia, Francia^{117,118}, Grecia^{114,110}, Holanda, Hungría¹¹⁹, Italia¹²⁰, Irlanda⁹⁵, Noruega, Polonia, Portugal¹²¹, Reino Unido, Rumanía, Rusia, Suecia y antigua Yugoslavia.

En nuestro continente también se han investigado los reservorios, y se ha demostrado la existencia de roedores salvajes infectados por Hantavirus en la mayoría de los países en los que han aparecido casos clínicos. Igualmente se han encontrado ratas infectadas en numerosos países como Alemania, Bélgica, Francia¹²², Grecia⁹¹, Holanda, Italia, Portugal¹²³, Suecia¹²⁴, Reino Unido y antigua Yugoslavia.

Los cuadros clínicos diagnosticados en Europa son generalmente benignos y el Hantavirus más frecuentemente involucrado es el virus Puumala, aunque en algunos países del área balcánica, además de la infección por el virus Puumala, se conocen también formas clínicas severas causadas por los virus Hantaan y Dobrava-Belgrado^{21,22}.



Figura 6. Grandes áreas endémicas de infección por Hantavirus en el mundo.

Tras los acontecimientos acaecidos en Norteamérica en 1993, a las dos grandes áreas endémicas conocidas clásicamente, Este asiático y Europa, es preciso considerar ésta región

como una nueva zona endémica (Figura 6). En la primavera de ese año, se describió en una región muy localizada de Norteamérica, en la confluencia de los estados de Nuevo México, Arizona, Utah y Colorado, una enfermedad no conocida previamente en relación con un nuevo Hantavirus. Posteriormente se fueron describiendo nuevos casos en otros estados, y en la actualidad se ha confirmado la existencia de esta enfermedad en al menos veintiún estados de U.S.A., así como en Canadá^{125,126}, y en algunos países de Sudamérica como Argentina⁶³ y Bolivia¹²⁷.

La enfermedad descrita inicialmente en Norteamérica es un cuadro clínico de gran severidad que cursa con afectación fundamentalmente respiratoria. En la actualidad se conocen cinco virus relacionados con esta nueva entidad: Sin Nombre¹²⁸, Bayou⁵⁶, Black Creek Canal^{54,93}, New York⁵⁷ y Andes⁶³.

Los casos relacionados con el virus Seoul se localizaron inicialmente en las grandes ciudades de los países asiáticos endémicos para Hantaan, y posteriormente en otros donde incluso se desconocía la existencia de Hantavirus^{18,129,130}. Aunque por la amplia distribución de sus reservorios la enfermedad por este virus debería estar presente en prácticamente todas las regiones del mundo, solamente se ha confirmado la existencia de casos clínicos en Asia y en algunos países de Europa.

En Bélgica, Francia, Reino Unido, Holanda, Rusia, y en algunos países de Asia se han descrito casos humanos adquiridos por contacto con roedores de laboratorio infectados con Hantavirus, casos que habitualmente se relacionan también con el virus Seoul.

En resumen, la existencia de Hantavirus está confirmada actualmente, ya sea en humanos o en roedores, en la mayor parte de los países de Asia, Europa y América (del Norte, Central y del Sur). También se ha demostrado la existencia de estos virus en algunos países de África⁸⁷ (Egipto, Sudán, Uganda, Kenia, Benin, Camerún, Mauritania, Senegal, Chad, República Centroafricana, Gabón, Madagascar y Nigeria) y en Oceanía (Australia, Fidji y Nueva Guinea).

Patogenia

Uno de los problemas más importantes que ha planteado el estudio de las infecciones por Hantavirus ha sido la carencia de un modelo animal de experimentación³⁹, y aunque recientemente se ha desarrollado alguno que podría ser adecuado para la investigación de estas enfermedades¹³¹, el conocimiento de los aspectos más importantes de su patogenia, se debe a la información obtenida a partir de pacientes y de roedores infectados con Hantavirus.

Aunque se desconoce con exactitud el factor o factores patogénicos determinantes en la fisiopatología de la enfermedad, existen algunas circunstancias que sugieren una participación del sistema inmune^{39,131}. En el curso de las enfermedades causadas por estos virus, se han detectado inmunocomplejos circulantes que podrían desempeñar un importante papel en la fisiopatología de las manifestaciones hemorrágicas y en la disfunción renal³⁹. Por otra parte, la acción directa provocada por la invasión vírica, podría ser responsable de alguna de las alteraciones encontradas en estas enfermedades; en pacientes con infección por Hantavirus se han encontrado antígenos víricos en pituitaria, riñón, bazo, corazón, hígado, pulmón, endotelio vascular, tejido nervioso y cerebro^{4,39}. Igualmente se ha demostrado replicación viral en el endotelio vascular¹³¹.

Alteraciones vasculares

En las formas severas de infección por Hantavirus existe una importante disfunción capilar³⁹, que es la responsable de gran parte de las manifestaciones clínicas. A nivel capilar se observa un hinchamiento de las células endoteliales, con disminución de su número, así como rotura y exposición de la membrana basal¹³². Los vasos involucrados están dilatados y congestivos, y aparecen hemorragias en los tejidos circundantes. Por otra parte, mientras que son frecuentes los infiltrados de células mononucleares en órganos como hígado y bazo, los perivasculares son escasos¹³².

El daño capilar podría estar causado directamente por la infección vírica o bien por el depósito de inmunocomplejos^{132,133}. En animales infectados con Hantavirus se han demostrado antígenos víricos en el endotelio vascular, y en algunos pacientes se han encontrado inmunocomplejos en las paredes de los capilares glomerulares. Otros factores asociados como la uremia, la acidosis, la hipoxemia o la alteración de la función plaquetaria, también pueden influir en las alteraciones vasculares¹³². Recientemente se ha comunicado que un aumento de óxido nítrico podría participar y contribuir al daño vascular¹³⁴. También se ha demostrado que la aparición de alteraciones vasculares está relacionada con la actuación de numerosos mediadores celulares, como interleuquinas, leucotrienos, factor tumoral de necrosis alfa (TNF- α), interferón, histamina, bradiquinina o el factor de activación plaquetaria⁴.

La extravasación de plasma, como consecuencia del aumento de permeabilidad capilar, es la causa del edema retroperitoneal o peritoneal que aparece en los enfermos, lo que a su vez provoca los dolores, característicamente localizados en abdomen y área lumbar⁴. Por otra parte, el mecanismo patogénico de la hipotensión y del shock se encuentra relacionado con la pérdida de plasma del sistema vascular, causada por la dilatación y el aumento de permeabilidad capilar, a lo que se suma una disminución del tono arterial y de la masa eritrocitaria.

Alteraciones renales

Las autopsias practicadas en casos severos de FHC y las biopsias realizadas a enfermos con NE demuestran que el daño tubular renal es el responsable del síndrome renal³⁹. Las lesiones encontradas en ambos cuadros clínicos son similares, si bien en el caso de la NE son más escasas. La alteración más importante y constante se produce en los túbulos renales, donde aparece hemorragia intersticial; en la mayoría de los casos también se encuentran células inflamatorias en el intersticio medular y cortical¹³⁵.

Los cambios histológicos en riñón se correlacionan con el estadio clínico y la severidad de la

enfermedad³⁹. En las fases febril e hipotensiva aparece una congestión en los vasos de la médula subcortical, congestión que avanza al espacio intertubular en la fase oligúrica, apareciendo a continuación el daño tubular⁴. La lesión tubular progresa con la enfermedad, mostrando una médula congestiva y hemorrágica, y un cortex pálido³⁹. Se piensa que las secuelas postinfección podrían estar causadas por la existencia de graves hemorragias renales. Las lesiones tubulares incluyen diferenciación del epitelio con pérdida del borde en cepillo y vacuolización de las células epiteliales. En los túbulos se pueden encontrar depósitos de IgM, IgG y C34. En la mayoría de los pacientes estudiados se demuestran focos citoplasmáticos de glicoproteínas víricas en las células epiteliales tubulares, lo que sugiere que la invasión viral de las células interviene activamente en el desarrollo de las lesiones³⁹.

Fenómenos hemorrágicos

Las alteraciones hemorrágicas que aparecen en las infecciones por Hantavirus, aunque son un fenómeno característico, no son siempre constantes, y su etiología responde a un modelo multifactorial (Figura 7). El daño vascular, las alteraciones plaquetarias, la coagulación intravascular diseminada (CID), la uremia y la HLA circulante (*heparine-like activity*), son los factores fundamentales que determinan la aparición de fenómenos hemorrágicos en el curso de las infecciones por Hantavirus. El daño vascular característico de estas infecciones determina un aumento de la permeabilidad, lo que provoca un incremento del hematocrito, una acumulación de fluidos extracelulares e hipotensión¹³². Por otra parte, también puede contribuir a desencadenar un fenómeno de CID.

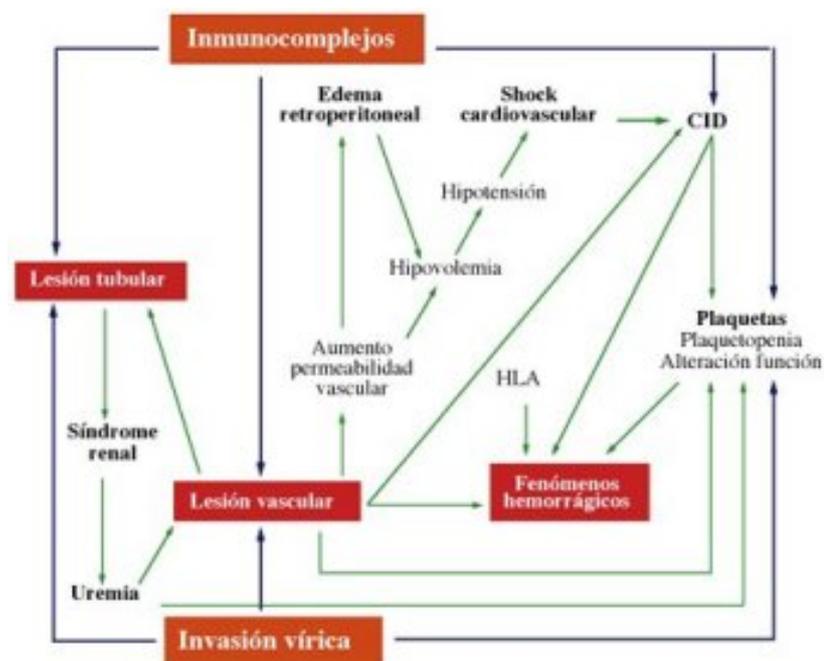


Figura 7. Esquema de la patogenia de las infecciones por Hantavirus.

Por lo que se refiere a las plaquetas, más del 90% de los pacientes presentan cifras inferiores a 100.000/132, y la función plaquetaria se encuentra gravemente dañada, ya que tanto la agregación como la adhesión son anormales. Estos defectos plaquetarios aparecen en la fase febril y se hacen más pronunciados en las fases hipotensiva y oligúrica. El grado de trombocitopenia y de la alteración de la función plaquetaria se correlacionan con la gravedad de la enfermedad y con la severidad de la hemorragia¹³². En estos enfermos se ha demostrado que la trombocitopoyesis se encuentra alterada, y puede existir un aumento del consumo de plaquetas por la existencia de áreas vasculares dañadas y por la aparición de

CID. Igualmente se ha observado que en la infección por Hantavirus las plaquetas presentan inmunocomplejos en su superficie¹³³, los cuáles pueden inducir la agregación plaquetaria, la lisis por el sistema del complemento, el secuestro de plaquetas por el sistema fagocítico mononuclear, o la alteración de la función plaquetaria; este último hecho también puede ser potenciado por la uremia. La invasión vírica directa podría estar igualmente relacionada con el consumo de plaquetas¹³³.

La CID es una complicación característica, pero su frecuencia de aparición es variable¹³². La presencia de CID incrementa el riesgo de sangrado, y determina una mayor severidad de la enfermedad¹³⁶. Este fenómeno puede ser desencadenado por los inmunocomplejos que inducen la activación plaquetaria y participan en el daño vascular. Por otra parte, la lesión vascular provoca una exposición del tejido conectivo subendotelial en los vasos lesionados, lo que también podría inducir la aparición de CID. El shock también puede iniciar este fenómeno. La presentación de CID ha sido relacionada con la aparición de secuelas o complicaciones a largo plazo, como hipertensión arterial o insuficiencia renal crónica^{4,137}.

En pacientes con infección por Hantavirus se ha detectado una actividad heparínica circulante (HLA) sin aparente relación con la heparina¹³². Esta actividad puede encontrarse en la fase febril, pero es más intensa en las fases oligúrica e hipotensiva.

La uremia, fenómeno característico de estos cuadros, y que puede llegar a ser severa, provoca importantes alteraciones de la función plaquetaria: disminuye la adherencia y la actividad procoagulante de las plaquetas, y provoca defectos de agregación. La hipertensión y la hipovolemia, asociadas a la uremia en la fase oligúrica, incrementan la probabilidad de hemorragia¹³².

Alteraciones respiratorias

En pacientes con NE se ha demostrado, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la presencia de RNA vírico en células obtenidas por lavado broncoalveolar¹³⁸; en estos enfermos también se ha encontrado una respuesta inflamatoria local en el tracto respiratorio inferior.

En los pacientes americanos con SPH se han detectado antígenos de Hantavirus en células endoteliales de la microvasculatura, especialmente en la del pulmón^{139,140}, así como inclusiones hantavirales en células endoteliales pulmonares, y partículas "virus-like" en células endoteliales y macrófagos pulmonares. También se ha demostrado en estos enfermos, mediante PCR, la presencia del virus en células mononucleares periféricas¹⁴¹. Según algunos autores, los mecanismos patogénicos del SPH se encuentran directamente relacionados con la presencia de antígenos víricos en los capilares pulmonares⁵².

Por otra parte, los hallazgos histopatológicos encontrados a nivel pulmonar en los enfermos americanos, demuestran un aumento de la permeabilidad que probablemente está relacionado con un mecanismo inmunopatológico. En estos pacientes existe una neumonitis intersticial con un infiltrado mononuclear variable, edema y membranas hialinas focales¹³⁹. Los alveolos contienen fluidos, fibrina y células inflamatorias, y los septos pulmonares están edematosos y presentan una hiperplasia de neumocitos tipo I58.

La causa de la hipoxemia que caracteriza al SPH es debida al aumento de la permeabilidad pulmonar, lo que provoca la aparición de un edema no cardiogénico asociado a una baja presión de oclusión de la arteria pulmonar, y a un incremento del contenido proteico en el fluido del edema. Las medidas hemodinámicas, en los casos severos, muestran un estado de shock caracterizado por bajos índices cardíacos, bajo volumen de eyección y una alta resistencia sistémica vascular. La mala evolución de la enfermedad y la progresión hacia la muerte, se produce por una disfunción cardíaca debida a la hipoxemia y al incremento de ácido láctico.

Respuesta inmune

Respuesta celular

La aparición de la respuesta inmune en la infección por Hantavirus, tanto en su vertiente celular como en la humoral, es muy precoz. Inmediatamente tras la infección se produce una activación de las células T, y se detecta rápidamente un incremento de neutrófilos y monocitos. También se observa un aumento de las células T CD8+, pero no se modifican las T CD4+, por lo que el cociente CD4+/CD8+ disminuye¹³⁷. Las células "natural killer" no se modifican en número, pero se detecta un incremento en su actividad¹³⁷.

Respuesta de anticuerpos

Por lo que respecta a la respuesta de anticuerpos, los del tipo IgM aparecen en los primeros momentos de la infección, y pueden detectarse ya a partir del segundo día de enfermedad. Aunque, según algunos estudios solo permanecen en suero durante 5 semanas¹⁴², han sido detectados al cabo de seis meses³⁹, incluso en algunas ocasiones hasta un año después del inicio de la enfermedad, aunque en niveles muy bajos¹⁴³. En cualquier caso, a partir de los tres meses, la IgM desciende de forma significativa¹⁴³.

Los anticuerpos del tipo IgG también pueden evidenciarse precozmente, detectándose durante la primera semana de la enfermedad. Sin embargo, la capacidad de detectar la IgG en los primeros estadios de la infección viene determinada por la técnica serológica empleada, siendo la más sensible la inmunofluorescencia¹⁴³. En la infección por el virus Puumala, no es infrecuente una aparición más tardía, incluso, hasta en un tercio de los pacientes, no se evidencia un fenómeno de seroconversión para este anticuerpo. La IgG puede estar presente durante períodos muy prolongados de tiempo³⁹, siendo detectada incluso hasta 20 años después de la infección y, en muchos pacientes, probablemente durante toda la vida.

En las infecciones por Hantavirus se ha demostrado también una importante actividad de los anticuerpos IgA e IgE. La IgA está presente tanto en la fase aguda de la enfermedad como en el periodo de convalecencia¹⁴⁴. En las infecciones por el virus Puumala se ha demostrado un aumento de la IgE en comparación con otras viriasis, tanto de la total como de la específica, aunque su papel patogénico es discutible¹⁴⁵.

Respuesta a los antígenos víricos

Por lo que respecta a la respuesta de anticuerpos frente a los diferentes antígenos de los Hantavirus, existen diferencias importantes, sobre todo en relación con la cronología de la enfermedad. En la infección aguda, los primeros anticuerpos en aparecer son los que reaccionan frente a la glicoproteína G1, estas inmunoglobulinas son capaces de neutralizar los virus "in vitro", y se ha demostrado que "in vivo" presentan un cierto carácter protector frente a la infección⁴⁰.

En segundo lugar, se produce una respuesta de anticuerpos frente a la proteína N de la nucleocápside¹⁴⁶. Estas inmunoglobulinas son las responsables de las reacciones cruzadas entre Hantavirus, pueden ser detectadas por la mayoría de las pruebas serológicas (fijación de complemento, inmunofluorescencia o ELISA), y en el caso de la NE suponen la respuesta más importante de IgG⁴⁴. Los anticuerpos anti-N, no neutralizan la infectividad del virus "in vitro", ni protegen frente a la infección vírica en los modelos de experimentación animal⁴⁰. A pesar de la carencia de protección frente a la infección de los anticuerpos formados frente a la proteína N, parece haberse demostrado que existe una respuesta celular, inducida por esta proteína, con cierto carácter protector¹⁴⁷.

Los últimos anticuerpos en aparecer son los que reaccionan con la glicoproteína G2. Las inmunoglobulinas anti-G2 se detectan en la fase de convalecencia, alrededor de 6 semanas después del inicio de la infección¹⁴⁶. Al igual que ocurre con los anticuerpos anti-G1, los anti-G2 también neutralizan los virus "in vitro" y protegen contra la infección "in vivo"⁴⁰.

Inmunocomplejos

Como ya se ha comentado anteriormente, en el curso de las infecciones por Hantavirus se producen inmunocomplejos que son capaces de depositarse en diferentes células y que desempeñan un papel muy importante en la patogenia de la enfermedad. Los inmunocomplejos se han encontrado circulantes en suero, en la superficie de hematíes y plaquetas, en los glomérulos, en los túbulos renales, y en orina^{39,132,137}. Estos elementos inmunológicos son capaces de activar el complemento e inducir la formación de mediadores celulares por las plaquetas y las células inflamatorias, provocando la aparición de daño vascular que es la principal lesión anatomopatológica de este grupo de enfermedades. En estas infecciones, el complemento se puede activar tanto por la vía clásica, como por la alternativa, esta activación es más intensa en aquellos pacientes que presentan previamente un cuadro severo con importante daño vascular.

Por otra parte, los inmunocomplejos, en presencia de la IgE específica que se encuentra elevada en las fases iniciales de la enfermedad¹⁴⁵, son capaces de activar los basófilos y los mastocitos. Sin embargo, y a pesar de la importante participación de estos complejos inmunes, en las infecciones por Hantavirus no aparecen algunas manifestaciones características de otras enfermedades mediadas por inmunocomplejos, como urticaria, serositis o sinovitis.

Reacciones cruzadas

Aunque una de las características de los Hantavirus es la carencia de reacciones cruzadas con otros Bunyavirus, este tipo de fenómeno es muy frecuente e importante entre ellos, están causadas por la existencia de un antígeno común (la proteína N) y son fácilmente detectables cuando se emplean técnicas como la inmunofluorescencia o el ELISA, pero no se presentan de forma homogénea. La existencia de estas reacciones cruzadas entre Hantavirus pueden resultar un factor de confusión cuando se trata de identificar el virus responsable de un determinado cuadro clínico, pero sin embargo, y en términos generales, facilitan la estandarización de las técnicas serológicas, ya que empleando tan solo uno o dos serotipos, se pueden detectar infecciones causadas por prácticamente la totalidad de ellos.

En general, se acepta que los sueros de los pacientes infectados por el virus Hantaan reaccionan con todos los serotipos a excepción del virus Thottapalayam¹⁴⁸. Los sueros de los pacientes con NE (virus Puumala), aunque reaccionan intensamente con los virus Prospect Hill, Sin Nombre y Black Creek Canal, lo hacen de forma discreta con los demás Hantavirus, incluso no expresan ningún tipo de reactividad frente al virus Thottapalayam¹⁴⁸. La mayoría de los autores describen una reactividad unidireccional entre el virus Puumala y el virus Hantaan^{14,149}; es decir, un paciente infectado por Puumala presenta anticuerpos que reaccionan frente a Hantaan, pero no al contrario. Sin embargo, en algunos trabajos se ha observado que cuando se emplea como antígeno el virus Hantaan en el diagnóstico de enfermos con NE la sensibilidad de la prueba es baja^{150,151}. En el caso de los virus Seoul y Hantaan este tipo de reacciones son bidireccionales.

Manifestaciones clínicas

La infección por los diferentes Hantavirus no da lugar a un cuadro único, sino que por el contrario abarca un amplio abanico de manifestaciones clínicas con diferentes grados de severidad. Existe, además, una estrecha correlación entre cada Hantavirus, el síndrome clínico que produce y su gravedad.

Desde la identificación del virus Hantaan en 1976, se pudo demostrar que existía una relación entre los Hantavirus y diferentes cuadros clínicos descritos en numerosos países del mundo^{11,14}. Como consecuencia de ello, y tratando de englobar todas estas enfermedades bajo una denominación común, en 1982 se propuso designarlas con el término de "fiebres hemorrágicas con síndrome renal" (FHSR)^{94,103}.

Aunque la denominación de FHSR ha sido generalmente aceptada para referirse a este grupo de enfermedades, actualmente está demostrado que las manifestaciones hemorrágicas y renales pueden estar ausentes, y aparecer otras no consideradas entre las formas de presentación características: un elevado porcentaje de pacientes con FHC (virus Hantaan) no presentan fenómenos hemorrágicos, y aunque la denominación clínica de la infección por el virus Puumala es "nefropatía epidémica", existen casos sin afectación renal¹⁵². En la infección por el virus Seoul las manifestaciones hepáticas suelen ser incluso más frecuentes que las renales.

Por otra parte, la infección por Hantavirus descrita en pacientes americanos, fue denominada "síndrome pulmonar por Hantavirus"¹⁵³ por cursar de forma característica con afectación respiratoria. En relación con las enfermedades causadas por el resto de Hantavirus, además de las alteraciones respiratorias, este cuadro presenta otras diferencias notables, como son la ausencia de alteraciones hemorrágicas y la mínima o nula afectación renal. Al margen de estas diferencias, las manifestaciones respiratorias que inicialmente se consideraron casi exclusivas de los pacientes norteamericanos, se habían comunicado previamente, y se han confirmado con posterioridad, en las infecciones causadas por otros Hantavirus.

Por todo lo descrito anteriormente, es evidente que en el momento actual el término fiebre hemorrágica con síndrome renal no es adecuado para definir este, cada vez más amplio, grupo de enfermedades¹⁵⁴. La denominación FHSR, ni incluye todos los posibles cuadros causados por Hantavirus, ni define correctamente aquellos que fueron inicialmente agrupados bajo ese término.

Fiebre hemorrágica de Corea

Bajo esta denominación se pueden incluir todos los cuadros clínicos que evolucionan de forma severa y que están causadas por distintos Hantavirus, antigénicamente indistinguibles del virus Hantaan. La FHC se ha observado además de en la propia Corea, en China, Japón, Rusia oriental, antigua Yugoslavia y en Grecia. A pesar de la denominación (fiebre hemorrágica de Corea), y con independencia de la localización geográfica, el cuadro clínico es muy similar en todas ellas.

El período de incubación es muy variable, y oscila habitualmente entre dos y tres semanas. La infección se caracteriza por su presentación aguda, con fiebre repentina que se acompaña de escalofríos, inyección conjuntival, postración, anorexia, vómitos, dolor abdominal, manifestaciones hemorrágicas, proteinuria e hipotensión. La insuficiencia renal que varía en su intensidad, de moderada a severa, es característica de la fase aguda y puede persistir durante varias semanas.

En general es una enfermedad con un pronóstico grave, y las cifras de mortalidad oscilan entre el 3 y el 15%, según el país^{100,130,155}, aunque en general, la mortalidad ha disminuido gracias a un diagnóstico más rápido y a la instauración precoz del tratamiento. Concretamente, en Corea, desde la década de los sesenta hasta la actualidad, las cifras de mortalidad han descendido prácticamente a la tercera parte⁴. Las causas de muerte más frecuentes son: shock cardiovascular, edema y hemorragias pulmonares, y accidentes cerebro-vasculares¹⁵⁶. En la actualidad, en los pacientes que superan la enfermedad, las complicaciones residuales durante la recuperación son raras.

La FHC, de acuerdo a sus características clínicas y fisiopatológicas, se ha dividido clásicamente en cinco fases evolutivas: febril, hipotensiva, oligúrica, diurética y de convalecencia. Sin embargo, estas fases claramente diferenciadas solamente aparecen en aproximadamente un tercio de los pacientes, y en el resto suelen solaparse. Entre el 20% y el 30% de los enfermos presenta un curso severo con shock cardiovascular y fenómenos hemorrágicos graves, a los que se añaden un importante desequilibrio electrolítico, fallo renal y edema pulmonar. Un porcentaje de enfermos, con FHC, que oscila entre el 30% y el 40% presenta cuadros leves con una evolución favorable. En el resto de los pacientes el curso de la enfermedad es moderado.

Ciñéndonos al esquema clásico, la primera fase evolutiva (febril) tiene una duración que varía entre tres y siete días. Comienza de forma abrupta, con fiebre de 40 °C y escalofríos, malestar general, debilidad y mialgias generalizadas. A este cuadro inicial se añaden posteriormente otros síntomas, como anorexia severa, vértigos, cefalea y dolor ocular. El paciente presenta también, con relativa frecuencia, dolor abdominal intenso, dolor de espalda y en el área renal. En la exploración puede apreciarse enrojecimiento de cara, cuello y parte anterior del tórax. Hacia el final de la fase febril, aparecen los primeros fenómenos hemorrágicos que inicialmente se presentan como hemorragias conjuntivales y discretas petequias que suelen localizarse en pliegues axilares, cara, cuello, paladar blando y región anterior del tórax.

Algunos signos clínicos de esta fase inicial pueden predecir la severidad de la enfermedad¹⁵⁷. Entre estos signos de mal pronóstico se incluyen: el grado de enrojecimiento facial, la elevación y duración de la fiebre, las hemorragias conjuntivales, y el número de petequias, así como su presencia o no en la cara.

La fase hipotensiva aparece también bruscamente y puede durar desde unas pocas horas, hasta dos días. En la exploración física se puede observar taquicardia, hipotensión, piel húmeda y fría, disminución de la conciencia, e incluso confusión. Las hemorragias capilares son el signo clínico más destacable en esta fase. En los casos leves, la presión sanguínea vuelve a la normalidad varias horas después, pero en las formas severas la hipotensión conduce a un estado de shock cardiovascular. En los casos moderados, si el tratamiento es precoz y efectivo, la recuperación ocurre entre uno y tres días después de la aparición de la hipotensión.

Los datos de laboratorio de la fase hipotensiva evidencian una importante proteinuria, acompañada de una discreta hematuria, y de una disminución de la densidad de la orina. Al final de este periodo puede aparecer oliguria, y se produce una elevación de la urea y de la creatinina sérica.

La fase oligúrica tiene una duración de tres a siete días. En este momento evolutivo, la presión sanguínea comienza a normalizarse, pero en un porcentaje muy importante de los pacientes (más del 60%) se presenta una hipertensión causada por hipervolemia. Asociados a la oliguria aparecen náuseas y vómitos. El enrojecimiento facial y las petequias comienzan a remitir, pero los fenómenos hemorrágicos sistémicos son más evidentes, y un tercio de los enfermos pueden presentar epistaxis, hemorragias cerebrales, conjuntivales, digestivas, e incluso una púrpura extensa. En los casos severos pueden aparecer otras complicaciones como edema pulmonar o alteraciones del sistema nervioso central. Aproximadamente el 50% de los fallecimientos ocurren en esta fase.

Al comenzar la fase diurética, que dura de días a semanas, se inicia la recuperación clínica, pero la diuresis puede tardar en restablecerse debido a la deshidratación, al desequilibrio hidroelectrolítico o a infecciones secundarias. La diuresis oscila entre 3 y 6 litros diarios. La severidad de la enfermedad determina, en gran medida, la duración de la fase diurética, así como el volumen diario de orina.

La duración de la fase de convalecencia suele variar entre dos y tres meses. Aunque la recuperación total es la norma en los pacientes que superan la enfermedad, en algunos casos puede persistir una anemia moderada. Durante esta fase se produce una restauración progresiva del flujo sanguíneo renal, de la filtración glomerular y de la concentración urinaria. Alrededor del 70% de los casos experimentan una recuperación total al cabo de aproximadamente seis meses.

Infección por el virus Seoul

Los casos de infección por Hantavirus que han sido detectados en entornos urbanos de Corea, Japón y otros países del Sureste asiático, y las infecciones transmitidas a partir de animales de laboratorio descritas en diversas partes del mundo, están causadas por el virus Seoul^{75,97,158,159,160,161}. Las infecciones por este virus están relacionadas con ratas (*R. norvegicus* y *R. rattus*) y roedores de laboratorio.

En relación con la FHC, la infección por el virus Seoul presenta características similares, aunque con algunas diferencias importantes. En la enfermedad causada por este Hantavirus las manifestaciones hemorrágicas son mínimas y las alteraciones hepáticas pueden ser incluso más frecuentes que las renales; y es, probablemente, la frecuencia de aparición de alteraciones de la función hepática¹⁶², la manifestación clínica más relevante en que difieren ambas entidades. En países como Hong Kong y Malasia se han diagnosticado hepatitis por Hantavirus¹⁰⁰, incluso en países donde se desconocía la existencia de Hantavirus, se han observado casos de hepatitis causadas por el virus Seoul. Algunos autores¹⁵⁷ sugieren que, con independencia de la región geográfica, en aquellos pacientes en los que no se pueda demostrar ninguna otra etiología, este virus debería ser valorado como posible causa de hepatitis.

Por lo que se refiere al pronóstico y evolución de esta infección, aunque algunos de los casos pueden ser severos, la mayoría de ellos cursan de forma más leve que la FHC, y las cinco fases características descritas para esta enfermedad, en este caso son más cortas e incluso difíciles de reconocer⁴.

Los signos y síntomas clínicos de la infección por el virus Seoul incluyen: fiebre alta, astenia, anorexia, petequias en paladar blando, hepatomegalia con elevación de las enzimas hepáticas, linfocitosis, trombocitopenia, proteinuria, hematuria microscópica y glucosuria transitoria. En conjunto, las manifestaciones más representativas son la hepatomegalia y las disfunciones hepática y renal, que en este caso suele ser leve^{163,164}. Su mortalidad se estima entorno al 1%³⁷, pero en algunas circunstancias puede alcanzar hasta el 5%¹⁶⁵.

Nefropatía epidémica

Dentro de los cuadros incluidos inicialmente dentro de las FHSR, la NE, causada por el virus Puumala, es el más leve y, por tanto, el de mayor dificultad diagnóstica. Las manifestaciones renales predominan claramente sobre las hemorrágicas^{166,167}, y la mortalidad es baja (0,2%)¹⁶⁸, pero salvo estas excepciones, presentan una gran similitud clínica con las infecciones causadas por otros Hantavirus. Las cinco fases de la enfermedad no se distinguen habitualmente, ya que cerca del 90% de los casos son leves o moderados. La recuperación del paciente es la norma, y el fallecimiento es excepcional¹⁶⁸.

Sin embargo, a pesar de esta teórica benignidad, se ha descrito recientemente en Alemania¹⁶⁹ y en Finlandia¹³⁶ la aparición de algunas formas especialmente severas. En todas las formas graves de infección por el virus Puumala que se han comunicado en los últimos tiempos, el hecho más característico ha sido la presencia de CID^{117,136,169}.

De forma característica, la infección por el virus Puumala suele comenzar con fiebre elevada que se mantiene durante un período de tres a cinco días, y que se acompaña de cefalea, dolor de espalda y abdominal¹¹⁷, y en algunos casos de náuseas y vómitos. Es una enfermedad aguda que se caracteriza por la presencia de hipercreatinemia, proteinuria, hematuria microscópica y poliuria^{133,166,170,171}.

Las manifestaciones renales que son el hecho clínico más característico de esta entidad, indican la existencia de una nefritis tubular e intersticial aguda, e incluyen: proteinuria transitoria, hematuria microscópica, azotemia y oliguria seguida de poliuria¹³³. En más del 95% de los pacientes se demuestra proteinuria y aumento de la creatinina sérica^{166,170,171}, si bien son transitorias y sólo en un pequeño porcentaje (entre el 3% y el 9%), cursan de forma severa y requieren la aplicación de técnicas de depuración extrarrenal¹³³.

Por lo que respecta a las alteraciones hemorrágicas, aunque reconocidas como poco comunes¹⁶⁷, cuando se investigan en estudios prospectivos, se demuestran, con grados de severidad variable, hasta en un 37% de los casos¹⁶⁶.

Al margen de las alteraciones renales y hemorrágicas, características de las infecciones por Hantavirus, y a diferencia de la FHC, en la NE pueden aparecer otras manifestaciones clínicas^{117,170,172}. Las manifestaciones respiratorias aparecen en un 16% de los enfermos. Entre un 34% y un 46% de los pacientes con infección por el virus Puumala presenta algún tipo de alteración de la función hepática. En algunos casos aislados de NE puede observarse sintomatología neurológica e incluso cardíaca.

Recientemente, se han comunicado en Alemania formas atípicas de infección por el virus Puumala: han aparecido varios casos de enfermedad con manifestaciones exclusivamente pulmonares; en estos pacientes el virus solamente fue detectable mediante RT-PCR^{107,173}. Previamente se había comunicado también, la existencia de casos aislados en los que la afectación era exclusivamente hepática, neurológica o cardíaca^{170,172}.

Infección por virus Dobrava-Belgrado

El virus Dobrava-Belgrado fue descrito inicialmente en la antigua Yugoslavia, pero en la actualidad ya se ha confirmado su existencia en otros dos países: Grecia y Albania¹¹⁴. La enfermedad causada por este virus es, de todas las infecciones por Hantavirus, la que demuestra una mayor similitud con la FHC. Los cuadros clínicos causados por el virus Dobrava-Belgrado son tan severos como los provocados por el virus Hantaan, y presentan igualmente una elevada mortalidad, que en algunos casos puede ser superior al 10%²¹. Los pacientes que fallecen, lo suelen hacer entre la tercera y la cuarta semana tras el inicio de la enfermedad, mientras que en la FHC, este hecho ocurre de forma más precoz. En la infección por el virus Dobrava-Belgrado la muerte se produce habitualmente por shock cardiovascular, edema pulmonar o hemorragia grave (gastrointestinal o intracraneal).

La diferencia clínica más importante entre estas dos formas severas de infección por Hantavirus, es el tipo de hemorragia que en el caso del virus Hantaan es de predominio subcutáneo, mientras que con el virus Dobrava-Belgrado los fenómenos hemorrágicos tienden a localizarse en órganos internos²¹. Desde el punto de vista del laboratorio, los datos analíticos más habituales son acidosis metabólica, aumento de creatinina y urea en sangre, hemoconcentración, trombopenia, signos de CID e incremento de transaminasas²¹.

Síndrome pulmonar por Hantavirus

La aparición del SPH, además de ser un hecho peculiar dentro de las infecciones por Hantavirus, ha supuesto, por múltiples razones, una circunstancia realmente trascendente en la historia de las enfermedades infecciosas, que puede servir de ejemplo para futuras situaciones. En U.S.A. se conocía la existencia de Hantavirus y se habían investigado las infecciones por este grupo de virus, tanto desde el punto de vista epidemiológico como clínico, no habiéndose conseguido demostrar la existencia de enfermedad humana. Sin embargo, de forma brusca, aparece una epidemia de una grave, y aparentemente nueva enfermedad, que cursa con una gran mortalidad y que está causada por un conjunto de Hantavirus que no habían sido previamente detectados.

En los meses de mayo y junio de 1993³⁶, en una zona muy localizada de USA, conocida como "four corners" por incluir parte del territorio de cuatro estados (Nuevo México, Arizona, Utah y Colorado)^{174,175}, apareció un brote epidémico de una severa enfermedad respiratoria. El reconocimiento de esta nueva y grave enfermedad, pero fundamentalmente la agrupación de casos en un brote epidémico, provocó la alerta de los servicios de salud norteamericanos, y como consecuencia de ello se consiguieron detectar otros casos clínicos en zonas alejadas del foco inicial del brote, como en los estados de Louisiana¹⁷⁶ o New York^{58,177}; en la actualidad, ya se ha reconocido la existencia de esta enfermedad en prácticamente la mitad de los estados de U.S.A.. El estado de alerta de la comunidad científica norteamericana se transmitió a otras regiones, y gracias a ello, se diagnosticaron posteriormente enfermos con SPH en otros países del continente americano como Argentina⁶³, Bolivia¹²⁷, Paraguay¹⁷⁸ y Canadá¹²⁵, incluso en otros continentes^{107,173}.

Tras la aparición del brote epidémico se demostró, mediante estudios retrospectivos, que al menos quince años antes (desde 1978), algunos pacientes presentaron cuadros con manifestaciones clínicas compatibles con el SPH^{179,180}. Por otra parte, también se demostró que alguno de los Hantavirus responsables de esta enfermedad ya existían antes de la aparición del brote epidémico¹⁸¹.

Al margen de estas evidencias científicas, existen otras que confirman la existencia previa de esta "nueva enfermedad hantaviral". La historia oral de los curanderos indios americanos (el grupo de población al que afectó inicialmente la epidemia) describe agrupaciones de muertes ocurridas en enfermos que presentaron manifestaciones clínicas de características muy similares al SPH. Estas muertes, de acuerdo a dicha tradición oral, aparecieron en tres ciclos diferentes de este siglo y en ellas se pueden identificar marcadores ecológicos comunes con el SPH¹⁷⁴.

El virus responsable de brote epidémico fue denominado inicialmente Four Corners¹⁸², posteriormente Canyon Muerto, y en la actualidad virus Sin Nombre¹²⁸. En otras regiones de U.S.A. se han reconocido tres nuevos Hantavirus relacionados con el SPH, los virus Bayou^{56,183}, Black Creek Canal^{54,93} y New York⁵⁷. En Sudamérica se han identificado el virus Andes⁶³ como el agente causal de los casos de SPH aparecidos en Argentina, y más recientemente, en Paraguay¹⁷⁸, un nuevo Hantavirus que carece todavía de denominación. En Argentina, de forma similar a U.S.A., se ha demostrado recientemente la existencia de infección humana por Hantavirus, diez años antes de la aparición de los primeros caso de SPH en este país¹⁸⁴.

A diferencia de otras infecciones por Hantavirus en las que las manifestaciones características son renales o hemorrágicas, el SPH provoca una neumonitis aguda con una alta mortalidad¹²⁸. Clínicamente cursa como un "distress respiratorio del adulto" muy severo¹⁸⁵, en el que las formas leves o moderadas son raras¹⁸⁶. A pesar de estas diferencias con el resto de infecciones causadas por Hantavirus, existen algunos signos y síntomas comunes con ellas¹⁰², como son: fiebre, mialgias, trombocitopenia, neutrofilia, aumento de la permeabilidad capilar, hipotensión y disminución del volumen cardiaco; además del shock que en el caso del SPH es especialmente frecuente.

El SPH comienza característicamente como un cuadro febril que se acompaña de mialgias, dolor de cabeza, tos, náuseas y vómitos. Las mialgias son el síntoma inicial más común. La respiración entrecortada, la tos (seca o productiva), y los síntomas gastrointestinales (dolor abdominal, náuseas y vómitos), le siguen en frecuencia. A excepción de una discreta microhematuria, no existen otros signos de hemorragia detectables clínicamente, aunque los estudios anatomopatológicos realizados en algunos pacientes revelan pequeños acúmulos de hemorragias gastrointestinales¹⁵³.

En la exploración, al inicio de la enfermedad, los signos físicos más habituales son taquipnea y taquicardia. Algunos pacientes presentan esplenomegalia, aunque no linfadenopatías¹⁵³. Entre los datos hematológicos, destaca la existencia de una trombocitopenia, junto a un aumento del número de neutrófilos, con precursores mieloides y linfocitos atípicos. El hematocrito suele encontrarse elevado, así como el tiempo de tromboplastina. Es frecuente la aparición de acidosis metabólica, y una mínima alteración de la función renal (con proteinuria y microhematuria), si bien los niveles de creatinina no superan los 2,5 mg/dl^{153,187}.

La exploración radiológica demuestra la presencia de infiltrados pulmonares intersticiales bilaterales¹⁸⁸, solos o acompañados de infiltrados alveolares¹⁸⁹. Rápidamente se desarrollan infiltrados bilaterales difusos que implican a ambos lóbulos inferiores. Además es frecuente la aparición de derrame pleural.

En muy poco tiempo, habitualmente a las 24 horas del ingreso, los pacientes desarrollan un edema pulmonar progresivo, con hipoxia e hipotensión severa, cuadro que frecuentemente conduce a bradicardia sinusal, taquicardia ventricular o fibrilación. El importante deterioro respiratorio está directamente causado por la aparición del edema, consecuencia a su vez de un aumento de la permeabilidad vascular¹⁹⁰. Acompañando a las alteraciones respiratorias, también existe una grave afectación hemodinámica, de hecho, este cuadro ha sido definido como una forma atípica de shock séptico causado por hipovolemia y depresión miocárdica¹⁹⁰.

La mortalidad del SPH es muy elevada, y oscila entre el 40% y el 70% según las diferentes series publicadas^{102,140,191,192}, pero los enfermos que sobreviven curan sin secuelas. La eficacia del tratamiento, y por tanto el pronóstico, depende fundamentalmente de la rapidez de instauración de los cuidados intensivos de soporte¹²⁸. Se consideran predictores de mortalidad las elevaciones del hematocrito, del tiempo parcial de tromboplastina, del recuento de glóbulos blancos y del nivel de lactato deshidrogenasa. Los pacientes que fallecen, lo hacen habitualmente al cabo de siete días (de 2 a 16) y la causa habitual del

fallecimiento es el shock (séptico e hipovolémico)^{128,140}.

Quizás el hecho más llamativo del SPH, en relación con otras infecciones por Hantavirus, sea la focalización de la patología en el aparato respiratorio; de hecho, se ha intentado poner de manifiesto una posible relación entre esta entidad y algunos casos de neumonía adquirida en la comunidad¹⁹³. A pesar de este posible aspecto novedoso, la afectación respiratoria no es exclusiva del SPH, ya que en la infección por el virus Puumala es relativamente frecuente: en algunos enfermos con NE se observa la aparición de síntomas respiratorios no específicos, tos no productiva y auscultación anormal. Recientemente se han comunicado algunos casos de infección por el virus Puumala con afectación exclusivamente respiratoria^{107,173}, incluso se ha descrito un caso grave con "distress respiratorio del adulto" y CID¹¹⁷.

Otras manifestaciones clínicas por Hantavirus

En términos generales, se considera que los enfermos con infección por Hantavirus que superan la enfermedad, curan sin secuelas. A pesar de ello, en los países donde este grupo de enfermedades son endémicas, se han descrito diferentes series de enfermos en las que un porcentaje variable de los pacientes que presentaron una infección por Hantavirus, desarrollaban diversos tipos de alteraciones renales, fundamentalmente insuficiencia renal crónica¹⁷¹ e hipertensión arterial^{194,195}. Por otra parte, al realizar estudios de seroprevalencia, se ha observado que las cifras encontradas en población sana y en enfermos renales presentan diferencias significativas¹⁹⁶. Estos hechos sugieren que algunas infecciones por Hantavirus podrían cursar de forma subclínica, ocasionando lesiones residuales cuya consecuencia a largo plazo sería la aparición de enfermedad renal hipertensiva^{197,198}. En aquellos casos en los que la lesión renal aparece como secuela de un proceso clínico previamente diagnosticado, existe habitualmente una relación etiológica con serotipos antigénicamente emparentados con los virus Puumala y Hantaan; por el contrario, cuando la enfermedad renal hipertensiva es un hallazgo aislado, sin evidencia de una infección clínica previa, se suele asociar a cepas relacionadas con el virus Seoul. Otra circunstancia que también se ha observado, es que el desarrollo de un proceso renal crónico es independiente de la severidad con la que cursa la enfermedad aguda¹⁹⁸. En el Reino Unido, se han descrito varios casos de una enfermedad aguda causada por Hantavirus, con manifestaciones clínicas atípicas^{199,200,201,202,203}. En más de la mitad de los casos, el proceso comienza como un cuadro pseudogripal, que cursa con fiebre y cefalea. Los casos más severos presentan dolor de garganta al inicio de la enfermedad, y posteriormente, enrojecimiento de cara, cuello y extremidades, artropatía y malestar general. En estos enfermos es característica la presencia de artritis aguda, exantema maculoerimatoso, linfadenopatías cervicales e inguinales, y hepatoesplenomegalia. La función renal es normal, pero las pruebas hepáticas están alteradas en un 62% de los casos. Pueden aparecer microhematuria y sangre en heces, y en los casos más graves existe tendencia a la hemorragia en fases avanzadas de la enfermedad. Los casos moderados presentan una sintomatología florida y variada, lo que dificulta agruparlos dentro de un síndrome común¹⁶⁵. La mayoría de los enfermos no requieren hospitalización. No se ha documentado ningún fallecimiento, y sólo en los casos más severos el malestar, las artropatías y la fiebre pueden prolongarse durante más de dos o tres semanas.

Diagnóstico

En prácticamente la mitad de los pacientes con infección por Hantavirus, el curso de la enfermedad es moderado, y el cuadro clínico característico y completo, con las cinco fases descritas para la FHC plenamente diferenciables, sólo se aprecia en el 20% de los casos severos. Aproximadamente un 30% de los enfermos presenta cuadros leves, sin evidencias de fenómenos hemorrágicos o proteinuria, por lo que el diagnóstico de las formas leves de infección por Hantavirus, basado exclusivamente en las manifestaciones clínicas, es realmente difícil. Por otra parte, estudios realizados en Corea, en más de tres mil casos con sospecha clínica de FHC, demostraron que en sólo un 50% de los pacientes se puede confirmar serológicamente el diagnóstico²⁰⁴.

A estas dificultades diagnósticas se suman las peculiaridades clínicas de la infección por cada uno de estos virus. Los enfermos infectados por el virus Seoul, como consecuencia de la frecuencia con la que se presentan en ellos las alteraciones de la función hepática, son habitualmente diagnosticados de hepatitis¹²⁹; en otras ocasiones el diagnóstico puede ser el de gripe⁴. En la infección por el virus Puumala, tal y como indican los estudios de seroprevalencia¹³³, la gran mayoría de casos pasan desapercibidos o son mal diagnosticados¹⁷⁰. En U.S.A., donde se desconocía la enfermedad humana por Hantavirus, los casos clínicos se presentan con manifestaciones radicalmente distintas a las descritas previamente para estos virus³³, y en otros países, donde estas enfermedades son endémicas, se han comunicado formas clínicas atípicas^{33,151,170,204,205,206,207}.

Este amplio espectro de posibilidades obliga a aplicar diferentes técnicas que permitan obtener un diagnóstico etiológico, bien mediante el aislamiento del virus, la detección de alguno de sus componentes o de la presencia de anticuerpos específicos.

Aislamiento del virus

Las líneas celulares que se emplean habitualmente para el cultivo y aislamiento de los distintos Hantavirus son las células Vero E6 o las A 549, aunque también se ha conseguido recuperar estos virus en líneas linfoides B95 y LYM-1²⁰⁸, incluso en células de pulmón de rata y riñones de hamster⁴. A pesar de la posibilidad de aislar Hantavirus en medios celulares, su dificultad de crecimiento y la carencia de efecto citopático, que dificulta el seguimiento del desarrollo vírico⁴, hace de este método una técnica lenta y de escasa rentabilidad diagnóstica. Por otra parte, este procedimiento suele requerir al menos tres o cuatro pases celulares, con una duración media de 15 días por pase a partir de la siembra inicial.

En algunas ocasiones, para incrementar el porcentaje de aislamientos, se recurre a inocular previamente las muestras clínicas en animales de experimentación, como ratones de zonas no endémicas, ratas u otros roedores. Mediante este procedimiento se consigue facilitar la posterior adaptación del virus al cultivo celular⁴.

Las muestras clínicas a partir de las cuales se han podido aislar distintas cepas víricas han sido: orina^{21,209,210}, heces⁹⁴, sangre entera y/o plasma^{7,21,211}, líquido cefalorraquídeo²¹¹, tejido cerebral²¹⁰, biopsia pulmonar, saliva^{7,94} y lavados brocoalveolares⁷. Para conseguir el aislamiento es necesario que las muestras hayan sido recogidas durante la primera semana a partir del inicio de la enfermedad. Igualmente se han podido aislar Hantavirus en muestras cerebrales y de otras piezas procedentes de necropsias²¹⁰.

Detección de antígenos

La detección de componentes víricos con actividad antigénica, mediante la aplicación de diferentes técnicas serológicas a muestras clínicas de pacientes, es otra de las posibilidades que se ha empleado en el diagnóstico de este grupo de enfermedades. En la detección de antígenos de Hantavirus se han utilizado, entre otros métodos serológicos, varios tipos de ELISA^{19,80,212,213}, el RIA y una prueba de aglutinación⁹⁴. Sin embargo, las técnicas más utilizadas son la inmunofluorescencia directa y las tinciones histoquímicas, aplicadas a cortes histológicos de muestras congeladas²¹⁴ o embebidas en parafina²¹⁵.

Microscopía electrónica

Aunque la microscopía electrónica no es una técnica empleada habitualmente en el diagnóstico clínico, ha sido utilizada, en algunas ocasiones, en las infecciones causadas por Hantavirus. Mediante este procedimiento se pueden detectar las partículas de los viriones en muestras clínicas procedentes de biopsias, e incluso en materiales de necropsia⁴¹. Empleando la microscopía electrónica, estos virus presentan una morfología esférica u oval, con un diámetro que oscila entre 100 y 120 nm, y una longitud de aproximadamente 175 nm.

Para la realización de la microscopía electrónica se han empleado dos modalidades técnicas diferentes: la tinción negativa que requiere una elevada concentración de virus en la muestra, y la de sección fina que ofrece una menor resolución²¹⁶.

Reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa

Las técnicas de detección de elementos genómicos, gracias a su elevada sensibilidad, han mejorado substancialmente el diagnóstico de numerosas enfermedades infecciosas, hecho que también se ha visto reflejado en las infecciones por Hantavirus. En este grupo de enfermedades se emplea la reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR), que es una modificación de la PCR convencional, y se utiliza para la detección de secuencias genómicas específicas de algunos virus RNA.

La RT-PCR consiste en la transcripción inversa del RNA vírico, seguida de una PCR convencional. Respecto a la PCR presenta una sensibilidad similar, aunque es una técnica más rápida. Se ha demostrado su utilidad para detectar las secuencias genómicas de los Hantavirus en muestras clínicas y en tejidos de necropsias de pacientes, aún cuando la concentración de virus sea baja^{217,218}. Es una técnica con una sensibilidad muy superior a la del cultivo celular, y además de su rapidez, ofrece la ventaja de poder diferenciar las distintas cepas víricas, gracias a su capacidad de identificar diferentes secuencias genómicas^{51,68}.

Diagnóstico serológico

A pesar de todas las posibilidades diagnósticas mencionadas anteriormente, las técnicas serológicas, por su mayor sencillez, son las más utilizadas en la práctica clínica. Aunque se han desarrollado numerosos métodos serológicos para detectar anticuerpos contra Hantaan y otros virus antigénicamente relacionados, por su gran sensibilidad, sencillez de realización y su capacidad de detectar anticuerpos grupo específicos, la inmunofluorescencia indirecta es la prueba más empleada.

Esta técnica fue desarrollada en 1976 por Lee y Lee²¹⁴, y actualmente se ha convertido en la prueba de referencia, tanto para el diagnóstico clínico, como para estudios seroepidemiológicos⁵⁰. En esta prueba se han utilizado como antígeno células Vero E6 previamente infectadas con diferentes serotipos de Hantavirus, o bien secciones pulmonares de ratones en los que se ha demostrado la existencia de estos virus¹⁵⁰.

La imagen característica de la inmunofluorescencia indirecta es un patrón puntiforme, de color amarillo-verdoso brillante, distribuido por el citoplasma de las células infectadas (Figura 8). Recientemente se ha tratado de relacionar el aspecto de esta imagen, granular o difusa, con la avidéz de la IgG, y determinar por tanto si un resultado positivo se corresponde con la existencia de una enfermedad aguda, o bien se trata de una respuesta de anticuerpos a una infección antigua⁴⁴.

En el diagnóstico de las infecciones por Hantavirus se han empleado también varios tipos de métodos inmunoenzimáticos (ELISA), tanto para detectar IgG como IgM^{219,220,221,222,223}. Generalmente se han utilizado como antígenos los virus enteros obtenidos a partir de cultivos celulares^{219,220,142}, pero en la actualidad se prefiere, por razones de seguridad, la utilización de la proteína de la nucleocápside^{208,222,224}.

Las diferentes modalidades de las técnicas inmunoenzimáticas poseen una rentabilidad similar a la inmunofluorescencia, salvo en el caso de la IgM, dónde la superan en sensibilidad y especificidad¹⁴². Sin embargo la inmunofluorescencia indirecta es más sensible en la detección precoz de IgG¹⁴³. La IgM, detectada por ELISA, es positiva desde el primer día del inicio de la enfermedad, y se mantiene durante dos meses, si bien en algunos casos puede perdurar incluso hasta 9 meses, aunque a títulos muy bajos¹⁴². Otra ventaja de las técnicas inmunoenzimáticas son la posibilidad de utilizar directamente antígenos de la nucleocápside, que son los más reactivos, eludiendo la problemática que implica el manejo de los virus en cultivo celular.

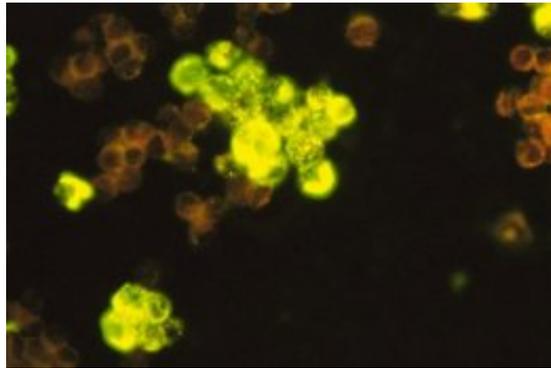


Figura 8. Inmunofluorescencia indirecta positiva.

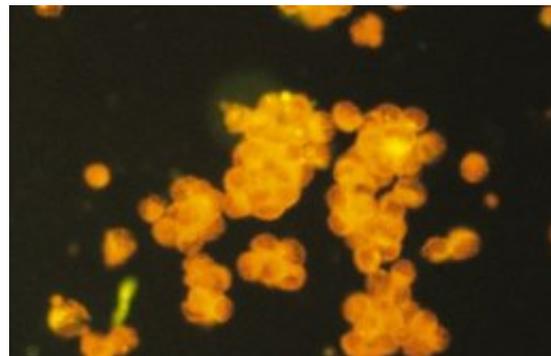


Figura 9. Inmunofluorescencia indirecta negativa.

Otra técnica diagnóstica empleada en estas infecciones es el radioinmunoensayo (RIA), y por los resultados serológicos, al igual que ocurre en otras enfermedades infecciosas, esta técnica ofrece una rentabilidad diagnóstica superponible a la de ELISA²²⁵, pero la utilización de material radiactivo, dificulta su manejo rutinario y la hace inaccesible a muchos laboratorios.

El "western-blott" es un método cuyo empleo se recomienda como prueba de confirmación, tras la realización de un ELISA o una IFI; su sensibilidad es similar a la de la IFI o a la del ELISA, pero la especificidad es superior^{226,227}. El antígeno empleado habitualmente con esta técnica es la proteína de la nucleocápside.

Otras técnicas que aunque no se emplean de forma rutinaria, tienen cierta utilidad en el diagnóstico de las infecciones causadas por Hantavirus, son la inhibición de la hemaglutinación y la reducción de la neutralización en placa. La inhibición de la hemaglutinación ofrece una sensibilidad similar a la inmunofluorescencia, pero la supera en especificidad y además permite diferenciar entre los diferentes Hantavirus. Gracias a esta última característica, esta prueba se ha propuesto como método diagnóstico de elección en áreas donde coexisten varios serotipos de Hantavirus^{94,228,229}.

La reducción de la neutralización en placa es la técnica serológica más específica de las desarrolladas hasta el momento para el diagnóstico de infección por Hantavirus. Sin embargo, su enorme laboriosidad y el gran tiempo requerido para su realización, limitan su uso en el ámbito del diagnóstico. Su verdadera utilidad radica, en la diferenciación de cepas víricas estrechamente relacionadas con el virus Hantaan^{50,70,94}. Esta prueba requiere un nivel de trabajo en bioseguridad tipo III, por lo que sólo un pequeño número de laboratorios pueden utilizarla, y siempre en el ámbito de la investigación.

Tratamiento

La ribavirina ha sido el fármaco antiviral más utilizado en las infecciones por Hantavirus, y se ha empleado en enfermos con FHSR en China y en pacientes americanos infectados con el virus Sin Nombre²³⁰. Este fármaco, aún sin obtener resultados concluyentes, parece reducir la mortalidad en algunas enfermedades causadas por Hantavirus³⁷, y algunos autores lo recomiendan en estadios tempranos de los casos severos de FHSR y SPH¹³⁶. A pesar de todo, su eficacia no se encuentra claramente contrastada, por lo que actualmente se considera que no existe ningún tratamiento específico suficientemente probado para las infecciones por Hantavirus^{70,231,232}.

Las medidas de soporte son, por el momento, los elementos fundamentales de la terapia, sobre todo en las formas severas, por lo que un diagnóstico precoz y un buen conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad, son necesarios para el manejo de estos pacientes, y para conseguir evitar las complicaciones potencialmente mortales¹³⁶. Las formas leves, como la NE, suelen evolucionar a la curación sin requerir habitualmente tratamiento específico.

Prevención

En áreas urbanas, aunque en la práctica es impensable conseguir la eliminación de roedores, es fundamental realizar un buen control de sus poblaciones. Por ello, es muy importante que las autoridades sanitarias locales coordinen campañas periódicas de desratización y vigilen por su cumplimiento.

Por lo que respecta al ambiente rural, todas las medidas encaminadas a la eliminación o al control de roedores son imposibles de practicar, por lo tanto, y dado que en este caso es muy difícil evitar el contacto entre el hombre y los roedores, es esencial reducirlo al mínimo. Para ello, es fundamental impedir el acceso de los roedores a las viviendas, evitando así el contacto con sus excretas.

Hantavirus en España

A pesar de la amplia difusión de los Hantavirus y de su creciente importancia en numerosos países del mundo, incluidos los de nuestro entorno, en España hasta hace poco tiempo no se había realizado ninguna investigación sobre estos virus y se carecía de todo tipo de información respecto a las enfermedades que producen.

Nuestro grupo comenzó a investigar este grupo de virus en 1993, y en 1994 presentamos una comunicación sobre una posible infección por Hantavirus²³⁵. Se trataba de una mujer de 82 años con un cuadro febril pseudogripal, acompañado de dolor lumbar y vómitos, que posteriormente fue hospitalizada con un cuadro de hipotensión y shock. La enferma presentó manifestaciones hemorrágicas, fallo renal agudo, alteraciones hidroelectrolíticas y distress respiratorio, falleciendo por un bloqueo auriculoventricular. Mediante inmunofluorescencia indirecta se demostraron anticuerpos específicos frente a los virus Hantaan y Puumala, y no se encontró ninguna otra causa que pudiera ser la responsable de la enfermedad.

Posteriormente realizamos un estudio seroepidemiológico en la provincia de Soria, dónde se demostró por primera vez en España, la existencia de infección por Hantavirus en población general^{236,237,238}. En este trabajo se detectaron títulos de anticuerpos significativos frente a alguna de las tres especies de Hantavirus investigadas (Hantaan, Puumala y Seoul) en el 2,2% de la población, con una seroprevalencia del 1,75% para las mujeres y del 2,8% en el caso de los hombres. El mayor número de positivos se encontró entre 30 y 40 (4,1%), con un rango de edad para los positivos de 3 a 73 años. Las cifras encontradas en la provincia de Soria fueron similares a las comunicadas posteriormente por Rodríguez y Vaqué²³⁹ para la población de Cataluña (seroprevalencia del 2,3%). Tanto nuestros resultados^{236,237,240}, como los comunicados por Rodríguez y Vaqué^{239,241}, confirmaron en ese momento la existencia de Hantavirus en España, y en general, las cifras de prevalencia son comparables a las de otros países como Bélgica, Croacia o Italia, o a la estimada previamente por Lee y Van der Groen⁴ para la población europea (2,1%). Al margen de estos estudios, en un trabajo en el que se estudió la infección por Hantavirus en especialistas europeos en mamíferos²⁴², se detectaron 17 seropositivos de 155 estudiados, y al menos uno era español.

Un aspecto especialmente interesante del estudio realizado en la provincia de Soria, es la información obtenida de la infección por el virus Seoul. Aunque la existencia en Europa de infecciones de laboratorio causadas por este virus está bien documentada, la información en otros entornos epidemiológicos es limitada. En Irlanda⁹⁵ se demostraron anticuerpos frente a este virus en un amplio grupo de pacientes, y en Bosnia⁹⁶ se comunicó el caso de un paciente con un fallo renal agudo, contacto con ratas y anticuerpos frente a Seoul, pero en otros países como Italia²⁴³, dónde ha sido investigado, los resultados han sido negativos. En la provincia de Soria²⁴⁴ se demostró la existencia de infección por el virus Seoul en la población general, aunque con una cifra de prevalencia (0,7%) sensiblemente inferior a la encontrada frente a los virus Puumala y Hantaan (2% y 1,7%, respectivamente)²⁴⁰.

Tras este primer estudio epidemiológico, hemos realizado otros en diferentes regiones, intentando obtener una imagen aproximada de la situación global en nuestro país. En el momento actual, hemos finalizado estudios de seroprevalencia con cifras plenamente confirmadas, además de en la provincia de Soria, en las de Guadalajara²⁴⁵ y Madrid²⁴⁶; y aunque los resultados son todavía preliminares, también hemos estudiado la situación en otras provincias: La Coruña, Asturias, Vizcaya, Navarra, Zaragoza, Valencia, Cáceres, Baleares y en la mayor parte de las provincias andaluzas²⁴⁷. Los resultados obtenidos en las diferentes poblaciones, confirman la existencia de infección por Hantavirus en prácticamente la totalidad de las estudiadas. Las cifras de seroprevalencia, aunque algunas de ellas provisionales, oscilan entre el 0% de Sevilla y Baleares, y el 5% de Huelva (Figura 10). Se ha demostrado que la infección por estos virus está presente en España, tanto en población básicamente rural^{237,240,245}, como en grupos exclusivamente urbanos²⁴⁶.

demonstraron reactividad frente a los virus Hantaan y Seoul, con Ig M positiva para ambos virus.

El SPH, aparecido en Norteamérica, ha llamado la atención sobre la posible participación de los Hantavirus en otros procesos respiratorios. En la infección por el virus Puumala pueden aparecer cuadros clínicos con afectación exclusivamente respiratoria^{107,173}. En U.S.A. se ha investigado el posible papel de estos virus en la etiología de la neumonía adquirida en la comunidad¹⁹³. Nuestro grupo investigó esta posibilidad en un grupo de pacientes con neumonía adquirida en la comunidad, en los que se carecía de un diagnóstico etiológico²³⁷. En el estudio se encontraron dos enfermos con anticuerpos frente a Hantavirus, y los sueros pareados de ambos pacientes fueron especialmente reactivos frente el virus Seoul, con IgM positiva para este virus.

Con el fin de identificar los posibles serotipos de Hantavirus circulantes en nuestro país, realizamos un análisis inicial de los patrones serológicos encontrados en diferentes grupos de población humana y en roedores salvajes²⁵⁶ (Figura 11).

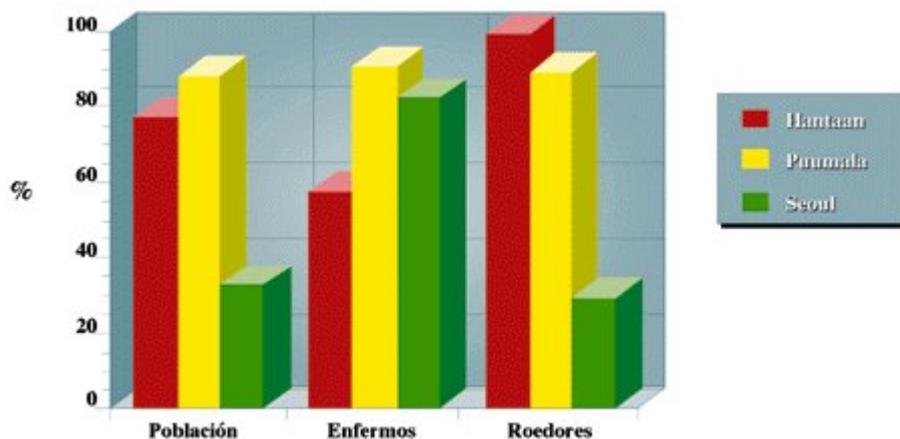


Figura 11.

Patrones serológicos encontrados en diferentes grupos de población humana, y en roedores salvajes.

De los resultados obtenidos, tanto en humanos como en roedores, parece deducirse la existencia de al menos dos serotipos diferentes de Hantavirus. Una de las cepas sería muy próxima, antigénicamente, al virus Seoul, y de acuerdo a la respuesta de los sueros de enfermos frente a este virus, podría estar relacionada con la etiología de sus procesos. Los patrones serológicos mostrados por los roedores y por los individuos de población general, junto a la ausencia de antecedentes clínicos de interés en las personas positivas de este grupo, sugieren la existencia de una cepa (o varias) con escasa virulencia. La población podría tener contactos esporádicos con estos virus, y el resultado de estas infecciones serían, probablemente, cuadros clínicos inaparentes o bien la total ausencia de manifestaciones clínicas. Los resultados que hemos obtenido en los últimos estudios de seroprevalencia realizados en diferentes poblaciones humanas, nos confirman que, en términos generales, estas apreciaciones iniciales eran correctas, y demuestran que el serotipo frente al que se aprecia una mayor reactividad en España es el virus Puumala.

A pesar de las evidencias de la existencia de estos virus en nuestro país, existen aún muchas lagunas en su conocimiento. Aunque se han identificado diferentes roedores infectados por Hantavirus, desconocemos que especie o especies actúan realmente como reservorios. La información obtenida de los estudios serológicos, solamente es una aproximación a la identificación de los Hantavirus circulantes en España, ya que no se ha conseguido aislar ninguna cepa. Por lo que respecta a las manifestaciones clínicas, el conocimiento disponible hasta el momento es muy escaso. La importancia clínica y epidemiológica de este grupo de enfermedades, y su presencia confirmada en amplias regiones del mundo, y especialmente en los países de nuestra área geográfica, hacen necesario solucionar la carencia de información existente en España^{238,240}.

Bibliografija

- 1 Schmaljohn C, Hjelle B. Hantaviruses: a global disease problem. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 95-104.
- 2 Yanagihara R, Gajdusek DC. Hemorrhagic fever with renal syndrome: a historical perspective and review of recent advances. En: Gear JHS (ed), *Handbook of viral and rickettsial hemorrhagic fevers*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 1988; pág 155-181.
- 3 Lee HW. Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). History of Hantaan virus and epidemiological features. *Scand J Infect Dis* 1982; Suppl 36: 82-5.
- 4 Lee HW, Van der Groen G. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Prog Med Virol* 1989; 36: 62-102.
- 5 Lee HW, Lee WR. New epidemiologic findings of hemorrhagic fever with renal syndrome in Korea. *J Korean Soc Virol* 1988; 18: 67-75.
- 6 Myhrman G. Nephropathia epidemica, a new infectious disease in northern Scandinavia. *Acta Med Scand* 1951; 140: 52-56.
- 7 Gajdusek DC. Muroid Virus nephropathies and muroid viruses of the Hantaan virus group. *Scand J Infect Dis* 1982; suppl 36: 96-108.
- 8 Gajdusek DC. Virus hemorrhagic fever. *J Pediatr* 1962; 60: 851-7.
- 9 Lee HW, Lee PW, Johnson KM. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1978; 137: 298-308.
- 10 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.
- 11 Lee PW, Gajdusek DC, Gibbs CJ, Xu ZY. Aetiological relation between Korean haemorrhagic fever with renal syndrome in people's Republic of China. *Lancet* 1980; 1: 819-20.
- 12 Svedmyr A, Lee HW, Berglund A, Hoorn B, Nyström K, Gajdusek DC. Epidemic nephropathy in Scandinavia is related to Korean haemorrhagic fever. *Lancet* 1979; 1: 100.
- 13 Svedmyr A, Lee PW, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr, Nyström K. Antigenic differentiation of the viruses causing Korean haemorrhagic fever and epidemic (endemic) nephropathy of Scandinavia. *Lancet* 1980; 2: 315-6.
- 14 Svedmyr A, Lee PW, Goldgaber D, Yanagihara R, Gajdusek DC, Gibbs CJ Jr, Nyström K. Antigenic differences between European and East Asian strains of HFRS virus. *Scand J Infect Dis* 1982; suppl 36: 86-7.
- 15 Niklasson B, Le Duc J. Isolation of the nephropathia epidemica agent in Sweden. *Lancet* 1984; 1: 1012-3.
- 16 Tkachenko EA, Bashkirtsev VN, Van der Groen G, Dzagurova TK, Ivanov AP, Ryltseva EV. Isolation in Vero-E6 cells of Hanta virus from *Clethrionomys glareolus* captured in the Bashkiria area of the U.S.S.R. *Ann Soc Belge Méd Trop* 1984; 64: 425-6.
- 17 Lee PW, Goldgaber D, Gibbs CJ Jr, et al. Other serotypes of haemorrhagic fever with renal syndrome viruses in Europe. *Lancet* 1982; 2: 1405-6.
- 18 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.
- 19 Avsic-Zupanc T, Cizman B, Gligic A, Hoofd G, Van der Groen G. Evidence for Hantavirus disease in Slovenia, Yugoslavia. *Acta Virol* 1989; 33: 327-37.
- 20 Avsic-Zupanc T, Xiao SY, Stojanovic R, Gligic A, Van der Groen G, LeDuc JW.

- Characterization of Dobrava virus: a Hantavirus from Slovenia, Yugoslavia. *J Med Virol* 1992; 38: 132-7.
- 21 Gligic A, Dimkovic N, Xiao SY, et al. Belgrade Virus: A new Hantavirus causing severe hemorrhagic fever with renal syndrome in Yugoslavia. *J Infect Dis* 1992; 166: 113-20.
- 22 Taller AM, Xiao SY, Godec MS, et al. Belgrade virus, a cause of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Balkans, is closely related to Dobrava virus of field mice. *J Infect Dis* 1993; 168: 750-3.
- 23 Gibbs CJ Jr, Takenaka A, Franko M, et al. Seroepidemiology of Hantaan virus. *Lancet* 1982; 2: 1406-7.
- 24 LeDuc JW, Smith GA, Pinheiro FP, Vasconcelos PFC, Rosa EST, Maiztegui JI. Isolation of a Hantaan-related virus from Brazilian rats and serologic evidence of its widespread distribution in South America. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 810-15.
- 25 Lee PW, Yanagihara R, Franko MC, Amyx HL, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC, Traub R. Preliminary evidence that Hantaan or a closely related virus is enzootic in domestic rodents. *N Engl J Med* 1982; 307: 624-5.
- 26 LeDuc JW, Smith GA, Johnson KM. Hantaan-like viruses from domestic rats captured in the United States. *Am J Trop Med Hyg* 1984; 33: 992-8.
- 27 Tsai TF, Bauer SP, Sasso DR, et al. Serological and virological evidence of a Hantaan virus-related enzootic in the United States. *J Infect Dis* 1985; 152: 126-36.
- 28 Lee PW, Amyx HL, Gajdusek DC, Yanagihara RT, Goldgaber D, Gibbs CJ Jr. New haemorrhagic fever with renal syndrome-related virus in indigenous wild rodents in United States. *Lancet* 1982; 2: 1405.
- 29 Lee PW, Amyx HL, Yanagihara R, Gajdusek DC, Goldgaber D, Gibbs CJ Jr. Partial characterization of Prospect Hill virus isolated from meadow voles in the United States. *J Infect Dis* 1985; 152: 826-9.
- 30 Childs JE, Glass GE, Korch GW, et al. Evidence of human infection with a rat-associated hantavirus in Baltimore, Maryland. *Am J Epidemiol* 1988; 127: 875-8.
- 31 Yanagihara R, Gajdusek DC, Gibbs CJ, Traub R. Prospect Hill virus: serological evidence for infection in mammalogists. *N Engl J Med* 1984; 310: 1325-6.
- 32 World Health Organization. Haemorrhagic fever with renal syndrome. Memorandum from WHO meeting. *Bull WHO* 1984; 61: 269-75.
- 33 CDC. Outbreak of acute illness-Southwestern United States, 1993. *MMWR* 1993; 42: 421-4.
- 34 Beebe JL. Emerging infections: Hantavirus disease outbreak. *Clin Microbiol New* 1994; 16: 73-6.
- 35 Bignall J. Hantaviruses: the rodents take revenge. *Lancet* 1995; 345: 1564.
- 36 Elliott LH, Ksiazek TG, Rollin PE, et al. Isolation of the causative agent of Hantavirus pulmonary syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 102-8.
- 37 Butler JC, Peters CJ. Hantaviruses and Hantavirus pulmonary syndrome. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 387-95.
- 38 Hjelle B, Chavez-Giles F, Torrez-Martinez N, Yates R, Sarisky J, Webb J, Ascher M. Genetic identification of a novel Hantavirus of the harvest mouse *Reithrodontomys megalotis*. *J Virol* 1994; 68: 6751-4.
- 39 Schmaljohn CS, Dalrymple JM. Hantaviruses. En: Webster RG, Granoff A (eds) *Encyclopedia of Virology II*. London, Academic Press, 1994; page 538-545.

- 40 Gonzalez-Scarano F, Nathanson N. Bunyaviruses. En: Fields BN et al (eds) *Virology*. New York: Raven Press, 1990; pág 1195-1228.
- 41 Hung T, Xia SM, Song G, Liao HX, Chao TX, Chou ZY, Hang CS. Viruses of classical and mild forms of haemorrhagic fever with renal syndrome isolated in China have similar Bunyavirus-like morphology. *Lancet* 1983; 1: 589-91.
- 42 Hung T, Chou ZY, Zhao TX, Xia SM, Hang CS. Morphology and morphogenesis of viruses of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) I. Some peculiar aspects of the morphogenesis of various strains of HFRS virus. *Intervirology* 1985; 23: 97-108.
- 43 Martin ML, Lindsey-Regnery H, Sasso DR, McCormick JB, Palmer E. Distinction between Bunyaviridae genera by surface structure and comparison with Hantaan virus using negative stain electron microscopy. *Arch Virol* 1985; 86: 17-28.
- 44 Vapalahti O, Kallio-Kokko H, Narvanen A, et al. Human B-cell epitopes of Puumala virus nucleocapsid protein, the major antigen in early serological response. *J Med Virol* 1995; 46: 293-303.
- 45 Hung T, Xia SM, Chou ZY, Son G, Yanagihara R. Morphology and morphogenesis of viruses of hemorrhagic fever with renal syndrome II. Inclusion bodies-Ultrastructural markers of Hantavirus-infected cells. *Intervirology* 1987; 27: 45-52.
- 46 Goldsmith CS, Elliot LH, Peters CJ, Zaki SR. Ultrastructural characteristics of SN virus, causative agent of Hantavirus pulmonary syndrome. *Arch Virol* 1995; 140: 2107-2122.
- 47 Ohsawa K, Watanabe Y, Sato H. Hantaan virus persistently infects marmoret B-lymphoblastoid cell line. *J Vet Sci* 1995; 57: 931-934.
- 48 Avsic-Zupanc T, Toney A, Anderson K, Chu YK, Schmaljohn C. Genetic and antigenic properties of Dobrava virus: a unique member of the Hantavirus genus, family Bunyaviridae. *J Gen Virol* 1995; 76: 2801-8.
- 49 Jenison S, Yamada T, Morris C, Anderson B, Torrez-Martinez N, Keller N, Hjelle B. Characterization of human antibody responses to Four Corners Hantavirus infection among patients with Hantavirus pulmonary syndrome. *J Virol* 1994; 68: 3000-6.
- 50 Lee PW, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC, Yanahirara R. Serotypic classification of Hantaviruses by indirect immunofluorescent antibody and plaque reduction neutralization test. *J Clin Microbiol* 1985; 22: 940-4.
- 51 Nichol ST, Spiropoulou CF, Morzunov S, et al. Genetic identification of a Hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness. *Science* 1993; 262: 914-7.
- 52 Ksiazek TG, Peters CJ, Rollin PE, et al. Identification of a new North American hantavirus that causes acute pulmonary insufficiency. *Am Trop Med Hyg* 1995; 52: 117-123.
- 53 Chizhikov VE, Spiropoulou CF, Morzurov SP, Monroe ML, Peters CJ, Nichol ST. Complete genetic characterization and analysis of isolation of Sin Nombre virus. *J Virol* 1995; 69: 8132-8136.
- 54 Raukov EV, Rollin, Ksiazek TG, Peters CJ, Nichol ST. Black Creeck Canal (BCC) virus is a newly identified virus associated with hantavirus pulmonary syndrome (HPS) in the southeastern United States. *Virology* 1995; 210: 482-9.
- 55 Rollin PE, Ksiazek TG, Elliot LH, et al. Isolation of Black Creek Canal virus, a new hantavirus from *Sigmodon hispidus* in Florida. *J Med Virol* 1995; 46: 35-39.
- 56 Morzunov SP, Feldmann H, Spiropoulou CF, et al. A newly recognized virus associated with a fatal case of hantavirus pulmonary syndrome in Louisiana. *J Virol* 1995; 69: 1980-3.
- 57 Hjelle B, Lee SW, Song W, et al. Molecular linkage of hantavirus pulmonary syndrome to the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*: genetic characterization of the M genome of New York virus. *J Virol* 1995; 69: 8137-41.

- 58 Lyubsky S, Gavrilovskaya I, Luft B, Mackow E. Histopathology of *Peromyscus leucopus* naturally infected with pathogenic NY-1 hantaviruses: pathologic markers of HPS viral infection in mice. *Lab Invest* 1996; 74: 627-33.
- 59 Xiao SY, LeDuc JW, Chu YK, Schmaljoh CS. Phylogenetic analyses of virus isolates in the Genus *Hantavirus*, Family *Bunyaviridae*. *Virology* 1994; 198: 205-17.
- 60 Chu YK, Rossi C, LeDuc JW, Lee HW, Schmaljohn CS, Dalrymple JM. Serological relationships among viruses in the *Hantavirus* genus, family *Bunyaviridae*. *Virology* 1994; 198: 196-204.
- 61 Horling J, Chizhikov V, Lundkvist A, et al. Khabarovsk virus: a phylogenetically and serologically distinct hantavirus isolated from *Microtus fortis* trapped in far-east Russia. *J Gen Virol* 1996; 77: 687-94.
- 62 Henderson WW, Monroe MC, St.-Jeor SC, Thayer WP, Rowe JE, Peters CJ, Nichol ST. Naturally occurring Sin Nombre virus genetic reassortants. *Virology* 1995; 214: 602-10.
- 63 López N, Padula P, Rossi C, Lázaro ME, Franze-Fernández MT. Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology* 1996; 220: 223-6.
- 64 Plyusnin A, Vapalahti O, Lundkwist A, Henttonen H, Valeri A. Newly recognised hantavirus in Siberian lemming. *Lancet* 1996; 347: 1835-1836.
- 65 Song W, Torres-Martínez, Irwin W, et al. Isla Vista virus: a genetically novel hantavirus of the California vole *Microtus californicus*. *J Gen Virol* 1995; 76: 3195-9.
- 66 Rawlings JA, Torres-Martínez N, Neill SU, et al. Cocirculation of multiple hantaviruses in Texas, with characterization of the small (S) genome of a previously undescribed virus of cotton rats (*Sigmodon hispidus*). *Am J Trop Med Hyg* 1996; 55: 672-679.
- 67 Hjelle B, Anderson B, Torres-Martínez N, Song W, Gannon WL, Yates TL. Prevalence and geographic genetic variation of hantaviruses of New World harvest mice (*Reithrodontomys*): identification of a divergent genotype from a Costa Rica *Reithrodontomys mexicanus*. *Virology* 1995; 207: 452-9.
- 68 Puthavathana P, Lee HW, Kang CY. Typing of Hantaviruses from five continents by polymerase chain reaction. *Virus Res* 1992; 26: 1-14.
- 69 Chen HX, Qui FX, Dong BJ, et al. Epidemiological studies on hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *J Infect Dis* 1986; 154: 394-8.
- 70 Lee HW, Lee PW, Baek LJ, Chu YK. Geographical distribution of hemorrhagic fever with renal syndrome and Hantaviruses. *Arch Virol* 1990; suppl 1: 5-18.
- 71 Nowotny N, Weissenboeck H, Aberle S, Hinterdorfer F. Hantavirus infection in the domestic cat. *JAMA* 1994; 272: 1100-1.
- 72 Noworny N. The domestic cat: a possible transmitter of viruses from rodents to man. *Lancet* 1994; 343: 921.
- 73 Kim GR, Lee YT, Park CH. A new natural reservoir of Hantavirus: isolation of Hantaviruses from lung tissues of bats. *Arch Virol* 1994; 134: 85-95.
- 74 Slonova RA, Tkachenko EA, Kushnarev EL, Dzagurova TK, Astakova TI. Hantavirus isolation from birds. *Acta Virol* 1992; 36: 493.
- 75 Desmyter J, LeDuc JW, Johnson KM, Brasseur F, Deckers C, Van Ypersele de Strihou C. Laboratory-rat associated outbreak of haemorrhagic fever with renal syndrome due to Hantaan-like virus in Belgium. *Lancet* 1983; 2: 1445-8.
- 76 Van der Groen G, Leirs H, Verhagen R. Polyhostal nature of Hantaviruses. En: *Proceedings of the Second Symposium on Recent Advances in Rodent Control, Kuwait, 1988*: pág 197-207.

- 77 Gavrishlovskaya IN, Apekina NS, Myasnikov YA, Bernshtein AD, Ryltseva EV, Gorbachkova EA, Chumakov MP. Features of circulation of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) virus among small mammals in European U.S.S.R. *Arch Virol* 1983; 75: 313-6.
- 78 Tkachenko EA, Ivanov AP, Donets MA, et al. Potential reservoirs and vectors of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in U.S.S.R. *Ann Soc Bel Med Trop* 1983; 63: 267-9.
- 79 Alexeyev OA, Baranov BA. Puumala virus infection without signs of renal involvement. *Scand J Infect Dis* 1983; 25: 525-7.
- 80 Gresioková M, Kozuch O, Sekeyová M, Tkachenko EA, Rezapkin GV, Lysy J. Detection of the antigen and antibodies to the eastern subtype of hemorrhagic fever with renal syndrome virus in small rodents in Slovakia. *Acta Virol* 1988; 32:164-7.
- 81 Verhagen R, Van der Groen G, Ivanov A, Van Rompeay J, Leirs H, Verheyen W. Occurrence and distribution of Hantavirus in wild living mammals in Belgium. *Arch Virol* 1986; 31: 43-52.
- 82 Rowe JE, St. Jeor SC, Riolo J, Otteson EW, Monroe MC, Henderson WW, Ksiazek TG, Rollin PE, Nichol ST. Coexistence of several novel hantavirus in rodents indigenous to North America. *Virology* 1995; 213: 122-30.
- 83 Burek KA, Rossi CA, LaDeuc JW, Yuill TM. Serologic and virologic evidence of a Prospect Hill-like Hantavirus in Wisconsin and Minnesota. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 286-294.
- 84 Otteson EW, Riolo J, Rowe JE, Nichol ST, Ksiazek TG, Rollin PE, St Jeor SC. Occurrence of hantavirus within the rodent population of northeastern California and Nevada. *Am Trop Med Hyg* 1996; 54: 127-33.
- 85 Lee HW, French GR, Lee PW, Baek LJ, Tsuchiya K, Foulke RS: Observations on natural and laboratory infection of rodents with the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1981; 30: 477-82.
- 86 Li YL, Ruo SL, Tong Z, et al. A serotypic study of hemorrhagic fever with renal syndrome in rural China. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52: 247-51.
- 87 Lee HW. Epidemiology. En: Lee HW, Dalrymple JM. (eds). *Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome*. Institute for Viral Diseases, Korea University. Corea 1989; pág 39-48.
- 88 Cosgriff TM. Hemorrhagic fever with renal syndrome: four decades of research. *Ann Int Med* 1989; 110: 313-6.
- 89 Brummer-Kovencio M, Vaheri A, et al. Nephropathia epidemica: detection of antigen in bank voles and serologic diagnosis of human infection. *J Infect Dis* 1980; 141: 131-4.
- 90 Nyström K. Epidemiology of HFRS (endemic benign nephropathy-EBN) in Sweden. *Scand J Infect Dis* 1982; suppl 36: 92.
- 91 Antoniadis A, LeDuc JW, Daniel-Alexiou S. Clinical and epidemiological aspects of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Greece. *Eur J Epidemiol* 1987; 3: 295-301.
- 92 Digišić G, Xiao SY, Gligić A, et al. Isolation of a Puumala-like virus from *Mus musculus* captured in Yugoslavia and its association with severe hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1994; 169: 204-7.
- 93 Khan AS, Gaviria M, Rollin PE, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in Florida: association with the newly identified Black Creek Canal virus. *Am J Med* 1996; 100: 46-8.
- 94 Lee PW, Meegan JM, Tkachenko EA, et al. Serologic techniques for detection of Hantaan virus infection, related antigens and antibodies. En: Lee HW, Dalrymple JM (eds). *Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome*. Corea, Institute for Viral Diseases, Korea University, 1989; pág 75-106.

- 95 McKenna P, Clement P, Matthyns P, Coyle PV, McCaughey C. Serological evidence of Hantavirus disease in Northern Ireland. *J Med Virol* 1994; 43: 33-8.
- 96 Clement J, McKenna P, Avsic-Zupanc, Skinner CR. Rat-transmitted Hantavirus disease in Sarajevo. *Lancet* 1994; 344: 131.
- 97 Lee HW, Johnson KM. Laboratory-acquired infection with Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1982; 146: 645-51.
- 98 Tsai TF. Hemorrhagic fever with renal syndrome: mode of transmission to humans. *Lab Anim Sci* 1987; 37: 428-30.
- 99 Arikawa J, Ito M, Yao JS, KariwaH, Takashima I, Hashimoto N. Epizootiological studies of hantavirus infection among urban rats in Hokkaido, Japan: evidences for the persistent infection from the sero-epizootiological surveys and antigenic characterizations of hantavirus isolates. *J Vet Med Sci* 1994; 56: 27-32.
- 100 Lee HW. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Korea. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (suppl 4): S864-76.
- 101 Childs JE, Glass GE, Korch GW, LeDuc JW. The ecology and epizootiology of hantaviral infections in small mammal communities of Baltimore: a review and synthesis. *Bull Soc Vector Ecol* 1988; 13: 113-22.
- 102 Hjelle B, Jenison SA, Goade DE, Green WB, Feddersen RM, Scott AA. Hantaviruses: clinical, microbiologic and epidemiologic aspects. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995; 32: 469-508.
- 103 Gajdusec DC. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Viral diseases in South-East Asia and the Western pacific*. 1982; 89: 76-594.
- 104 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.
- 105 Wells RM, Sosa S, Yadon ZE, Enria D, Padula P, Pini N, Mills JN, Peters CJ, Segura EL. An unusual Hantavirus outbreak in Southern Argentina: person-to-person transmission?. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 171-174.
- 106 Jay M, Hjelle B, Davis R, Ascher M, Baylies HN, Reilly K, Vugier D. Occupa-hand exposure leading to HPS in a utility company employee. *Clin Infect Dis* 1996; 2215: 841-844.
- 107 Rollin PE, Ksiazek TG, Zaki SR, Nichol ST, Peters CJ. Hantavirus pulmonary syndrome in Germany. *Lancet* 1996; 347: 1416-7.
- 108 Markotic A, Le Duc JW, Hlaca D, et al. Hantaviruses are linely threat to NATO forces in Bosnia and Herzegovina and Croatia. *Nat Med* 1996; 2: 269-270.
- 109 Clement J, Underwood P, Ward D, Pilanski J, LeDuc J. Hantavirus outbreak during military manoeuvres in Germany. *Lancet* 1996; 347: 336.
- 110 Stuart LM, Rice PS, Lloyd G, Beate RJ. A soldier with respiratory distress. *Lancet* 1996; 347: 30.
- 111 Esbjörner E, Ahlm C. Nephropathia epidemica. Specific IgM antibodies against Puumala virus can be found in serum. *Pediatric Nephrology* 1994; 8: 257-8.
- 112 Wu TN, Chin C, Shen CY, Chang PY. Hantavirus infection in Taiwan. *Lancet* 347: 770-771.
- 113 Niklasson B, Vene S. Vector-borne viral disease in Sweden. A short review. *Arch Virol* 1996; 11 (Suppl): 49-55.
- 114 Antoniadis A, Stylianakis A, Papa A, et al. Direct genetic detection of Dobrava virus in Greek and Albanian patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1996;

174: 407-10.

115 Leschinskaya EV, Tkachenko EA, Dzagurova TK, Drozdov SG. Acute haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Austria. *Acta Virol* 1991; 35: 303.

116 Van der Groen G, Piot P, Desmyter J, et al. Seroepidemiology of Hantaan-related virus infections in Belgian populations. *Lancet* 1983; 2: 1493-4.

117 Colson P, Damoiseaux P, Brisbois J, et al. Epidemical Hantavirus disease in Entre-Sambre-et-Meuse: year 1992-1993. Clinical and biological aspects. *Acta Clin Belg* 1995; 50: 197-206.

118 Bowen MD, Kaziwa H, Rollin PE, Peters CJ, Nichol ST. Genetic characterization of a human isolate of Puumala Hantavirus from France. *Virus Res* 1995; 38: 279-289.

119 Faludi G, Ferenczi E. Serologically verified Hantavirus infections in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung* 1995; 42: 419-426.

120 Nuti M, Messa M, Mioni G, Zorzenon M, Pitzus E. Presumed first case of haemorrhagic fever with renal syndrome in north-eastern Italy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991; 85: 678.

121 Monteiro J, Mesquita M, Alves MJ, Filipe AR. Fiebre hemorrágica com síndrome renal. Primeiro caso clínico diagnosticado em Portugal. *Rev Port Doen Infec* 1993; 16: 209-14.

122 Rollin PE, Baylet R, Rodhain F, Coudrier D, Sureau P, McCormick JB. Evidence sérologique de l'existence d'un Hantavirus chez le rat *Rattus norvegicus* en milieu rural en France. *Presse Méd* 1987; 16: 537-8.

123 Filipe AR, Andrade HR, Sommer AI, Traavik T. Hantaviral antigens and antibodies in wild rodents in Portugal. *Acta Virol* 1991; 35: 287-91.

124 Niklasson B, LeDuc JW. Epidemiology of nephropathia epidemica in Sweden. *J Infect Dis* 1987; 155: 269-76.

125 Anónimo. Hantavirus pulmonary syndrome in Canada: update. *Can Med Assoc J* 1995; 153: 1308-9.

126 CCCR: update. Hantavirus pulmonary syndrome in Canada. *Can Med Assoc J* 1995; 153: 1303-1305.

127 Hjelle B, Torrez-Martínez N, Koster FT. Hantavirus pulmonary syndrome-related virus from Bolivia. *Lancet* 1996; 347: 57.

128 Jenison S, Hjelle B, Simpson S, Hallin G, Feddersen R, Koster F. Hantavirus pulmonary syndrome: clinical, diagnostic, and virologic aspects. *Semin Respir Infect* 1995; 10: 259-69.

129 Chan YC, Wong TW, Yap EH, Tan HC, Lee HW, Chu YK, Lee PW. Hemorrhagic fever with renal syndrome involving the liver. *Med J Austral* 1987; 147: 248-9.

130 Song G, Hang CS, Qui XZ, et al. Etiologic studies of epidemic hemorrhagic fever (hemorrhagic fever with renal syndrome). *J Infect Dis* 1983; 147: 654-9.

131 Groen J, Gerding MN, Koeman JP, et al. A macaque model for Hantavirus infections. *J Infect Dis* 1995; 172: 38-44.

132 Guang MY, Liu GZ, Cosgriff TM. Hemorrhage in hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (suppl 4): S884-90.

133 Lähdevirta J. The minor problem of hemostatic impairment in nephropathia epidemica, the mild Scandinavian form of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (suppl 4): S860-3.

134 Groeneveld PHP, Colson P, Kwappenberg KMC, Clement J. Increased production of nitric oxide in patients infected with the european variant of Hantavirus. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 453-456.

- 135 Mustonen J, Helin H, Pietila K, Brummer-Korvenkontio M, Hedman K, Vaheri A, Pasternack A. Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in nephropathia epidemica. *Clin Nephrol* 1994; 41: 121-6.
- 136 Valtonen M, Kauppila M, Kotilainen P, et al. Four fatal cases of nephropathia epidemica. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 515-7.
- 137 Papadimitriou MG. Hantavirus nephropathy. *Kidney Intern* 1995; 48: 887-902.
- 138 Linderholm M, Bjermer L, Juto P, Roos G, Sandstrom T, Settergren B, Tarnvik A. Local host response in the lower respiratory tract in nephropathia epidemica. *Scand J Infect Dis* 1993; 25: 639-46.
- 139 Zaki SR, Greer PW, Coffield LM, et al. Hantavirus pulmonary syndrome. Pathogenesis of an emergent infectious disease. *Am J Pathol* 1995; 146: 552-79.
- 140 Khan AS, Ksiazek TG, Peters CJ. Hantavirus pulmonary syndrome. *Lancet*; 347: 739-741.
- 141 Hjelle B, Spiropoulou CF, Torrez-Martinez N, Morzunov S, Peters CJ, Nichol ST. Detection of Muerto Canyon virus RNA in peripheral blood mononuclear cells from patients with hantavirus pulmonary syndrome. *J Infect Dis* 1994; 1013-7.
- 142 Settergren B, Juto P, Wandell G. Detection of specific serum immunoglobulin M in nephropathia epidemica (Scandinavian epidemic nephropathy) by a biotin-avidin-amplified immunofluorescence method. *J Clin Microbiol* 1987; 25: 1134-6.
- 143 Elgh F, Wadell G, Juto P. Comparison of the kinetics of Puumala virus specific IgM and IgG antibody responses in nephropathia epidemica as measured by a recombinant antigen-based enzyme-linked assay and an immunofluorescence test. *J Med Virol* 1995; 45: 146-150.
- 144 Groen J, Gerdin M, Jordans JG, Clement JP, Osterhaus AD. Class and subclass distribution of hantavirus-specific serum antibodies at different times after the onset of nephropathia epidemica. *J Med Virol* 1994; 43: 39-43.
- 145 Alexeyev OA, Ahlm C, Billheden J, Settergren B, Wadell G, Juto P. Elevated levels of total and Puumala virus-specific immunoglobulin E in the Scandinavian type of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994; 1: 269-72.
- 146 Groen J, Dalrymple J, Fisher-Hoch S, Jordans JGM, Clement JP, Osterhaus ADME. Serum antibodies to structural proteins of Hantavirus arise at different times after infection. *J Med Virol* 1992; 37: 283-7.
- 147 Lundkvist A, Kallio-kokko H, Sjolander KB, Niklasson B, Vaheri A, Vapalahti O. Characterization of Puumala virus nucleocapsid protein: identification of B-cell epitopes and domain involved in protective immunity. *Virology* 1996; 216: 397-406.
- 148 Chu YK, Jennings G, Schmaljohn A, et al. Cross-neutralization of hantavirus 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.
- 149 Schmaljohn CS, Hasty SE, Dalrymple JM, et al. Antigenic and genetic properties of viruses linked to hemorrhagic fever with renal syndrome. *Science* 1985; 227: 1041-4.
- 150 Sommer AI, Traavik T, Mehl R, Berdal BP, Dalrymple J. Hemorrhagic fever with renal syndrome (nephropathia epidemica) in Norway: seroepidemiology 1981-1985. *Scand J Infect Dis* 1988; 20: 267-74.
- 151 Traavik T, Mehl R, Berdal BP, Lund S, Dalrymple JM. Nephropathia epidemica in Norway: description of serological response in human disease and implication of rodent reservoirs. *Scand J Infect Dis* 1983; 15: 11-6.
- 152 Alfandari S, Beuscart C, Senneville E, Mouton Y. Infection a Hantavirus sans atteinte

renale. *Rev Med Inter* 1994; 15: 556-7.

153 Duchin JS, Koster FT, Peters CJ, et al. Hantavirus pulmonary syndrome: a clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. *N Engl J Med* 1994; 330: 949-55.

154 Beltrán M, Saz JV, Otero JR. Picornavirus. Hantavirus. En: *Microbiología Médica*, Ed. JA García-Rodríguez y JJ Picazo, 1986; Mosby, Madrid.

155 Antoniadis A, LeDuc JW, Acritidis N, Alexiou-Daniel S, Kyparissi A, Saviolakis GA. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Greece: clinical and laboratory characteristics. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (suppl 4): S891-6.

156 Lähdevirta J. Clinical features of HFRS in Scandinavia as compared with East Asia. *Scand J Infect Dis* 1982; Suppl 36: 93-5.

157 Chun CH, Laehdevirta J, Lee HW. Clinical manifestation of HFRS. En: Lee HW, Dalrymple JM (eds). *Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome*. Institute for Viral Diseases, Korea University. Corea 1989; pág 19-38.

158 Casals J, Hoogstraal H, Johnson KM, Shelokov A, Wiebenga NH, Work TH. A current appraisal of hemorrhagic fevers in the U.S.S.R. *Am J Trop Med Hyg* 1966; 15: 751-64.

159 Dournon E, Moriniere B, Matheron S, Girard PM, Gonzalez JP, Hirsch F, McCormick JB. HFRS after a wild rodent bite in the Haute Savoie and risk of exposure to Hantaan-like virus in a Paris laboratory. *Lancet* 1984; 1: 676-7.

160 Lloyd G, Bowen ETW, Jones N, Pendry A. HFRS outbreak associated with laboratory rats in UK. *Lancet* 1984; 1: 1175-6.

161 Umenai T, Lee HW, Lee Pw, et al. Korean hemorrhagic fever in staff in an animal laboratory. *Lancet* 1979; 1:1314-6.

162 Kim YS, Ahu C, Han JS, Kim S, Lee JS, Lee PW. Hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Seoul virus. *Nephron* 1995; 71: 419-427.

163 Byun KS, Seo JB, Lee MS, et al. A clinical study of hemorrhagic fever with renal syndrome caused by Seoul viral infection. *Kor J Infect Dis* 1986; 18: 11-8.

164 Morimoto Y, Kishimoto S, Yamanouchi T, et al. Clinical features of hemorrhagic fever with renal syndrome in Japan: a clinical and laboratory study on 27 cases in Osaka in the 1960s and 1980s. *Jpn J Infect Dis* 1985; 59: 439-58.

165 Pether JVS, Lloyd G. The clinical spectrum of human Hantavirus infection in Somerset, UK. *Epidemiol Infect* 1993; 111: 171-5.

166 Settergren B, Juto P, Trollfors B, Wadell G, Norrby SR. Clinical characteristics of nephropathia epidemica in Sweden: prospective study of 74 cases. *J Infect Dis* 1989; 11: 921-7.

167 Settergren B, Leschinskaya E, Zagidullin I, Fazlyeva R, Khunafina D, Niklasson B. Hemorrhagic fever with renal syndrome: comparison of clinical course in Sweden and in the Western Soviet Union. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 549-52.

168 Linderholm M, Settergren B, Ahlm C, Burman LA, Träf S, Bäcklund U, Juto P. A Swedish fatal case of nephropathia epidemica. *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 501-2.

169 Pilaski J, Feldmann H, Morzunov S, et al. Genetic identification of a new Puumala virus strain causing severe hemorrhagic fever with renal syndrome in Germany. *J Infect Dis* 1994; 170: 1456-62.

170 Mustonen J, Brummer-Korvenkontio M, Hedman K, Pasternack A, Pietilä K, Vaheri A. Nephropathia epidemica in Finland: a retrospective study of 126 cases. *Scand J Infect Dis* 1994; 26: 7-13.

171 Settergren B, Trollfors B, Fasth A, Hultberg B, Norrby R. Glomerular filtration rate and tubular involvement during acute disease and convalescence in patients with nephropathia epidemica. *J Infect Dis* 1990; 161: 716-20.

172 Korpela H, Lähdevirta J. The role of small rodents and patterns of living in the epidemiology of nephropathia epidemica. *Scand J Infect Dis* 1978; 10: 303-5.

173 Schreiber M, Laue T, Wolff C. Hantavirus pulmonary syndrome in Germany. *Lancet* 1996; 347: 336-7.

174 Chapman LE, Khabbaz RF. Etiology and epidemiology of the Four Corners hantavirus outbreak. *Infect Agents Dis* 1994; 3: 234-244.

175 Posson SC, Told TN, Hollar GF. Recognition of Hantavirus infection in the rural setting: report of first Colorado resident to survive. *J Am Osteopath Assoc* 1993; 93: 1061-4.

176 Steier KJ, Clay R. Hantavirus pulmonary syndrome (HPS): report of first case in Louisiana. *J Am Osteopath Assoc* 1993; 93: 1286-9.

177 White DJ, Means RG, Birkhead GS, et al. Human and rodent hantavirus infection in New York State: public health significance of an emerging infectious disease. *Arch Intern Med* 1996; 156: 722-6.

178 Williams R, Bryan R, Mills H, et al. Hantavirus pulmonary syndrome in western Paraguay. *Am Trop Med Hyg* 1996; 55 (Suppl), abstract 30.

179 Schwarcz SK, Shefer AM, Zaki SR. Retrospective diagnosis of a fatal case of the hantavirus pulmonary syndrome, 1980. *West J Med* 1996; 164: 348-50.

180 Zaki SR, Khan AS, Goodman RA, et al. Retrospective diagnosis of hantavirus pulmonary syndrome, 1978-1993: implications for emerging infectious diseases. *Arch Pathol Lab Med* 1996; 120: 134-9.

181 Nerurkar VR, Song JW, Song KJ, Nagle JW, Hjelle B, Jenison S, Yanagihara R. 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.

182 Hjelle B, Jenison S, Torrez-Martínez N, 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: 592-96.

183 Khan AS, Spiropoulos CF, Morzunov S, et al. Fatal illness associated with a new hantavirus in Louisiana. *J Med Virol* 1995; 46: 281-6.

184 Weissenbacher MC, Cura E, Segura EL, Hortal M, Baek LJ, Chu YK, Leev HW. Serological evidence of human Hantavirus infection in Argentina, Bolivia and Uruguay. *Medicina B Aires* 1996; 56: 17-22.

185 Foucar K, Nolte KB, Feddersen RM, et al. Outbreak of Hantavirus pulmonary syndrome in the southwestern United States. Response of pathologists and other laboratorians. *Am J Clin Pathol* 1994; 101 (Suppl 1): S1-5.

186 Simonsen L, Dalton MJ, Breiman RF, et al. Evaluation of the magnitude of the 1993 hantavirus outbreak in the southwestern United States. *J Infect Dis* 1995; 172: 729-33.

187 CDC. Update: Hantavirus pulmonary syndrome-United States, 1993. *MMWR* 1993; 42 :816-20.

188 Peterson MC, Bastian BV, Tattar JA. Radiologic findings of the hantavirus pulmonary syndrome. *WJM* 1996; 164: 76.

189 Ketani LH, Williamson MR, Telapak RJ, Levy H, Koster FT, Nolte KB, Allen SE. Hantavirus pulmonary syndrome: Radiographic findings in 16 patients. *Radiology* 1994; 191: 665-8.

- 190 Hallin GW, Simpson SQ, Crowell RE, James DS, Koster FT, Mertz GJ, Levy H. Cardiopulmonary manifestations of hantavirus pulmonary syndrome. *Crit Care Med* 1996; 24: 252-8.
- 191 Childs JE, Rollin PE. Emergence of Hantavirus in the USA and Europe. *Current opinions in Infect Dis* 1994; 7: 220-4.
- 192 Khan AS, Khabbaz RF, Armstrong LR, et al. Hantavirus pulmonary syndrome: the first 100 USA cases. *J Infect Dis* 1996; 173: 1297-303.
- 193 Auwaerter PG, Oldach D, Mundy LM, et al. Hantavirus serologies in patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *J Infect Dis* 1996; 173: 237-9.
- 194 Kleinknecht D, Rollin PE. Hypertension after haemorrhagic fever with renal syndrome. *Nephron* 1992; 61: 121.
- 195 Papadimitriou MG, Antoniadis A. Hantavirus nephropathy in Greece. *Lancet* 1994; 334: 1038.
- 196 Le Duc JW, Childs JE, Glass GE. The hantaviruses, etiologic aspects of hemorrhagic fever with renal syndrome: a possible cause of hypertension and chronic renal disease in USA. *Am Rev Publ Health* 1992; 13: 79-98.
- 197 Glass GE, Watson AJ, LeDuc JW, Kelen GD, Quinn TC, Childs JE. Infection with a ratborne Hantavirus in US residents is consistently associated with hypertensive renal disease. *J Infect Dis* 1993; 167: 614-20.
- 198 Elisaf M, Korakis H, Siamopoulos KC. Chronic renal dysfunction in hemorrhagic fever with renal syndrome patients. *Ren Fail* 1993; 15: 623-7.
- 199 Current Notes. Hantaan Infection. *Communicable Diseases: Scotland, Weekly Report* 1988; 22: 8.
- 200 Pether JVS, Jones N, Lloyd G. Acute Hantavirus infection. *Lancet* 1991; 338: 1025.
- 201 Pether JVS, Thurlow J, Palferman TG, Lloyd G. Acute Hantavirus infection presenting as hypersensitivity vasculitis with arthropathy. *J Infect* 1993; 26: 75-7.
- 202 Phillips MJ, Johnson SAN, Thomson RK, Pether JVS. Further UK case of acute Hantavirus infection. *Lancet* 1991; 338: 1530-1.
- 203 Walker E, Boyd AJ, Kudesia G, Pinkerton IW. A Scottish case of nephropathy due to Hantaan virus infection. *J Infect* 1985; 11: 57-8.
- 204 Lee HW, Baek LJ, Chu YK. The study on clinical diagnosis and specific serological diagnosis of haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). *J Korean Soc Virol.* 1987; 17: 39-44.
- 205 CDC. Update: Hantavirus disease-United States 1993. *MMWR* 1993; 42: 612-4.
- 206 Clement J, McKenna P, Colson P, Damoiseaux PH, Penalba C, Halin P, Lombart D. Hantavirus epidemic in Europe, 1993. *Lancet* 1994; 343: 114.
- 207 Esselink RAJ, Gerding MN, Brouwers PJAM, Solleveld H, Jordans JGM, Groen J, Osterhaus ADME. Guillain-Barré syndrome associated with Hantavirus infection. *Lancet* 1994; 343: 180-1.
- 208 Vapalahti O, Lundkvist A, Kallio-Kokko H, Pankk K, Julkunen I, Lankinen H, Vaheri A. Antigenic properties and diagnostic potential of PUU virus nucleocapsid protein expressed in cells *J Clin Microbiol* 1996; 34: 119-125.
- 209 Antoniadis A, Grekas D, Rossi CA, LeDuc JW. Isolation of a Hantavirus from a severely ill patient with hemorrhagic fever with renal syndrome in Greece. *J Infect Dis* 1987; 156: 1010-3.

- 210 Avsic-Zupanc T, Poljak M, Furlan P, Kaps R, Xiao SY, LeDuc JW. Isolation of a strain of a Hantaan virus from a fatal case of hemorrhagic fever with renal syndrome in Slovenia. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 51: 393-400.
- 211 Yao ZQ, Yang WS, Zhang WB, Bai XF. The distribution and duration of Hantaan virus in the body fluids of patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1989; 160: 218-24.
- 212 Lundkvist A, Horling J, Bjorsten S, Niklasson B. Sensitive detection of hantaviruses by biotin-streptavidin enhanced immunoassay based on bank vole monoclonal antibodies. *J Virol Methods* 1995; 52: 75-86.
- 213 Alexeyev OA, Elgh F, Ahlm C, Stigbrand T, Settergren B, Wadell G, Juto P. Hantavirus antigen detection using human serum immunoglobulin M as the capturing antibody in an enzym-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg* 1996; 54: 367-71.
- 214 Lee HW, Lee PW. Korean hemorrhagic fever, I. Demonstration of causative antigen and antibodies. *Korean J Intern Med* 1976; 19: 371-83.
- 215 Kurata T, Hondo R, Sato S. Detection of viral antigens in formalin-fixed specimens by enzyme treatment. En: *Defined immunofluorescence and related cytochemical methods*. *Ann NY Acad Sci* 1983; 420: 192-207.
- 216 Hung T. Electron microscopy of hantaviruses. En: Lee HW, Dalrymple JM (eds). *Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome*. Institute for Viral Diseases, Korea University. Korea 1989; pág 67-74.
- 217 Hörling J, Lundkvist A, Persson K, et al. Detection and subsequent sequencing of Puumala virus from human specimens by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 277-82.
- 218 Xiao SY, Yanagihara R, Godec MS, Eldadah ZA, Johnson BK, Gajdusek DC, Asher DM. Detection of Hantavirus RNA in tissues of experimentally infected mice using reverse transcriptase-directed polymerase chain reaction. *J Med Virol* 1991; 33: 277-82.
- 219 Ivanov AP, Tkachenko EA, Petrov VA, et al. Enzyme immunoassay for the detection of virus specific IgG and IgM antibody in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *Arch Virol* 1988; 100: 1-7.
- 220 Niklasson B, Kjelsson T. Detection of nephropathia epidemica (Puumala virus)-specific immunoglobulin M by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microb* 1988; 26: 1519-23.
- 221 Niklasson B, Tkachenko E, Ivanov AP, et al. Haemorrhagic fever with renal syndrome: evaluation of ELISA for detection of Puumala-virus-specific IgG and IgM. *Res Virol* 1990; 141: 637-48.
- 222 Zöller LG, Yang S, Gött P, Bautz EKF, Darai G. A novel u-capture enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant proteins for sensitive and specific diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 1194-9.
- 223 Markotic A, Sarcevic A, Hlaca D. Early diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome during war. *Med Arh* 1994; 48: 109-11.
- 224 Zöller L, Yang S, Gött P, Bautz EKF, Darai G. Use of recombinant nucleocapsid proteins of the Hantaan and nephropathia epidemica serotypes of Hantaviruses as immunodiagnostic antigens. *J Med Virol* 1993; 39: 200-7.
- 225 Myasnikov YA, Rezapkin GV, Shuikova ZV, et al. Antibodies to the HFRS virus in human population of European RSFSR as detected by radioimmunoassay. *Arch Virol* 1984; 79: 109-15.
- 226 Yoshimatsu K, Arikawa J, Li H, Kariwa H, Hashimoto N, Suzuki N. Western blotting using recombinant Hantaan virus nucleocapsid protein expressed in silkworm as a serological confirmation of hantavirus infection in human sera. *J Vet Med Sci* 1996; 58: 71-4.

- 227 Yoshimatsu K, Arikawa J, Yoshida R, et al. Production of recombinant hantavirus nucleocapsid protein expressed in silkworm larvae its use as a diagnostic antigen detecting antibodies in serum from infected rats. *Lab Anim Sci* 1995; 45: 641-646.
- 228 Brummer-Korvenkontio M, Manni T, Ukkonen S, Vaheri A. Detection of hemagglutination-inhibiting antibodies in patients with nephropathia epidemica and Korean hemorrhagic fever by using Puumala virus cell culture antigen. *J Infect Dis* 1986; 153: 997-8.
- 229 Tsai TF, Tang YW, Hu SL, Ye KL, Chen GL, Xu ZY. Hemmagglutination-inhibition antibody in hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis* 1984; 150: 895-8.
- 230 Morrison YY, Rathbun RC. Hantavirus pulmonary syndrome: the Four Corners disease. *Ann Pharmacother* 1995; 29: 57-65.
- 231 Warner GS. Hantavirus illness in humans: review and update. *South Med J* 1996; 89: 264-71.
- 232 Mertz G, Chapman L. Hantaviruses infections in the United States: diagnosis and treatment. *Adv Exp Med Biol* 1996; 394: 153-162.
- 233 Schmaljohn CS, Hasty SE, Dalrymple JM. Preparation of candidate vaccine for hemorrhagic fever with renal syndrome. *Vaccina* 1992; 10: 10-13.
- 234 Kawamata J. Infection and control of Hantaan and related virus in laboratory rodent colonies. En: Lee HW, Dalrymple JM (eds). *Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome*. Institute for Viral Diseases, Korea University. Corea 1989; pág 111-116.
- 235 Saz JV, Merino FJ, Gegúndez MI, Alves MJ, Filipe AR. Hantavirus human infection in Spain?. 6th International Congress for Infectious Diseases. Praga (República Checa) 1994.
- 236 Gegúndez MI, Saz JV, Merino FJ, Alves MJ, Filipe AR, Beltrán M. Anticuerpos frente a Hantavirus en España. VI Congreso Nacional de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Valencia, 1994.
- 237 Gegúndez MI. Estudio clínico-epidemiológico de la infección por Hantavirus en un área rural de España. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá, 1995.
- 238 Saz JV, Gegúndez MI, Merino FJ, Beltrán M. ¿Qué sabemos de los Hantavirus? *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14: 59-60.
- 239 Rodríguez JA, Vaqué J. La enfermedad por Hantavirus: una infección emergente. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1994; 12: 477-9.
- 240 Gegúndez MI, Saz JV, Alves MJ, Merino FJ, Filipe AR, Beltrán M. Infección por Hantavirus en España: estudio seroepidemiológico en la provincia de Soria. *Med Clin* 1996; 106: 131-133.
- 241 Rodríguez JA, Vaqué J, Glass GE, Rosselló J, Piera L. Seroprevalence of Hantavirus infection in Catalonia (Spain). 3rd International Conference on HFRS and Hantaviruses. Helsinki, Finlandia, 1995.
- 242 Vapalathi O, Plyusnin A, Vaheri A, Henttonen H. Hantavirus antibodies in European mammalogists. *Lancet* 1995; 345: 1569.
- 243 Nuti M, Amaddeo D, Autorino GL, et al. Seroprevalence of antibodies to Hantavirus and leptospire in selected Italian population groups. *Eur J Epidemiol* 1992; 8: 98-102.
- 244 Saz JV, Gegúndez MI, Merino FJ, Filipe AR, Alves MJ, Beltrán M. Antibodies against Seoul virus in a rural area of Spain. 4th International Conference on the Prevention of Infection (CIPI). Niza (Francia) 1996.
- 245 Jiménez A, Gegúndez MI, Saz JV, Bisquert J, Beltrán M. Descripción de una técnica de screening para el diagnóstico de la infección por Hantavirus aplicada a un estudio de

seroprevalencia. VII Congreso Nacional de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Torremolinos, 1996.

246 Lledó L. Estudio seroepidemiológico de la infección por Hantavirus en la Comunidad de Madrid. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá, 1995.

247 Gegúndez MI, Saz JV, Lledó L, Jiménez AM, Parada C, Clavijo E, Domínguez MC, Hernández JM, Plata C, Beltrán M. Infección por Hantavirus en la Comunidad de Andalucía. SAMPAC. Almería 1996.

248 Yanagihara R, Svedmyr A, Amyx HL, et al. Isolation and propagation of nephropathia epidemica virus in bank voles. *Scand J Infect Dis* 1984; 16: 225-8.

249 Chumakov MP, Gavrilovskaya IN, Boiko VA, et al. Detection of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) virus in the lungs of bank voles *Clethrionomys glareolus* and redbacked voles *Clethrionomys rutilus* trapped in HFRS foci in the European part of U.S.S.R., and serodiagnosis of this infection in man. *Arch Virol* 1981; 69: 295-300.

250 Castell A, Mayo M. Guía de los mamíferos en libertad de España y Portugal. Madrid, Editorial Pirámide, 1993; pág 157- 60.

251 Gegúndez MI, Saz JV, Merino FJ, González MP, Jiménez AM, Beltrán M. Anticuerpos frente al virus Puumala en roedores salvajes. VII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Torremolinos 1996.

252 Gegúndez MI, Saz JV, Merino FJ, Filipe AR, Beltrán M. Insuficiencia renal aguda y serología positiva frente a Hantavirus. VI Congreso Nacional de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Valencia 1994.

253 Saz JV, Gegúndez MI, Merino FJ, Alves MJ, Filipe AR, Beltrán M. Hantavirus y enfermedad renal. VII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Torremolinos 1996.

254 Rollin PE, Coudrier D, Sureau P. Hantavirus epidemic in Europe, 1993. *Lancet* 1994; 343: 115-6.

255 Gegúndez MI, Saz JV, Merino FJ, Beltrán M. Hepatic function failure and Seoul antibodies. 4th International Conference on the Prevention of Infection (CIPI). Niza (Francia) 1996.

256 Gegúndez MI, Saz JV, Jiménez AM, Merino FJ, Beltrán M. Hantavirus Serological Patterns in Spain. 36th ICAAC. New Orleans, Louisiana, USA 1996.