

## Ecología y evolución de hantavirus en el Cono Sur de América

### Ecology and evolution of hantavirus in the Southern Cone of America

R. MURUA<sup>1</sup>\*, M.V., M.Sc.; P. PADULA<sup>2</sup>, Ph.D.

<sup>1</sup>Instituto de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia. Chile.

<sup>2</sup>Departamento Virología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, A.N.L.I.S.

“Dr. Carlos G. Malbran”, Velez Sarsfield 563, 1281 Buenos Aires, Argentina.

#### SUMMARY

Hantavirus are associated with a single primary rodent host of the family Muridae in three sub families, two of them Murinae and Arvicolinae distributed in the Palearctic Region (Europa, Asia, China) and the sub family Sigmodontinae in North, Central and South America besides an Arvicolinae genus (*Microtus*) in North America.

Studies on the host and virus phylogeny show close similarities when are compared which implies that hantavirus are very ancient infectious agents which have coevolved with the rodent host. The history of earth, tectonic movements and climatic changes which affected the continents in the past are relevant to understand the host reservoir and its micro parasites current geographic distribution.

This review provides historical biogeography of the sigmodontine rodents, phylogentic analyses of hantavirus, its molecular epidemiology and its geographical distribution in South America in order to sustain the proposal that the virus- rodent interaction has coevolved in the Neartic before the Family Muridae was detached in subfamilies and before the sigmodontines rodents spread into the South American continent.

It is described the existence of a large number of hantavirus lineages with small differences which make difficult to establish so far, well define species of hantavirus. An analisis between similarities and differences in the ecology and pathogenesis of two virus which have produced an important number of human cases in North America (*Sin Nombre*) and in the Southern Cone of America (*virus Andes*) is discussed.

*Palabras claves:* hantavirus, ecología, evolución, Sur América.

*Key words:* hantavirus, ecology, evolution, South América.

#### INTRODUCCIÓN Y CONTEXTO HISTÓRICO

Las zoonosis son las enfermedades cuyos agentes causales se transmiten entre los animales vertebrados y los seres humanos. Estas infecciones incluyen muchas de las enfermedades humanas más importantes en el mundo.

Los agentes patógenos emergentes en general no son de evolución reciente, ya que existieron

en la naturaleza. En el año 2000, la Oficina Internacional de Epizootias (OIE)<sup>1</sup>, advirtió que las más graves zoonosis son a menudo de origen vírico, y que los virus involucrados están evolucionando constantemente. Mientras tales virus están en general en un estado de equilibrio en lo que se refiere a sus huéspedes, no ocurre lo mismo para los seres humanos, quienes, generalmente, son huéspedes accidentales.

La transferencia de los agentes infecciosos entre animales y humanos es a menudo el resultado de las actividades humanas, como la agricultura, que ocasiona cambios en el ambiente y que puede colocar a los seres humanos en

---

Aceptado: 16.03.2004.

\* Autor para correspondencia e-mail: rmurua@uach.cl.  
Proyecto FONDEF D99I1105.

<sup>1</sup> www.oie.int

contacto con animales o artrópodos infectados. Las actividades humanas, y no los cambios en los agentes, ya sean víricos, bacterianos, parasitarios o fúngicos, juegan el papel más significativo en la exposición de los seres humanos a los agentes de enfermedades zoonóticas.

Las zoonosis emergentes son, por consiguiente, clasificadas según los factores relacionados con su aparición. Estos factores incluyen la demografía y el comportamiento humano, la tecnología y la industria, el desarrollo económico y aprovechamiento de la tierra, los viajes y el comercio internacional, la adaptación y el cambio microbiano, y el deterioro de las medidas de Salud Pública.

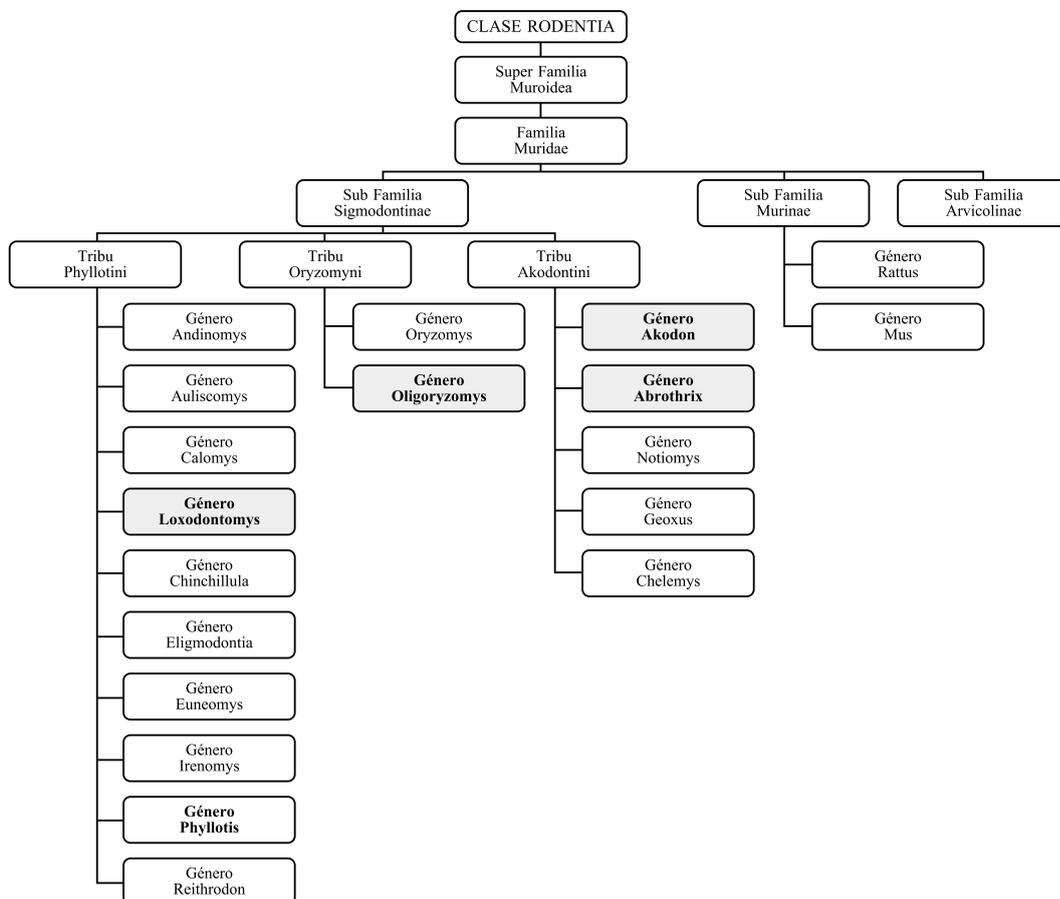
Muchas de las zoonosis han surgido por una combinación de factores, teniendo en cuenta la compleja interacción de los agentes zoonóticos, sus huéspedes animales y humanos así como el ambiente.

Virus de la Familia Bunyaviridae, género hantavirus han sido reconocidos como causantes de enfermedades en el hombre en países de Europa, del Lejano Oriente y China desde hace más de 1000 años (McKee y col., 1991).

Dos importantes eventos ocurridos y separados por 40 años marcan la historia reciente de los hantavirus en el occidente y especialmente en las tres Américas (Norte, Centro y Sur). El primero data de 1951 cuando soldados americanos en Corea presentaron una extraña enfermedad caracterizada por fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR) con una elevada seroprevalencia y leve letalidad (Schmaljohn y Hjelle, 1997). El segundo ocurre en 1993 en el sudoeste de Estados Unidos de Norte América con la aparición de una enfermedad hasta ese momento desconocida, que afectaba principalmente al pulmón causando la muerte por insuficiencia respiratoria y colapso cardiovascular, el síndrome pulmonar por Hantavirus (SPH) con seroprevalencia baja pero letalidad elevada (Duchin y col., 1994). Ambas enfermedades tenían en común que presentaron una reacción serológica positiva contra un grupo de patógenos humanos conocidos como hantavirus (Mertz y Vial, 2000).

Los hantavirus forman un género separado dentro de la Familia Bunyaviridae y una diferencia con los otros cuatro géneros que pertenecen a esta familia, es que no son transmitidos por la vía de artrópodos vectores (Mc Caughey y Hart, 2000). En la mayoría de los casos de estas enfermedades el huésped es un roedor aunque infecciones por hantavirus han sido detectadas en una gama de otros huéspedes como mamíferos insectívoros *Suncus murinus* (Tang y col., 1985) y *Crocidura russula* (Groen y col., 1995), murciélagos (Kim y col., 1994) gatos domésticos y salvajes (Luo, 1985) y aves (Slowoda y col., 1992). No está claro aún si estas especies son infectadas en forma persistente y si tienen algún riesgo de infección para el hombre (Hart y Bennett, 1999). La reciente tasa de incremento de los hantavirus, se han reconocido alrededor de 30 nuevos hantavirus en el mundo, (Mills y col., 1999a) y por el hecho de estar en aumento por un mayor rango geográfico o mayor incidencia, este tipo de patologías se han incorporado en el concepto de enfermedades infecciosas emergentes (Daszak y col., 2000).

Los roedores que portan a los hantavirus pertenecen a la Familia *Muridae* y dos subfamilias *Murinae* y *Arvicolinae*, roedores llamados también del viejo mundo, que se distribuyen en las áreas geográficas de Europa, Asia y Oceanía. Estas cepas de virus desencadenan en el humano la enfermedad descrita como fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR) y nefropatía epidémica (NE) (Hart y Bennett, 1994). Por otra parte, los roedores llamados del nuevo mundo que se distribuyen mayoritariamente en América del Sur, Centro América y América del Norte pertenecen a la sub familia *Sigmodontinae* (figura 1) y la enfermedad que producen se ha descrito como el SPH. (Duchin y col., 1994; Childs y col., 1999). Observaciones en casos humanos de depresión de la función cardíaca y de shock severos y fatales (Hallin y col., 1996) y como una forma de educar a médicos clínicos sobre esta falla (Botten y col., 2000) se ha incorporado al síndrome el concepto cardio pulmonar. Por otra parte la sub familia *Arvicolinae* presenta especies del género *Microtus* que portan Hantavirus en el



**FIGURA 1. Familias de roedores representados en Chile (según Redford y Eisenberg 1993). Los sombreados corresponden a las familias en las que se ha detectado presencia de anticuerpos de hantavirus.**

**Families of rodents represented in Chile (according to Redford and Eisenberg 1993). Filled squares are families in which has been detected antibodies of hantaviruses.**

nuevo mundo (América del Norte), sin embargo, estos virus no han sido asociados hasta la fecha con casos humanos del Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH).

Estudios realizados sobre las relaciones filogenéticas entre grupos de roedores portadores de hantavirus y de los virus entre sí, han mostrado fuertes similitudes al ser comparados de forma que la filogenia del virus refleja muy estrechamente la filogenia de los roedores (Xiao y col., 1994), lo que ha sugerido una asociación entre los huéspedes y sus virus de mucho más larga data de lo que se suponía inicialmente (Spotorno y col.,

2000) con un proceso de coevolución entre los agentes infecciosos y sus huéspedes roedores (Mc Caughey y Hart, 2000).

El hecho de que los diferentes hantavirus reportados hasta la fecha estén relacionados con una familia de roedor común, sugiere la propuesta de que los hantavirus han coevolucionado con roedores muridos originándose en América del Norte y no en Europa durante el Oligoceno (Smaljohn y Hjelle, 1997) antes del momento de separarse en las subfamilias y anterior al ingreso de los sigmodontinos al continente sudamericano.

Estos antecedentes sugieren que para comprender en su real dimensión la historia evolutiva de la biota en general y de los roedores en particular, es necesario conocer como los cambios tectónicos y climáticos afectaron a los continentes en épocas pretéritas y de que forma ellos pudieron influenciar las distribuciones presentes en nuestros días.

## BIOGEOGRAFIA HISTORICA DE SIGMODONTINOS Y HANTAVIRUS

Los roedores evolucionaron de un grupo basal conocido como *Paramyidae* en el Paleoceno tardío en el Neártico hace 55-60 millones antes del presente (Vaughan, 1972). No existen datos exactos de cuándo se produjo la separación de los roedores que colonizan Europa, Asia y Oceanía, sin embargo, el grupo debió extender su rango geográfico de distribución a través de la ruta de dispersión entre Alaska y Siberia, conocido como Estrecho de Bearing en el Cenozoico temprano, cuando prevaleció un clima suave, lo que permitió un continuo intercambio de organismos de modo tal que las Regiones Neártica y Palearctica comparten hoy día numerosas especies y se la considera como una súper región, Holoártica (Brown y Lomolino, 1998). De estos antecedentes se puede inferir que los Múridos llegaron a Siberia alrededor de los 30 millones de años antes del presente.

La posibilidad de intercambio de fauna entre el Neártico (América del Norte) y el Neotropical (América del Sur) ocurrió en varias oportunidades previo al puente centro americano que representa el Istmo de Panamá. Este puente pudo haber existido a fines del Cretácico (80 millones antes del presente) como una cadena de islas que derivó entre las Placas Caribeña y de Cocos (Briggs, 1994). Existen evidencias biogeográficas de invertebrados marinos y de algunos intercambios de mamíferos (posiblemente caviomorfos), reptiles, ranas y peces de agua dulce (Gayet y col., 1992; Briggs, 1994). Un segundo puente se genera durante el Mioceno (entre 5 a 10 millones de años antes del presente) en que el archipiélago centro americano proporciona una ruta para saltadores de islas de

una variedad de organismos terrestres por cambio de 50m en el nivel de agua oceánico (Brown y Lomolino, 1998). Es en esta misma época geológica que dos autores Reig (1981) y Webb y Marshall (1982) postulan el ingreso de los roedores sigmodontinos entre los 5-6 millones de años antes del presente. El hallazgo de un nuevo fósil en lo que es hoy Argentina central (provincia de Buenos Aires y La Pampa), muestran que la diversidad de los sigmodontinos y su diversificación fue más temprana (Pardiñas y col., 2002) y líneas de sigmodontinos reconocidas habitaban esa región 5 a 6 millones antes del presente (D'Elia, 2003).

Los datos de registros fósiles combinados con los de análisis filogenético del mt DNA confirman que los ancestros de los sigmodontinos sudamericanos entraron a Sudamérica desde Centroamérica vía saltadores de islas 5 a 10 millones de años atrás (Engel y col., 1998).

La distribución de biota en Sudamérica es influenciada claramente por la alternancia de episodios glaciales e interglaciares que ocurrieron en forma cíclica en el Pleistoceno. Estos ciclos secos fríos y húmedos cálidos permitieron avance y retracción de biomas de bosque alrededor de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas liberando un corredor por la vertiente oriental de la cordillera de los Andes que alcanza tan al sur como la costa centro sur Argentina en Monte Hermoso (38° 59' Latitud Sur, 61° 18' Longitud Oeste). Es en este lugar en donde se encontró el primer fósil sigmodontino de 3.5 millones de años antes del presente coincidente también con la primera glaciación (Marshall, 1979). La fauna se dispersó a lo largo del corredor descrito, concentrándose en lo que hoy es Chaco paraguayo, centro-norte argentino, sur de Brasil y Uruguay y desde ahí cruza la cordillera de los Andes distribuyéndose en la Puna altiplánica (figura 2). Las evidencias paleo climáticas así como los patrones actuales de diversidad de la zona indican que es un centro de diversificación tanto para aves como roedores sigmodontinos (Reig, 1986; Vuillemier y Simberloff, 1980). Es posible que desde la zona del altiplano pequeños mamíferos migraran hacia el oeste, el desierto y hacia el sur por el oeste de los Andes durante



**FIGURA 2.** Mapa de distribución de los virus detectados en Sudamérica. Los indicados con H producen enfermedad en humanos y los R han sido caracterizados sólo en roedores. La línea punteada indica la ruta de dispersión desde la entrada a Sudamérica (x) hasta Monte Hermoso.

Distribution of viruses detected in South America. Indicated with H produce disease in humans, and those with R only are present in rodents. Point line shows possible dispersal route and entrance (X) toward South America at Monte Hermoso.

períodos de grandes lluvias y lagos, pero otros desviaron su distribución hacia el este o se detuvieron en la extensión de su rango geográfico (Moreno y col., 1994). La colonización del sur de Chile se hace más comprensible a través de corredores transandinos desde el este al oeste, lo que se ve respaldado por la enorme similitud de fauna entre transectos a la misma latitud y entre la zona central de Chile y la patagonia argentina. (Moreno y col., 1994). Durante los períodos de glaciación la vegetación subantártica se deslizó hacia el norte por la ladera de la Cordillera de los Andes distribuyendo también a la fauna asociada al bosque siempre fríos (Vuilleimier, 1971), cuyos ensambles de mamíferos alcanzaron por esta vía latitudes septentrionales.

## HANTAVIRUS EN EL CONO SUR DE AMÉRICA

*El virion, estructura y organización.* El origen de los virus RNA es incierto, sin embargo, es razonable asumir que estos agentes infecciosos tienen una historia evolutiva larga apareciendo con o quizás antes de la primera forma de vida celular, basada en que estos virus evolucionaron con sus huéspedes vertebrados. Para el caso de los hantavirus, si la historia inferida de coespeciación de virus y roedores es correcta, entonces la tasa de sustitución nucleotídica de estos virus debe de haber sido mucho más baja que la reportada para otros virus RNA, de lo contrario sus secuencias genéticas hubieran sido

irreconociblemente divergentes (Holmes, 2003). Los virus del género hantavirus tienen una organización genómica consistente en tres segmentos de RNA monocatenario denominados según su tamaño L (large), M (medium) y S (small). El segmento L codifica para la proteína L con actividad de transcriptasa/replicasa, el M para una proteína precursora de las glicoproteínas G1 y G2 que se generan por el clivaje de la precursora en un sitio específico y el segmento S codifica para la proteína de la nucleocápside N. Cada segmento de RNA está rodeado por moléculas de proteína N formando una cápside de estructura helicoidal que se circulariza uniendo sus extremos. Los viriones son envueltos, sensibles a solventes lipídicos y detergentes y los virus son de difícil cultivo (Schmaljohn, 1996).

*Análisis filogenético viral.* Por ser el SPH una enfermedad de reciente descubrimiento es importante además de la realización del diagnóstico serológico la caracterización del hantavirus asociado a cada caso ocurrido o a cada roedor serológicamente positivo capturado.

Para determinar la especie viral involucrada en la infección en humanos y en roedores en el Cono Sur de América, se realizó un análisis filogenético de máxima parsimonia, basado en las diferencias nucleotídicas de fragmentos del segmento viral M correspondiente a zonas codificantes para las glicoproteínas G1 y G2 (posición 26 a 281 y 1753 a 2946) de casos confirmados en comparación a hantavirus ya caracterizados

Todos los casos correspondieron a variantes genéticas del virus Andes (AND) o Laguna Negra (LN) (Padula y col., 2000a; Padula y col., 2002a,b). Dentro de las variantes genéticas del virus Andes se pudieron distinguir al menos 6 linajes genéticos: (i) el linaje AND Sout se caracterizó a partir de casos del sur de Argentina y Chile, (ii) el linaje AND Nort Oran en las provincias de Salta y Jujuy de Argentina y en el sur de Bolivia, (iii) AND Nort Bermejo, en el norte Argentino y sur de Bolivia, (iv) AND Cent Bs. As., asociado al 80% de los casos de la provincia de Buenos Aires y el cual incluye al

genotipo Hu39694 reportado previamente (Levis y col., 1998), (v) el linaje AND Cent Lec en las zonas ribereñas de la misma provincia, el cual incluye al genotipo Lechiguanas (LEC) reportado previamente (Levis y col., 1998), (vi) un nuevo linaje al que denominamos AND Plata fue caracterizado a partir de casos de un lado y otro del Río de la Plata (Argentina y Uruguay) (Padula y col., 2000b; Delfraro y col., 2003). El rango de identidad nucleotídica y aminoacídica de los linajes del virus Andes oscila entre el 76.5% al 86.6% y del 91.9% al 96.9% respectivamente. La evolución de los virus RNA es más compleja porque los genomas virales son un mosaico de sitios sinonímicos, o sea donde las mutaciones no cambian el código de aminoácidos y de no sinonímicos, sitios donde las mutaciones alteran aminoácidos y las cuales evolucionan más lentamente. Se ha observado disparidad entre tiempo de divergencia e historia filogenético, que requiere establecer una escala de tiempo de evolución viral basada en determinaciones más ajustadas de la tasa de sustitución nucleotídica (Holmes, 2003).

Un estudio filogenético más detallado que se realizó en la provincia de Buenos Aires mostró que durante el periodo 1997 a 2000 el 63% (24/39) correspondió al linaje AND Bs.As., el 20.5% (8/39) al AND Cent Lec, y el resto 15% (6/39) al AND Cent Plata. (Martínez y col., 2001) Solamente 3 muestras no pudieron amplificarse. El virus de un caso fue identificado asociado al linaje AND Sout confirmándose que el paciente había viajado al sur de Argentina, provincia de Neuquén 20 días antes del comienzo de los síntomas. En una de las localidades de la provincia de Buenos Aires cocircularon dos linajes AND Cent Plata y AND Cent Bs.As. asociados a casos de SPH. En la parte norte de la provincia sólo se encontró el linaje AND Cent Lec.

De un total de 9 virus amplificados de casos de Paraguay, 7 fueron caracterizados como LN. Los otros 2 casos estaban infectados con virus muy similares entre sí, pero con una divergencia del 25% y del 16% nucleotídica y aminoacídica respectivamente cuando se compararon con el virus LN en un fragmento de 672 nucleótidos

analizados. Estos 2 genotipos resultaron ser más similares a los linajes de virus AND en un rango de identidad nucleotídica y aminoacídica que varió del 78.6% al 80.6% y del 93.2 al 95.0% respectivamente. Estas secuencias agruparon juntas con los linajes de virus AND en el árbol filogenético con un alto valor de confianza. (Padula y col., 2000a).

Cuando se analizó la severidad del SPH se encontraron casos severos y moderados entre pacientes infectados con los 6 linajes de AND. Ocasionalmente se reportaron casos con claros signos hemorrágicos con virus pertenecientes a AND Sout, AND Nort y AND Cent Bs. As. Comparando los tres linajes del virus AND de Buenos Aires se obtienen valores bajos, entre un 3% a 6% de divergencia aminoacídica. En general, si bien una relación directa entre datos genéticos y serológicos es difícil de mostrar, el criterio tradicional serológico correlaciona muy bien con los datos moleculares. Normalmente, la baja divergencia en aminoácidos indica neutralización cruzada entre cepas virales. Hasta el momento no existen suficientes evidencias para considerar a los seis linajes asociados a SPH circulantes en Argentina como diferentes virus. Por ese motivo y hasta tanto se obtengan datos de seroneutralización cruzadas que confirmen si se trata de entidades virales diferentes, optamos por denominar a las variantes obtenidas a partir de *Oligoryzomys* con el nombre AND con el agregado de un nombre indicativo del lugar. Otros autores prefieren denominar "AND like" a los genotipos relacionados. La investigación de datos geográficos y ecológicos basados en mantenimiento y coevolución de diferentes reservorios primarios contribuirá a la asignación del estado taxonómico del virus AND. Mas aún, a medida que se obtengan nuevos virus caracterizados de la región, tal es el caso de los virus de Brasil (Johnson y col., 1999, Mendes y col., 2001) y de Panamá (Vincent y col., 2000), se podrá observar que cada vez es mayor el número de hantavirus que circulan con diferencias pequeñas entre sí como para no considerarlo especies virales diferentes sino genotipo, los que a su vez se agrupan en linajes. Sin embargo, a pesar de las diferencias, no son

lo suficientemente similares entre linajes o genotipos de distintas regiones geográficas, lo que permite en la mayoría de los casos poder identificar el lugar de infección. A medida que otros virus caracterizados se incorporen a las bases de datos y se realicen pruebas de neutralización cruzada entre cepas, se podrá definir o agrupar en distintas especies virales.

*Distribución Geográfica.* Para los hantavirus se reconoce que la distribución geográfica del huésped determina la distribución del virus y en consecuencia la enfermedad en humanos (Hart y Bennett, 1999), por lo que en esta forma indirecta se puede establecer las rutas de dispersión.

Los hantavirus descritos en Sudamérica se concentran en el área del corredor de dispersión que los mamíferos utilizaron en su penetración hacia el sur del continente durante el cuaternario (Marshall, 1979), en parte de Bolivia, expandiéndose hacia el sur este y centro norte de Argentina y patagonia, lo que sugiere un centro de radiación del virus en esa área. Así estudios realizados en el genoma S de las secuencias nucleotídicas de siete genotipos de hantavirus en Argentina indican que las cepas Rio Mamore y Lechiguana forman un clado separado que ocupa una posición ancestral del resto del grupo (Morzunov y col., 2001). Por otro lado los huéspedes del virus Andes Nort Oran y los descritos en Brazil (Juquitiba, Castello do Sonhos y Araraquara) aparecen aislados por la costa norte oriental de Brasil. Esta pudo ser una vía de colonización hacia el sur alternativa de los huéspedes roedores cuya respuesta se podría conocer mediante análisis filogenético de los virus determinando cuáles son más recientes o antiguos.

Mediante la obtención de las secuencias nucleotídicas de la región más variable del DNA mitocondrial (mtDNA) se construyó un árbol filogenético conteniendo varios de los huéspedes de hantavirus particularmente aquellos de la subfamilia *Sigmodontinae* (Engel y col., 1998,). El análisis filogenético de los hantavirus basado en la secuencia nucleotídica completa del segmento S o M, revela un árbol filogenético

muy similar al de los roedores. Dentro de los virus asociados a sigmodontinos los de Sudamérica forman un agrupamiento muy bien consensuado y separado de los peromyscines de Norteamérica. Los virus hospedados por *Oligoryzomys* son monofiléticos entre sí y forman con el virus LN (Johnson y col., 1997) de Paraguay, cuyo reservorio es *Calomys laucha*, y el Río Mamore (RM) (Bharadwaj, 1999), de Bolivia en *Oligoryzomys microtis*, un taxón hermano. La inconsistencia en que dos virus hospedados por *Calomys* y *Oligoryzomys* respectivamente formen un taxón es sugestiva de un evento de cambio de huésped (host-switching) entre roedores muy relacionados.

Otro hecho de interés es la presencia de la cepa Andes Sout, descrita en la patagonia Argentina (López y col., 1997) y en diferentes zonas ecológicas de Chile. En efecto, estudios de PCR realizados de órganos de animales positivos colectados a lo largo de Chile (V Región por el norte y Undécima por el sur) han mostrado la presencia de la misma cepa de virus. Este hecho de alguna forma refuerza la propuesta que la colonización de los sigmodontinos se realizó a través de los pasos cordilleranos desde Argentina a Chile. En Argentina la cepa Andes Sout tienen un extenso rango geográfico por la vertiente oriental de la Cordillera de los Andes hacia la patagonia (figura 2). En esta misma dirección argumental, el hecho ya aceptado que cada hantavirus tiene un roedor reservorio que es especie específico explica la existencia de un solo reservorio del virus en Chile, aunque ocurre que pueden existir otras especies de roedores sigmodontinos que podrían servir de huéspedes vectores del virus. En Chile se han encontrado animales serológicamente positivos al virus Andes Sout en especies que coexisten con el reservorio, en los mismos hábitats, como son Akodontinae, Phyllotyinae (Pavletic, 2000). Es más, se ha logrado en forma experimental infectar individuos *Akodon olivaceus* los que, a su vez, en un intento preliminar con pocos animales no han podido infectar a otros, lo que confirmaría la especificidad (Padula y col., en prensa 2004).

La presencia de varios ríos en la zona central de Argentina pudo haber sido utilizada como

vehículo para que las especies de roedores fueran transportadas en pequeñas islas flotantes río abajo y así explicar la existencia de estos tres linajes circulantes en la región central, en contraste con un solo linaje en la zona sur (Chiappero y col., 1997). El linaje AND Nort Oran fue caracterizado a partir de 2 roedores *O. longicaudatus* (Levis y col., 1998), 2 *O. chacoensis* y 1 *O. flavescens* (González Della Valle y col., 2002) pudiendo interpretarse estos resultados como derrame (spill over) entre especies o como adaptación en las 3 especies de *Oligoryzomys*. Asignar una de estas especies como reservorio de este linaje utilizando un número tan pequeño de animales analizados no se considera lo más apropiado. En efecto en Paraguay el virus LN también ha sido caracterizado a partir de *Calomys callosus* (Almiron y col., 2003), roedor importante para las zoonosis por ser el reservorio del virus Machupo, agente causal de la Fiebre Hemorrágica Boliviana. Sin embargo, el número de roedores *C. laucha* infectados es muy superior, por lo cual se le atribuye el rol de reservorio, desconociéndose aún la importancia de la especie *C. callosus*.

Existe gran dificultad en Sudamérica en demarcar una especie nueva de virus hanta y hasta el momento ha sido arbitraria. Sin embargo, los estudios filogenéticos aún no completos de distintas cepas obtenidas de casos humanos en el norte de Argentina, Bolivia, Chile, sur y norte de Brasil, Paraguay y Uruguay parecerían agruparse alrededor de 2 únicas especies de virus diferentes: el virus Andes y el LN y de 2 géneros reservorios, el *Oligoryzomys* y el *Calomys*. Tal es el caso del hantavirus HTN-007 caracterizado en un *O. Microtis* de Perú, que tiene una identidad del 85-87% con el virus Río Mamore de Bolivia (Bharadwaj y col., 1999). Todas las otras cepas, así, como la de Perú, pudieran representar variantes de algunas de estos dos virus ya que cuando se comparan a nivel de proteínas las diferencias son significativamente menores llevando a suponer una probable neutralización cruzada entre cepas. La dificultad existente en el aislamiento de los hantavirus a partir de sigmodontinos se ve reflejada en la ausencia de datos de relaciones serotípicas entre estos virus, así como la existencia de determinantes comunes

de neutralización. Hasta la actualidad el criterio para designar una nueva especie de hantavirus ha sido inconsistente y un poco arbitrario. Un criterio provisorio ha sido reunir en linajes a aquellas cepas o genotipos relacionadas por género de roedores huéspedes, no de especies, relacionadas geográficamente y con diferencias genéticas nucleotídicas de alrededor del 20% y aminoácidas del 8% (Padula y col., 2000a) Además, los futuros estudios taxonómicos en roedores permitirán el análisis de la co-especiación y las relaciones filogenéticas de hantavirus en humanos y sus respectivos huéspedes.

#### *Epidemiología molecular de los Hantavirus*

La importancia de la caracterización genética de virus a partir de casos y roedores es poder correlacionar fuentes de infección y enfermedad y así poder predecir patrones de riesgo.

Con el fin de poder realizar una clasificación genética que permitiera conocer el sitio geográfico de contagio se analizaron numerosas regiones del genoma de AND. Teniendo en cuenta que el período de incubación de la enfermedad puede llegar a ser de 30 días, la información epidemiológica en muchos casos no permite decidir el lugar de contagio, sobre todo en los casos de personas que por razones laborales se desplazan grandes distancias. La región del segmento M comprendida entre los nucleótidos 2721 y 2946 (numeración relativa al virus Andes) que codifica para la glicoproteína de envoltura G2 se amplificó, secuenció y analizó con dicho propósito. Se compararon las secuencias de a pares correspondientes a 70 casos y se calcularon los porcentajes de similitud.

La distribución de frecuencias de porcentajes de similitud de esta región se separó en 3 grupos. La similitud fue alta, entre 90 al 100% cuando se comparan casos del mismo linaje, e intermedios, entre el 74 al 86% entre casos de diferente linajes o diferentes virus, pero pertenecientes al Cono Sur de America i.e LN vs. AND. La similitud fue baja, entre el 63 al 78%, cuando se compararon 2 virus de diferentes hemisferios o entre virus diferentes de Norteamérica i.e BAYOU vs. NEW YORK or AND Sout vs. SN.

#### ECOLOGIA, TRANSMISIÓN DE LA ENFERMEDAD

La distribución y ecología de los roedores huéspedes define en forma amplia la epidemiología de los hantavirus, considerando que las características del hábitat determinan condiciones de mayor abundancia poblacional y estructura demográfica (edad y sexo) en sitios de más alto riesgo que en los sitios de menor riesgo (Glass y col., 2002). La variación en el riesgo que se observa año a año parece estar más asociado a características efímeras del paisaje que afectan a la población reservorios más que la propia vegetación del lugar (Glass y col., 2002). La estructura del paisaje definida en términos de composición y configuración que corresponde a los tipos de manchones (patches) existentes, la cantidad de cada uno y las relaciones entre ellos tienen un importante efecto en la distribución de virus (Langlois y col., 2001). El proceso de fragmentación del paisaje aumenta su conectividad y el mayor movimiento del ratón venado (*Peromyscus maniculatus*) en habitats fragmentados (Diffendorfer y col., 1995), por lo que se ha propuesto que la tasa de transmisión de la enfermedad se aumentaría en los paisajes fragmentados (Langlois y col., 2001). Estos tipos de paisajes son característicos también en la zona sur chilena, en que los bosques han sufrido una fuerte intervención humana, ya sea por explotación maderera o sustitución por otras plantaciones, lo que ha formado fragmentos de diferentes tamaños y conectividad que tendrían efectos en la distribución del hantavirus.

El principal modo de transmisión del virus Sin Nombre (SN) al ser humano es la inhalación de partículas de virus transportada por el aire, liberadas de las fecas y orina de los roedores infectados a medida que se secan (Langlois y col., 2001).

Es ampliamente aceptado que la transmisión del hantavirus en una población de reservorio es horizontal y el mecanismo de transferencia serían los encuentros agresivos y mordeduras frecuentes entre los machos (Mills y col., 1999a), esto ocurriría en forma más frecuente durante el periodo de apareamiento, primavera-verano, que

coincide con las más elevadas seroprevalencia observadas en las poblaciones de reservorios (Douglass y col., 2001). El razonamiento es que en densidades elevadas se aumenta el contacto roedor-roedor con el incremento de las posibilidades de transmisión del virus a roedores susceptibles, con elevada incidencia total y prevalencia acumulativa (Mills y col., 1999b). Esta propuesta se ve respaldada por el modo de transmisión teórico, densidad-dependiente, también conocido como acción masiva (mass action) (Dobson y Hudson, 1995) o más recientemente como pseudo acción masiva (Begon y col., 1999). Sin embargo, no se han encontrado evidencias claras entre el aumento de la seroprevalencia y la densidad poblacional tanto en virus SN en Norte América (Mills y col., 1999b) como en virus AND en Sudamérica (Cantoni y col., 2001; Murúa y col., 2003) e incluso datos recopilados muestran una relación inversa entre la densidad poblacional y la prevalencia de anticuerpos (Abbott y col., 1999; Douglass y col., 2001). Lo que sí se ha encontrado es una relación positiva entre el número promedio de huéspedes positivos y el promedio de la abundancia total de roedores (Douglass y col., 2001; Murúa y col., 2003).

Otro modo alternativo de transmisión es la frecuencia dependiente o también llamado mezcla proporcionada, donde los huéspedes se asume hacen un número fijo de contactos con otros huéspedes (Begon y col., 1999). Este modo de transmisión se ha asociado principalmente con enfermedades transmitidas en forma sexual, pero recientemente se ha sugerido una relevancia más amplia (De Jong y col., 1995). Así enfermedades socialmente transmitidas pueden tener la misma dinámica de transmisión, en que la frecuencia de los contactos entre los huéspedes son independientes de la densidad (Begon y col., 1999). En *Oligoryzomys longicaudatus*, roedor reservorio de virus Andes (AND) en Argentina y Chile (López y col., 1997), existen conductas sociales como identificación, monta, oler, persecución, (González y col., 1990) que favorecen el contacto físico no necesariamente agresivo entre individuos de estas especies, así como con roedores de especies que coexisten en

el mismo hábitat. El ensamble de roedores en el Sur de Chile y patagonia Argentina se caracteriza por tres especies dominantes: *Abrothrix olivaceus*, *Oligoryzomys longicaudatus* y *Abrothrix longipilis* que sobreponen sus hábitats y se han detectado animales seropositivos de las especies *A. olivaceus* (Toro y col., 1998) y *A. longipilis* (Murúa y col., 2003) y *Loxodontomys micropus* en la patagonia Argentina (Cantoni y col., 2001) en un fenómeno conocido como derrame (spill-over) del virus en otros roedores que entra en contacto. La vía de transmisión por aerosol aparece como la más importante forma de transmisión (Lundkvist y col., 1994). El mecanismo de transmisión entre ratones y de éstos al hombre sería entonces por inhalación de aerosoles con partículas de virus que se liberarían de la saliva al secarse del pelaje del roedor positivo después de su acicalamiento y limpieza o de otros elementos contaminados (alimento, muebles, cortinas) con ella. Esta hipótesis estaría avalada por el hallazgo tanto en animales positivos a virus AND colectados del terreno como infectados en condiciones experimentales, de la presencia de RNA viral en glándulas salivales y pulmón detectados por RT-PCR e inmunohistoquímica y por RT-PCR en la saliva de animales (Padula y col., en prensa 2004). Esto además fortalece la evidencia de transmisión de persona a persona descrita por primera vez en el sur argentino en 16 casos a partir de un caso índice, donde médicos tratantes estuvieron expuestos sin mediar contacto con roedores sugiriendo que al menos cadenas de tres pasajes ocurrieron en el hombre (Enria y col., 1996; Wells y col. 1997; Padula y col., 1998). Otra transmisión de persona a persona ha sido descrita en una familia en la zona de Coyaique en la patagonia chilena, durante una irrupción de casos humanos en 1997 (Toro y col., 1998). El virus Andes (AND) es el primer hantavirus en el mundo asociado a una enfermedad pulmonar transmitida persona a persona (Padula y col., 1998). Se considera que el modo de transmisión más probable en estas situaciones fue el respiratorio (Mc Caughey y Hart, 2000). Un estudio más reciente (Pinna y col., 2003) reporta una cadena de transmisión interhumana de tres

personas a partir del caso de un paciente residente en Buenos Aires, que desarrolló una infección por hantavirus sin haber tenido ningún otro riesgo epidemiológico más que el contacto con un caso previo en un viaje al sur de Argentina. Posteriormente, un tercer caso residente de la provincia de Buenos Aires, desarrolló SPH teniendo como antecedente de riesgo varios encuentros con el caso anterior. Esta nueva evidencia para el mecanismo de transmisión interhumana del linaje AND Sout, tiene las características particulares de haber ocurrido por un contacto ocasional, no repetido, pero prolongado como un viaje de 14 hs en microbus de larga distancia y fuera del área endémica.

La seroprevalencia en roedores presenta variaciones estacionales siendo en el caso de virus SN más elevada en primavera y más baja en otoño (Mills y col., 1999b) situación que también se ha visto en virus AND en la patagonia Argentina (Cantoni y col., 2001) y en el sur de Chile (Murúa y col., 2003). La baja en otoño se explicaría por el reclutamiento de juveniles que tendría un efecto de dilución que conduce a una baja de prevalencia de anticuerpos (Mills y col., 1999b). La población de primavera consiste ampliamente de roedores adultos que pasan el invierno, lo que refleja la alta prevalencia de anticuerpos que se espera de poblaciones adultas (Mills y col., 1999b).

La más alta prevalencia de anticuerpos se ha encontrado en poblaciones con predominio de individuos adultos, siendo mucho menos común en poblaciones con dominancia de animales juveniles (Calisher y col., 1999). Este hallazgo ha permitido proponer la hipótesis de que la mantención del hantavirus en las poblaciones reservorios ocurriría vía animales adultos residentes, que mantendrían la infección de la estación previa reintroduciendo el virus en animales susceptibles cada primavera (transestacional) (Abbott y col., 1999; Calisher y col., 1999; Mills y col., 1999a).

La hipótesis implica que poblaciones reservorios residentes estables son necesarias para mantener la infección de hantavirus en un sitio. Por el contrario, poblaciones de reservorio con estructuras de edades juveniles y de alto

recambio poblacional mostrarían baja tasas de infección de hantavirus, lo que ocurre en poblaciones marginales en la periferia del rango de la especie reservorio (Calisher y col., 2001). Este mecanismo podría ser una explicación alternativa a la focalidad observada en infecciones de hantavirus y a las prevalencias que pueden fluctuar entre 0 a 60% en una escala regional (Calisher y col., 2001). Recientemente, una hipótesis alternativa de la mantención de hantavirus que producen FHSR se ha sugerido basado en un modelo epidemiológico con datos de campo, y es la transmisión del virus por ambientes contaminados que le permitirían alcanzar a un huésped susceptible sin la presencia física de un roedor infectado (Sauvage y col., 2003).

En Chile el SPH es una enfermedad endémica para el hombre en el sur de Chile (Baró y col., 1999) que puede transformarse cada ciertos periodos de tiempo en epidémica a consecuencia de incrementos en las poblaciones de roedores como resultados del aumento de recursos alimentarios derivados de la semillación de una bambúcea conocida como quila (*Chusquea* spp.), que favorece el contacto entre humanos y roedores (Murúa y col., 2003). La modificación del paisaje por la fragmentación de la masa boscosa del sur chileno, favorece el desarrollo de esta bambúcea que es muy agresiva en su desarrollo, cubriendo inicialmente todo el espacio disponible y expandiendo su distribución en los bordes y al interior de los fragmentos de bosque.

Las investigaciones epidemiológicas han ligado la exposición al virus a una serie de actividades al aire libre tanto de trabajo como recreacionales. La exposición al interior de edificios como graneros, bodegas, cabañas, casas habitación se han considerado como invasiones de los roedores para evitar las condiciones frías o para nidificar. Sin embargo secuencias genéticas de virus en el roedor habitante próximos a los casos pacientes han mostrado una estrecha asociación entre los virus de estos (Schmaljohn y Hjelle, 1997; Hart y Bennett, 1999; Calderón y col., 1999). En la patagonia Argentina se demostró identidad en un 100% del nucleótido entre el virus presente en el roedor

*O. longicaudatus* capturado en el hogar del paciente enfermo por SPH (Cantoni y col., 2001). Por otra parte, se ha observado que los roedores capturados en edificios y habitaciones humanas constituyen mayor riesgo de infección al hombre (Hjelle y Glass, 2000). Es así como en un estudio realizado en la región de cuatro esquinas de Estados Unidos, la enorme mayoría de los casos pacientes con antecedentes de exposición, estos fueron en ambientes de interiores de edificios. (Hjelle y Glass, 2000). En Canadá se encontró que roedores reservorios de virus SN (*P. maniculatus*) son atraídos a los edificios donde encuentran suministro de alimento concentrado, un moderado microclima, lo que transforma a esta variable (edificio) en una estadísticamente significativa con la incidencia del virus. (Langlois y col., 2001). En las colectas de roedores realizadas en Chile en el área peri doméstica al caso paciente, su casa y bodegas aledañas, se han capturados un mayor número de individuos reservorios (*O. longicaudatus*) positivos a Virus AND (Murúa y col., 2003).

## PATOGENIA

El roedor huésped una vez infectado, secreta y elimina el virus por prolongados períodos probablemente durante toda su vida. (Mc Caughey y Hart, 2000).

Al parecer la presencia del virus en el huésped no provoca ninguna desventaja en su sobrevivencia ni de ningún efecto perjudicial o de adecuación reproductiva. Así, infecciones experimentales con virus SN en *Peromyscus maniculatus* no afectaron la función respiratoria aun bajo condiciones de baja presión atmosférica (O'Connors y col., 1997). Sin embargo, existen informes que han sido controvertidos ya que autores han señalado cambios histopatológicos asociados a la infección en *Peromyscus leucopus* con virus NY (presencia de células mononucleares y edema del septum alveolar) como parte de un posible modelo animal (Lyubsky y col., 1996) y en *Peromyscus maniculatus* (Netski y col., 1999).

El hombre y animales diferentes al reservorio natural son huéspedes incidentales (camino sin salida) y sin ninguna importancia en la

transmisión o evolución de los hantavirus (Mc Caughey y Hart, 2000).

La disfunción vascular parece ser el principal daño que desencadena tanto en la FHSR como en el SPH derivado de la interacción con la beta-3- integrinas que regulan la permeabilidad vascular y la función de las plaquetas (McCaughey y Hart, 2000). Los principales cambios histopatológicos encontrados en el SPH son pseudo neumonitis intersticial con congestión, edema con características de trasudado e infiltración celular de mononucleares con áreas de formación de membrana hialina en un epitelio respiratorio intacto (Zaki y col., 1995). El rol de la respuesta inmune celular en la infección de hantavirus es compleja. Los hantavirus infectan las células sin causar ningún efecto citopático directo, gran número de linfocitos infiltrados se encontraron en biopsias de pacientes de FHRS y de SPH, además de una gran respuesta inflamatoria con células efectoras activadas y niveles altos de citoquinas, por lo que se ha sugerido que la respuesta inmune celular está involucrada en la patogénesis de la enfermedad (Kanerva y col., 1998). Por otro lado, la respuesta inmune celular también parece ser importante para la protección y eliminación de la infección viral, como fue observado en animales. La clarificación de esta paradoja, importante para el tratamiento, como para las medidas preventivas, requiere aun entender los mecanismos que operan en la respuesta protectora y en la respuesta patológica.

Los estudios de seroprevalencia en Sudamérica mostraron porcentajes mayores que los encontrados en Norteamérica y la presencia de poblaciones nativas con alta seroprevalencia que alcanzó en algunos casos al 40% (Ferrer y col., 1998). Otros aspectos importantes de la infección por hantavirus en América del sur son la presencia de un mayor compromiso renal y manifestaciones hemorrágicas, las que se observan más frecuentemente (Schmaljhon y Hjelle, 1997).

Una de las características propias del virus AND, y también informada para el virus Maporal de roedores de Venezuela, es su capacidad de producir la muerte en hamsters, los que desarrollan

una enfermedad histopatológicamente similar a la del humano (Hooper y col., 2001), diferenciándose marcadamente de otros hantavirus, y posiblemente estas características jugarían un rol crucial en la transmisión interhumana.

## DIAGNÓSTICO

La principal herramienta diagnóstica es la prueba serológica. Prueba de ELISA (Enzyme-linked-immunoabsorbent assay) con antígeno recombinante u originario han sido desarrollados en una variedad de ensayos en formatos que incluyen captura para detección de los anticuerpos IgG y de IgM usando nucleocapside de proteínas de diferentes hantavirus (virus SN en Norteamérica, Feldmann y col., 1993), y AND en Sudamérica) (Padula y col., 2000a). La prueba de Elisa -IgG se ha adaptado para ser ejecutada en terreno utilizando como antígeno proteínas de la nucleocapside del virus Andes y en la detección de la unión antígeno anticuerpo correspondió a una anti -IgG *Peromyscus leucopus* y Anti Rat conjugada con peroxidasa (Edelstein, 2003)

El uso del ensayo de tiras de diagnóstico inmunoblot (Western blot) con nucleoproteína del virus SN cuyo sistema de detección de la unión antígeno anticuerpo utiliza un anti IgG *Peromyscus leucopus* conjugada con fosfatasa. Es un método rápido para la prueba de anticuerpo para virus SN que puede ser utilizada en terreno y podría ser aplicada para otros virus (Hjelle y col., 1997). Ambos métodos se han utilizado para capturar roedores seropositivos vivos para la realización de experimentos de transmisión roedor a roedor en un bioterio natural construido siguiendo las indicaciones de Botten y col., 2001, pero adaptadas a las condiciones climáticas lluviosas del sur de Chile (Padula y col., en prensa). La experiencia adquirida en dicho trabajo durante tres años permite asegurar, que el Elisa modificado para terreno tiene mayores ventajas sobre el Western blot. En primer lugar se obtienen resultados sólo después de 3.5 horas, sin requerimiento de energía eléctrica, en cambio, el Western blot necesita entre 6 a 7 horas y además

energía eléctrica para hacer funcionar un rotor de agitación. Se realizaron contramuestras de todas las muestras realizadas en terreno (460) en el Laboratorio de Referencia de la Universidad Austral de Chile con un 100% de coincidencia en los resultados, validándose la técnica para ser utilizada en cualquier investigación con población de roedores (Navarrete y col., 2002). Una importante y sensitiva prueba se ha desarrollado para detectar la infección en suero de roedor en el terreno mediante un inmunosensor amperométrico que utiliza inmunoelectrodos con resultados iniciales prometedores (Vetcha y col., 2002).

Otro método utilizado ampliamente dentro de las pruebas serológicas ha sido la inmunofluorescencia indirecta con virus originarios crecidos en células Vero E6 (Lee y col., 1978). Para la detección del virus y su caracterización, la técnica de mayor utilidad es la reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción reversa (RT-PCR), la cual es altamente sensitiva y específica (Nichol y col., 1993) por el poder que la aproximación molecular le otorga al diagnóstico viral (Mc Caughey y Hart, 2000).

El RNA viral es regularmente detectado en pacientes agudos hasta el día 35 después del inicio de los síntomas en sangres u órganos. Una región suficientemente conservada de la nucleoproteína N y una región que codifica para la glicoproteína G2 del segmento viral M son las que rutinariamente se amplifican por técnica de RT-PCR para la detección genómica viral en sangre de pacientes con SPH, así como en órganos de roedores. La amplificación del segmento genómico S, es decir, la nucleoproteína permite conocer si se trata de hantavirus y la amplificación de G2 brinda una primera y rápida caracterización para conocer el origen o la confirmación geográfica del sitio de infección. Sin embargo, la caracterización de al menos los segmentos genómicos S y M completos se hace necesario para el completo entendimiento de las propiedades genéticas de un virus, las que a su vez permiten relacionar las propiedades biológicas distintivas asociadas (Padula y col., 2002b).

En estudios de contactos se reciben normalmente muestras antes del comienzo de los síntomas y durante un estudio se logró amplificar

RNA viral en muestras de 7 días previos al inicio de la enfermedad es decir durante el período de incubación viral (Padula y col., 2000a).

Sin embargo, no se logró amplificar genoma viral en muestras de 10 y 26 días previos a la enfermedad. Estos resultados demuestran que esta poderosa tecnología puede ser utilizada para decidir tempranamente terapias antivirales. Para este fin es necesario recordar la importancia de la calidad de la muestra, especialmente en el cumplimiento de la cadena de frío, en el transporte y la utilización de tubos nuevos y estériles para la toma de la muestra dada la labilidad de la molécula de RNA.

En muestras de roedores, los mismos fragmentos genómicos mencionados anteriormente son rutinariamente amplificados en los animales con serología positiva, con el fin de caracterizar el virus circulante. En algunos de los roedores aunque serológicamente negativos, puede amplificarse RNA viral por estar en el período agudo de la infección y tener virus circulante (Suarez y col., 2003).\*

## PREVENCIÓN Y CONTROL DE ROEDORES

Las características de la enfermedad SPH y el mayor conocimiento que se ha logrado han alertado a los organismos responsables de la salud pública sobre la necesidad de campañas de prevención que se sustentan en medidas básicas de limpieza e higiene, dado que se conoce que los hantavirus son virus envueltos susceptibles a la mayoría de los desinfectantes (cloro, detergentes o desinfectantes hogareños) (Mills y col., 2002). En lugares cerrados estos virus pueden permanecer viables hasta una semana, dependiendo de las condiciones del ambiente y quizás horas a la luz solar (Schmaljhon y col., 1999). Otro aspecto importante es mantener a los roedores alejados de los lugares de actividad humana y en este sentido existen métodos simples y económicos que han mostrado ser los más efectivos en prevenir la entrada de los

roedores a las viviendas (Glass y col., 1997), lo que es clave, ya que en un reciente estudio, se demostró que si los roedores residentes se remueven de una vivienda sin prevenir la re-entrada, casi inmediatamente son reemplazados por otros del exterior, por lo que simultáneamente es necesario cerrar el lugar para evitar la reinfestación (Douglass y col., 2003). Hay que tener presente, sin embargo, que la erradicación de los huéspedes reservorios de hantavirus no es posible ni deseable por su importancia en la funcionalidad de los ecosistemas naturales.

Hay disponible un extenso y detallado documento con recomendaciones para la prevención de la enfermedad por hantavirus que fue publicado recientemente por el CDC y puede ser consultado libremente en Internet\*\*.

Las medidas más efectivas de evitar la enfermedad por hantavirus es evitar el contacto del hombre con los roedores y elementos contaminados con sus fluidos. Un primer paso en tal dirección es poder predecir cambios en las abundancias de los reservorios huéspedes de acuerdo a claves que indiquen estos cambios asociados a perturbaciones ambientales de duración limitada (Engelthaler y col., 1999). El aumento de los patrones de precipitaciones derivado del fenómeno de El Niño desencadenaría la llamada hipótesis de la cascada trófica en la cual los eventos meteorológicos afectarían la vegetación y poblaciones de invertebrados que aumentaría las poblaciones de roedores (Parmenter y col., 1999) y además tendría un efecto importante en los depredadores (Jaksic, 2001). Sin duda el efecto de El Niño altera las condiciones meteorológicas a lo largo de Chile, pero su efecto es mayor en las zonas áridas y semiáridas del norte y centro, que del sur del país. En estas zonas existen otras claves ambientales que están ligadas a fenómenos de semillación masivos que ocurren en una Bambúcea del género *Chusquea* en forma cíclica y que produce importantes aumentos de roedores huésped del Hantavirus (Murúa y col., 1996; Murúa y col., 2003).

En conclusión, la emergencia de enfermedades humanas y animales debe ser analizada en el amplio contexto de factores ambientales, ecológicos, tecnológicos y hasta sociológicos, cuyos efectos son

\* <http://memorias.ioc.fiocruz.br/4770.pdf>.

\*\* <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5109a1.htm>.

primariamente alteraciones demográficas de huéspedes infectados y susceptibles. Este complejo conjunto de influencias interrelaciona con la lotería genética de mutaciones virales generadas durante la replicación, las cuales son inevitables e impredecibles.

Además, es imprescindible concientizar la necesidad de realizar una vigilancia de virus que infectan asintóticamente o bien que causan enfermedad aguda o crónica, incluyendo a la capacidad que estos tienen para modificar el reconocimiento del receptor y el tropismo celular del huésped, como prioridad para la prevención de la emergencia de la enfermedad humana.

Al comparar el estado actual del conocimiento de los hantavirus que más casos humanos han provocado en Norte América, virus Sin Nombre (SN), y en el Cono Sur de América, virus Andes (AND), se pueden establecer diferencias y similitudes. Entre las diferencias más marcadas está la existencia de transmisión persona a persona descrita en Argentina y Chile y la existencia de un mayor porcentaje de casos de niños menores de 11 años observada por infección de virus AND. Además se ha observado diferencia en el mecanismo de transmisión de la enfermedad entre los roedores reservorios en que las mordeduras entre machos, se postula en virus SN y contacto físico derivado de conducta social de los roedores en virus AND siendo la saliva el principal vehículo. Finalmente hay claras diferencias en las células y tejidos infectados, así células neuronales fueron detectadas por inmunohistoquímica en infecciones por virus AND.

Entre las similitudes observadas está la vía de infección que es la respiratoria por aerosoles y la mayor infectividad que se observa en ambientes cerrados (cabañas de veraneo, graneros, bodegas) oscuros. Ambas pueden infectar por derrame (spill-over) a otras especies de roedores que coexisten en el hábitat.

Se requieren más datos sobre la geografía, ecología y evolución de los diferentes reservorios

primarios para clarificar el estado taxonómico de los diferentes linajes de virus junto con reacciones de neutralización cruzadas entre los distintos linajes y cepas virales.

## RESUMEN

Los hantavirus tienen huéspedes especie específicos pertenecientes a una familia común Muridae con tres sub familias, dos de ellas Murinae y Arvicolinae que se distribuyen en áreas geográficas de Europa Asia y Oceanía con un género Arvicolinae en América del Norte y la Sub familia Sigmodontinae en Centro América y Sudamérica. Estudios de la filogenia del huésped y el virus muestran fuertes similitudes al ser comparados, lo que sugiere una asociación de mucha más larga data con un proceso de coevolución entre el agente infeccioso y sus huéspedes roedores. La historia de la tierra y los procesos tectónicos y climáticos que afectaron al continente en épocas pretéritas son relevantes para comprender la actual distribución de los reservorios huéspedes y sus parásitos.

Se entregan antecedentes biogeográficos de los roedores con la distribución geográfica de los hantavirus en Sudamérica, análisis filogenético de los virus, epidemiología molecular que sustentan la propuesta que el virus y el roedor han coevolucionado antes del momento de separarse la Familia Muridae en subfamilias (Murinae, Arvicolinae y Sigmodontinae) y anterior al ingreso de los roedores sigmodontinos al continente sudamericano.

Se discute la dificultad en demarcar especie nueva de hantavirus y la existencia de varios linajes con diferencias pequeñas entre si para ser consideradas como especies virales. Se describen diferencias y similitudes entre las dos especies de hantavirus que más casos han producido en América del Norte (virus Sin Nombre) y en el Cono Sur de América (Virus Andes).

BIBLIOGRAFIA

- ABBOTT, K. D., T. G. KSIAZEK, J. N. MILLS. 1999. Long-term Hantavirus persistence in rodent populations in central Arizona. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 102-112.
- ALMIRÓN, M., U. DRECHSEL, S. MIGUEL, P. MARTÍNEZ, N. COLUCHI, I. DE GUILLÉN, P. PADULA. 2003. Estudio de reservorio de virus hanta en Paraguay. In press. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*.
- BARO, M., J. VERGARA, M. NAVARRETE. 1999. Hantavirus en Chile: revisión y análisis de casos desde 1975. *Rev. Méd. Chile* 127:1513-23.
- BEGON, M., S. M. HAZEL, D. BAXBY, K. BOWN, R. CAVANAGH, J. CHANTREY, T. JONES, M. BENNETT. 1999. Transmission dynamics of zoonotic pathogen within and between wildlife host species. *Proc. R. Soc. Lond. B* 266: 1939-1945.
- BHARADWAJ, M., J. BOTTEN, N. TORREZ-MARTINEZ, B. HJELLE. 1999. Rio Mamore virus: genetic characterization of a newly recognized hantavirus of the pygmy rice rat, *Oligoryzomys microtis*, from Bolivia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 57:368-74.
- BOTTEN, J., R. NOFCHISSEY, H. KIRKENDOLL-AHERN, P. RODRIGUEZ-MORAN, I. A. WORTMAN, D. GOADE, T. YATES, and B. HJELLE. 2000. Outdoor facility for quarantine of wild rodents infected with hantavirus. *J. Mammal.* 81:250-259.
- BRIGGS, J. C. 1994. The genesis of Central America: Biology versus geophysics. *Global Ecology and Biogeography Letters.* 4:169-172.
- BROWN, J. H., M. V. LOMOLINO. 1998. *Biogeography*. 2<sup>nd</sup> ed., Sinauer Associates, Inc., Sunderland, USA.
- CALISHER, C. H., J. N. MILLS, W. P. SWEENEY, J. R. CHOATE, D. E. SHARP, K. M. CANESTORP, B. J. BEATY. 2001. Do unusual site-specific population dynamics of rodent reservoirs provide clues to the natural history of Hantavirus?. *J. Wildlif. Dis.* 37: 280-288.
- CALISHER, C. H., W. P. SWEENEY, J. N. MILLS, B. J. BEATY. 1999. Natural history of Sin Nombre virus in western Colorado. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 126-134.
- CANTONI, G., P. PADULA, G. CALDERON, J. N. MILLS, E. HERRERO, P. P. SANDOVAL, V. MARTINEZ, N. PINI, E. LARRIEU. 2001. Seasonal variation in prevalence of antibody to hantaviruses in rodents from southern Argentina. *Trop. Med. Int. Health.* 6:811-6.
- CHIAPPERO, M. B., G. E. CALDERON, C. N. GARDENAL. 1997. *Oligoryzomys flavescens* (Rodentia, Muridae): gene flow among populations from central-eastern Argentina. *Genetica.* 101: 105-113.
- CHILDS, J., R. BRYAN. 1999. HPS in the Americas. In: *Manual of Hemorrhagic fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome*, 63-73. WHO. Collaborating Center for Virus Reference and Research.
- DASZAK, P., A. A. CUNNINGHAM, A. D. HYATT. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife threats to biodiversity and human health. *Science.* 287:443-449.
- DE JONG, M. C. M., O. DIEKMANN, J. A. P. HESTERBREEK. 1995. How does transmission of infection depend on population size?. In: D. Mollison (ed) *Epidemic models: their structure and reation to data* 84-94. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- D'ELIA, G. 2003. Phyllogenetics of Sigmodontinae (Rodentia, Muroidea, Cricetidae) with special reference to akodon group and with additional comments on historical biogeography. *Cladistic.* 19: 307-323.
- DELFRARO, A., M. CLARA, L. TOME, F. ACHAVAL, S. LEVIS, G. CALDERON, D. ENRIA, M. LOZANO, J. RUSSI, J. ARBIZA. 2003. Yellow pigmy rice rat (*Oligoryzomys flavescens*) and hantavirus pulmonary syndrome in Uruguay. *J. Emerg. Infect. Dis.* 9:846-52.
- DIFFENDORFER, J. E., M. S. GAINES, R. D. HOLT. 1995. Habitat fragmentation and movements if three small mammals (*Sigmodon*, *Microtus* and *Peromyscus*). *Ecology.* 76: 827- 839.
- DOBSON, A. P., P. J. HUDSON. 1995. Microparasites: observed patterns in wild animal populations. In: Grenfell, BT, AP Dobson (eds) *Ecology of infectious diseases in natural populations* 52-89. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- DOUGLASS, R. J., T. WILSON, W. J. SEMMENS, S. N. ZANTO, C. W. BOND, R. C. VAN HORN, J. N. MILLS. 2001. Longitudinal studies of Sin Nombre virus in deer mouse-dominated ecosystems of Montana. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65: 33-41.
- DUCHIN, J. L., F. KOSTER., C. J. PETERS, G. L. SIMPSON, B. TEMPEST, S. R. SAKI, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN, S. NICHOL, U. T. UMLAND, R. L. MOOLENAAR, S. E. REEF, K. B. NOLTE, M. M. GALLHER, J. C. BUTLER,

- R. F. BREIMAN, THE HANTAVIRUS STUDY GROUP. 1994. Hantavirus pulmonary syndrome: a clinical description of 17 persons with a newly recognized disease. *N. Engl. J. Med.* 330:949-955.
- DOUGLASS, R. J., A. J. KUENSI, C. Y. WILLIAMS, S. J. DOUGLASS, J. N. MILLS. 2003. Removing deer mice from buildings and the risk for human exposure to Sin Nombre virus. *Emerg. Infect. Dis.* 9:390-392.
- EDELSTEIN, A. 2003. Caracterización genética de un nuevo hantavirus causante de Síndrome Pulmonar en Sudamérica. Tesis Doctoral de la Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- ENGEL, S. R., K. M. HOGAN, J. F. TAYLOR, S. K. DAVIS. 1998. Molecular systematics and paleobiogeography of the South American sigmodontine rodents. *Mol. Biol. Evol.* 15:224.
- ENGELTHALER, D. M., D. G. MOSLEY, J. E. CHEEK, C. E. LEVY, K. K. KOMATSU, P. ETTESTAD, T. DAVIS, T. T. DALE, L. MILLER, J. W. FRAMPTON, R. PORTER, R. T. BRYAN. 1999. Climatic and environmental patterns associated with Hantavirus pulmonary syndrome, Four Corners Region, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 87-94.
- ENRIA, D., P. PADULA, E. L. SEGURA, N. PINI, A. EDELSTEIN, C. RIVA POSSE, M. C. WEISENBACHER. 1996. Hantavirus pulmonary syndrome in Argentina. Possibility of person-to-person transmission. *Medicina.* 56: 709-711.
- FERRER, J. F., C. B. JONSSON, E. ESTEBAN, D. GALLIGAN, M. A. BASOMBRIO, M. PERALTA-RAMOS, J. M. BHARADWA, N. TORREZ-MARTINEZ, J. CALLAHAN, A. SEGOVIA, B. HJELLE. 1998. High prevalence of hantavirus infection in Indian communities of the Paraguayan and Argentinean Gran Chaco. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 59: 438-44.
- GAYET, M., J. C. RAGE, T. SEMPERE, P. Y. GAGNER. 1992. Modes of interchanges of continental vertebrates between North and South America during late Cretaceous and Paleocene. *Bulletin de la Société écologique de France.* 163: 781-791.
- GLASS, G. E., T. L. YATES, J. B. FINE, T. M. SHIELDS, J. B. KENDALL, A. G. HOPE, CH. A. PARMENTER, C. J. PETERS, T. G. KSIAZEK, CH. SH. LI, J. A. PATZ, J. N. MILLS. 2002. Satellite imagery characterizes local animal reservoir populations of Sin Nombre virus in the southwestern United States. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99:16817-16822.
- GONZALEZ, L., A. H. GAETE, C. JOFRE. 1990. Variación estacional de los patrones conductuales en *Oryzomys longicaudatus* y *Akodon olivaceus* en encuentros intraespecíficos e interespecíficos. *Bol. Soc. Biol. Concepción*, Chile. 61:63-70.
- GONZALEZ DELLA VALLE, M. A. EDELSTEIN, S. MIGUEL, P. MARTINEZ, J. CORTEZ, M. M. CACACE, G. JURGETENAS, S. SOSA ESTANI, P. PADULA. 2002. Andes virus associated with HPS in northern Argentina and determination of the precise site of infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 66: 713-20.
- GROEN, J., M. N., GERDING, J. G. M. JORDANS, N. P. CLEMENT., J. H. M. NIEUWENHAIJS, A. D. M. E. OSTERHAUS. 1995. Hantavirus infections in the Netherlands: epidemiology and disease. *Epidemiol. Infect.* 114:372-383.
- HALLIN, G. W., S. Q. SIMPSON, R. E. CROWELL, D. S. JAMES, F. T. KOSTER, G. J. MERTZ, H. LEVY. 1996. Cardiopulmonary manifestations of hantavirus pulmonary syndrome. *Crit. Care. Med.* 24:252-8.
- HART, C. A., M., BENNETT. 1994. Hantavirus: an increasing problem?. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 88:347 - 358
- HART, C. A., M., BENNETT. 1999. Hantavirus infection: epidemiology and pathogenesis. *Microbes and Infection.* 1: 1229-1237.
- HJELLE, B., S. JENISON, N. TORREZ-MARTINEZ, B. HERRING, S. QUAN, A. POLITO, S. PICHUANTES, T. YAMADA, C. MORRIS, F. ELGH, H. W. LEE, H. ARTSOB, R. DINELLO. 1997. Rapid and specific detection of Sin Nombre virus antibodies in patients with hantavirus pulmonary syndrome by a strip immunoblot assay suitable for diagnosis. *J. Clin. Microbiol.* 35: 600-608.
- HJELLE, B., G. E. GLASS. 2000. Outbreak of Hantavirus infection in the Four Corner Region of the United States in the Wake of the 1997-1998 El Niño-Southern Oscillation. *J. Infect. Dis.* 181: 1569-1573.
- HOLMES, E. C. 2003. Molecular clocks and the puzzle of RNA virus origins. *J. Virol.* 77:3893-3897.
- HOOVER, J. W., T. LARSEN, D. M. CUSTER, C. S. SCHMALJOHN. 2001. A lethal disease model for hantavirus pulmonary syndrome. *Virology.* 289:6-14.
- JAKSIC, F. M. 2001. Ecological effects of El Niño in terrestrial ecosystems of western South America. *Ecography.* 24:241-250.
- JOHNSON, A. M., M. D. BOWEN, T. G. KSIAZEK, R. J. WILLIAMS, R. T. BRYAN, J. N. MILLS, C. J. PETERS, S. T. NICHOL. 1997. Laguna

- Negra virus associated with HPS in Western Paraguay and Bolivia. *Virology*. 238: 115-127.
- JOHNSON, A., L.T. DE SOUZA, I.B. FERREIRA, L. E. PEREIRA, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN, C. J. PETERS, S. T. NICHOL. 1999. Genetic investigation of novel hantaviruses causing fatal HPS in Brazil. *J. Med. Virol.* 59:527-535.
- KANERVA, M., J. MUSTONEN, A. VAHERI. 1998. Pathogenesis of Puumala and other hantavirus infections. *Rev. Med. Virol.* 8: 67-86.
- KIM, G. R., Y. T. LEE, C. H., PARK. 1994. A new natural reservoir of hantavirus: isolation of hantaviruses from lung tissue of bats. *Arch. Virol.* 134:85-95.
- LANGLOIS, J. P., L. FAHRIG, G. MERRIAM, H. ARTSOB. 2001. Landscape structure influences continental distribution of Hantavirus in deer mice. *Landscape Ecology*. 16:255-266.
- LEE, H. W., P. W. LEE, K. M. JOHNSON. 1978. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* 137:298-308.
- LEVIS, S., S. MORZUNOV, J. ROWE, D. A. ENRIA, N. PINI, G. CALDERON, M. SABATTINI, S. C. S. T. JEOR. 1998. Genetic diversity and epidemiology of hantaviruses in Argentina. *J. Infect. Dis.* 177: 529-538.
- LOPEZ, N., P. PADULA, C. ROSSI, M. E LAZARO, M. T. FRANZE-FERNANDEZ. 1996. Genetic identification of a new hantavirus causing severe pulmonary syndrome in Argentina. *Virology*. 220: 223-226.
- LÓPEZ, N., P. PADULA, C. ROSSI, S. MIGUEL, A. EDELSTEIN, E. RAMÍREZ, M. T. FRANZE-FERNÁNDEZ. 1997. Genetic characterization and phylogeny of Andes virus and variants from Argentina and Chile. *Virus Res.* 50: 77-84.
- LUNDKVIST, A., B. NIKLASSON. 1994. Haemorrhagic fever with renal syndrome and other hantavirus infections. *Rev. Med. Virol.* 4: 177-184.
- LUO, Z. Z. 1985. Isolation of hemorrhagic fever virus from a cat. *Clin. J. Microbiol. Immunol.* 5: 79-81.
- LYUBSKY, S., I. GAVRILOVSKAYA, B. LUFT, E. MACKOW. 1996. Histopathology of *Peromyscus leucopus* naturally infected with NY-1 hantaviruses: pathogenic markers of HPS viral infection in mice. *Lab. Invest.* 74:627-633.
- MARSHALL, L. G. 1979. A model for paleobiogeography of South America cricetine rodents. *Paleobiology*. 5:126-132.
- MARTINEZ, V. P., S. COLAVECCHIA, M. GARCIA ALAY. 2001. Síndrome pulmonar por hantavirus en la provincia de Buenos Aires. *Medicina.* 61:147-56.
- McCAUGHEY, C., C. A. HART. 2000. Hantaviruses. *J. Med. Microbiol.* 49:587-589.
- MCKEE, K. T. J., J. W. LEDUC, C. J. PETERS. 1991. Hantaviruses. In: R. B. Belshe (ed) *Text book in human virology*, pp. 615 – 632. 2<sup>nd</sup> edition St. Louis Moshby year book.
- MENDES, W. S., M. J. ARAGAO, H. J. SANTOS, L. RAPOSO, P. F. VASCONCELOS, E. S. ROSA, M.R. ELKHOURY. 2001. Hantavirus pulmonary syndrome in Anajatuba, Maranhao, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 43:237-240.
- MERTZ, G. J., P. A. VIAL. 2000. Emergencia del Síndrome cardio pulmonar por Hantavirus en las Américas. *Rev. Chil. Infect.* 17:181-185.
- MILAZZO, M. L., E. J. EYZAGUIRRE, C. P. MOLINA, C. F. FULHORST. 2002. Matorial viral infection in the Syrian golden hamster: a model of hantavirus pulmonary syndrome. *J. Infect. Dis.* 186:1390-1395.
- MILLS, J. N., T. YATES, T. G. KSIAZEK, C. J. PETERS, J. E. CHILDS. 1999a. Long term studies of Hantavirus reservoir populations in the southwestern United States: Rationale, Potential and Methods. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 95-101.
- MILLS, J. N., T. G. KSIAZEK, G. J. PETERS, J. E. CHILDS. 1999b. Long term studies of Hantavirus reservoir populations in southwestern United States. A synthesis. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 135-142.
- MILLS, J. N., A. CORNELI, J. C. YOUNG, L. E. GARRISON, A. S. KHAN, T. G. KSIAZEK. 2002. Hantavirus pulmonary syndrome-United States: updated recommendations for risk reduction. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm. Rep.* 51(RR-9):1-12.
- MORENO, P. C. VILLAGRÁN, P. A. MARQUET, L. G. MARSHALL. 1994. Quaternary paleobiogeography of northern and Central Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 67:487-502.
- MORZUNOV, S. P., J. D. BOONR, C. BOHLMAN, S. LEVIS, E. KUHN, D. ENRIA, S.C. St. JEOR. 2001. Conference, Virus Phylogeny, Replication and Morphogenesis.
- MURUA, R., L. A. GONZALEZ, M. GONZALEZ, C. JOFRE. 1996. Efectos del florecimiento del arbusto *Chusquea quila* Kunth (Poacea) sobre la demografía de poblaciones de roedores de los bosques templados frios del sur chileno. *Bol. Soc. Biología.* 67: 37-42.
- MURUA, R., M. NAVARRETE, R. CADIZ, R. FIGUEROA, P. PADULA, L. ZAROR, R. MANSILLA, L. A. GONZALEZ, Y. A. MUÑOZ-PEDREROS. 2003. Síndrome Pulmonar por Hantavirus: situación de los roedores reservorios

- y la población humana en la décima Region, Chile. *Rev. Méd. Chile.* 131:169-176.
- NAVARRETE, M., R. FIGUEROA, R. CADIZ, P. PADULA. 2001. Técnicas de diagnóstico serológico en terreno para diagnóstico de hantavirus para roedores silvestres. Primer Curso de Actualización en infección por Hantavirus, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, noviembre.
- NETSKI, D., B. H. THIRAN, S. C. ST. JEOR. 1999. Sin Nombre virus pathogenesis in *Peromyscus maniculatus*. *J. Virol.* 73: 585-591.
- NICHOL, S. T., C. F. SPIROPOULOU, S. MORZUNOV, P. E. ROLLIN, T. G. KSIAZEK, H. FELDMANN, A. SANCHEZ, J. CGILDS, S. ZAKI, C. J. PETERS. 1993. Genetic identification of a novel hantavirus associated with an outbreak of acute respiratory illness in the southwestern United States. *Science.* 262:914-917.
- O'CONNOR, C. S., J. P. HAYES, S. C. ST. JEOR. 1997. Sin Nombre virus does not impair respiratory function of wild deer mice. *J. Mammal.* 78: 661-668.
- PADULA, P. J., A. EDELSTEIN, S. D. MIGUEL, N. M. LOPEZ, C. M. ROSSI, R. D. RABINOVICH. 1998. Hantavirus pulmonary syndrome outbreak in Argentina: Molecular evidence for person-to-person transmission of Andes virus. *Virology.* 241: 323-330.
- PADULA, P. J., S. B. COLAVECCHIA, V. P. MARTÍNEZ, M.-O. GONZÁLEZ DELLA VALLE, A. EDELSTEIN, S. D. MIGUEL, J. RUSSI, J. M., RIQUELME, N. COLUCCI, R. D. RABINOVICH. 2000a. Genetic diversity, distribution, and serological features of hantavirus infection in five countries in South America. *J. Clin. Microbiol.* 38:3029-3035.
- PADULA, P. J., C. M. ROSSI, M. O. GONZÁLEZ DELLA VALLE, V. P. MARTÍNEZ, S. B. COLAVECCHIA, A. EDELSTEIN, S. D. MIGUEL, R. D. RABINOVICH, E. L. SEGURA. 2000b. Development and evaluation of a solid-phase enzyme immunoassay based on Andes hantavirus recombinant nucleoprotein. *J. Med. Microbiol.* 49:149-155.
- PADULA, P., M. GONZÁLEZ DELLA VALLE, M. GARCÍA ALAI, P. CORTADA, M. VILLAGRA, A. GIANELLA. 2002a. Andes hantavirus in Bolivia and first case-report of Bermejo virus causing fatal pulmonary syndrome. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 437-439.
- PADULA, P. J., A. J. SANCHEZ, A. EDELSTEIN, S. T. NICHOL. 2002b. Complete nucleotide sequence of the M RNA segment of Andes virus and analysis of the variability of the termini of the virus S, M and L RNA segments. *J. Gen. Virol.* 83:2117-2122.
- PADULA, P., R. FIGUEROA, R. CADIZ, C. BELLOMO, C. JOFRE, M. NAVARRETE, E. PIZARRO, L. ZAROR, E. RODRIGUEZ, R. MURÚA. Experimental study in the transmission of Andes hantavirus infection in wild sigmodontine rodents. *J. Virol.* (in press 2004).
- PARDIÑAS, U. F. J., G. D'ELIA, P. F. ORTIZ. 2002. Sigmodontinos fósiles (Rodentia, Muroidea, Cricetidae) de América del Sur: estado actual de su conocimiento y propectiva. *Mastozoología Neotropical.* 9:209-252.
- PARMENTER, R. R., E. P. YYADAV, C. A. PARMENTER, P. ETTESTAD, K. L. GAGE. 1999. Incidence of plague associated with increased winter-spring precipitation in New Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 61:814-821.
- PAVLETIC, P. 2000. Hantavirus: Su distribución geográfica entre los roedores silvestres de Chile. *Rev. Chil. Infect.* 17: 186-196.
- PINNA, D. M., V. P. MARTÍNEZ, C. BELLOMO, C. LOPEZ, P. PADULA. 2004. Nueva evidencia epidemiológica y molecular a favor de la transmisión interhumana para el linaje Sout del hantavirus Andes. *Medicina.* 64: 43-46.
- REIG, O. 1981. *Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. Monografía Naturae.* Publicado Museo Municipal de Ciencias naturales Lorenzo Scaffia. Mar del Plata, Argentina.
- REIG, O. 1986. Diversity patterns and differentiation of high andean rodents. In F. Vuilleumier and M. Monasterio (eds), *High Altitude Tropical Biogeography* 404-439. Oxford University Press, Inc., New York.
- SAUVAGE, F., M. LANGLAIS, N. YOCCOZ, D. POINTIER. 2003. Modelling hantavirus in fluctuating populations of bank voles: the role of indirect transmission on virus persistence. *J. Anim. Ecol.* 72: 1-13.
- SCHMALJOHN, C. S. 1996. Bunyaviridae: The viruses and their replication. In B. N. Fields, D. M. Knipe, and P. M. Howley (ed.), *Fields virology.* Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
- SHMALJOHN, C., B. HJELLE. 1997 Hantaviruses: A Global Disease Problem. *Emerg. Infect. Dis.* 3: 95-104.
- SCHMALJOHN, C., J. HUGGINS, CH. CALISHER. 1999. Laboratory and field safety. In: Lee HW, Calisher CH, Schmaljohn C, eds. *Manual of hemorrhagic fever with renal syndrome and*

- hantavirus pulmonary syndrome*. Seoul, Korea: WHO Collaborating Center for Virus Reference and Research (Hantaviruses), Asan Institute for Life Sciences, pp. 192-198.
- SLONOVA, R. A., E. A. THACHENKO, E. L. KUSHNAREV, T. K. DZAGUROVA, T. I. ASTAKOVA. 1992. Hantavirus isolation from birds. *Acta Virol.* 36:192.
- SPOTORNO, A. E., R. E. PALMA, J. P. VALLADARES. 2000. Biología de roedores reservorios de hantavirus en Chile. *Rev. Chil. Infect.* 17: 197-210.
- SUÁREZ, O. V., G. R. CUETO, R. CAVIA, I. E. GÓMEZ-VILLAFÑE, D. N. BILENCA, A. EDELSTEIN, P. MARTÍNEZ, S. D. MIGUEL, C. BELLOMO, K. HODARA, P. J. PADULA, M. BUSCH. 2003. Prevalence of Infection with Hantavirus in Rodent Populations of Central Argentina. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 98: 727-732.
- TANG, Y. W., Z. Y., XU., Z. Y., ZHU, T. J. TSAI. 1985. Isolation of haemorrhagic fever with renal syndrome from *Suncus murinus* on insectivore. *Lancet.* 1(8427): 513-514.
- TORO J., J. VEGA, A. S. KHAN, J. N. MILLS, P. PADULA, W. TERRY, Z. YADON, R. VALDERRAMA, B. A. ELLIS, C. PAVLETIC, R. CERDA, S. ZAKI, W. J. SHIEH, R. MEYER, M. TAPIA, C. MANSILLA, M. BARO, J. A. VERGARA, M. CONCHA, G. CALDERON, D. ENRI, C. J. PETER, T. G. KSIAZEK. 1998. An outbreak of Hantavirus Pulmonary Syndrome, Chile, 1997. *Emerg. Infect. Dis.* 4: 687-694.
- VAUGHAN, T. A. 1972. *Mammalogy*. W.B. Saunders. Philadelphia. USA.
- VETCHA, S., E. WILKINS, T. YATES, B. HJELLE. 2002. Rapid and sensitive handheld biosensor for detection of hantavirus antibodies in wild mouse blood samples under field conditions. *Talanta.* 58: 517-528.
- VINCENT M. J., E. QUIROZ, F. GRACIA, A. J. SANCHEZ, T. G. KSIAZEK, P. T. KITSUTANI, L. A. RUEDAS, D. S. TINNIN, L. CACERES, A. GARCIA, P. E. ROLLIN, J. N. MILLS, C. J. PETERS, S. T. NICHOL. 2000. Hantavirus pulmonary syndrome in Panama: identification of novel hantaviruses and their likely reservoirs. *Virology.* 277:14-19.
- VUILLEUMIER, B. S. 1971. Pleistocene changes in the fauna and flora of South America. *Science* 173:771-780.
- VUILLEMIER, F., D. SIMBERLOF. 1980. Ecology versus history as determinants of patchy and insular distributions in high Andean birds. *Evolutionary Biology.* 12:235-379.
- WEBB, S. D., L. G. MARSHALL. 1982. Historical biogeography of recent South America land mammals. In M.A. Mares and H.H. Genoway (eds), *Mammalian Biology in South America*, 39-52. Special Publication Series 6, Pymatuning Laboratory of Ecology, University of Pittsburgh
- WELLS, R. M., J. YOUNG, R. J. WILLIAMS, L. R. ARMSTRONG, L. K. BUSICO, A. S. KHAN, T. G. KSIAZEK, P. E. ROLLIN S. R. ZAKI, S. T. NICHOL, C. J. PETERS. 1997. Hantavirus transmission in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 3:361-365.
- XIAO, S. Y., J. W. LEDUC, Y. K. CHU, C. S. SCHMALJOHN. 1994. Phylogenetic analyses of virus isolates in the genus Hantavirus, family Bunyaviridae. *Virology.* 198: 205-217.
- ZAKI, S. R., P. W. GREER, L. M. COFFIELD, C. S. GOLSMITH, K. B. NOLTE, K. FOUCAR, R. M. FEDDERSEN, R. E. ZUMWALT, G. L. MILLER, A. S. KHAN, P. E. ROLLIN, T. G. KSIAZEK, S. T. NICHOL, B. W. J. MAHY, C. J. PETERS. 1995. Hantavirus pulmonary syndrome- pathogenesis of an emerging infectious disease. *Am. J. Pathol.* 146: 552-579.