



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD PUBLICA

HANTAVIRUS

Documento técnico: CNLSP/INS
Enfermedades Emergentes y Reemergentes: Hantavirus

Setiembre 1997



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE LABORATORIOS EN SALUD PUBLICA

HANTAVIRUS

Documento técnico: CNLSP/INS
Enfermedades Emergentes y Reemergentes: Hantavirus

Setiembre 1997

- © Copyright Setiembre 1997 INS-PERU
- © Esta publicación puede ser reproducida para fines de difusión, citando la fuente de origen.

HANTAVIRUS

Editores:

Carlos Carrillo MD. PhD
César Cabezas MD. MSc
Ivonne Torres M.Sc
Ricardo López MV, M.Sc
María García TM



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE LABORATORIOS
EN SALUD PÚBLICA

Indice

	Pág
PRESENTACIÓN	5
HANTAVIRUS	6
I Historia	6
II Agente etiológico	6
Morfología	
Organización genética	
III Epidemiología y Ecología	10
Reservorio	
Ecología	
Mecanismos de transmisión	
IV Aspectos clínicos	11
Fiebre hemorrágica con síndrome renal	
Síndrome pulmonar por hantavirus	
V Diagnóstico de Laboratorio	13
VI Tratamiento	14
VII Prevención y control	14
Control de roedores	
Manejo de residuos sólidos	
Control de grupos de riesgo	
Medidas de desinfección en los ambientes	
VIII Precauciones para la manipulación de muestras	17
Precauciones con muestras humanas	
Precauciones con ratones silvestres y de laboratorios	
IX Procedimientos para la manipulación de roedores en áreas endémicas	18
Trampas	
Colecta de roedores	
Transporte de roedores capturados	
Procesamiento de roedores capturados	
Desecho de materiales contaminados	
Procesamiento de muestras en el laboratorio	
X Referencias bibliográficas.	21

PRESENTACIÓN

D

Desde 1984 los países desarrollados del planeta, vienen obsesando las alteraciones climáticas globales, las migraciones poblacionales, las nuevas conductas en el manejo de la tierra, la contaminación del aire, agua y suelo, la cada vez más intensa aparición de enfermedades zoonóticas en los humanos, la era paradójica de los antibióticos, los pesticidas y las enfermedades; diseñando estrategias que se deben ir cumpliendo para estar preparados al reto que el futuro se nos presente como un espectro enfermizo. El Hantavirus así como el virus del Ebola, el virus del SIDA y otros microorganismos no sólo virales, sino también bacterianos, parasitarios o priones hacen su aparición dentro de este contexto. El problema lo tenemos frente a nosotros y también dentro de nuestro territorio. Las enfermedades transmitidas por mosquitos, también están muy vinculadas y se incrementan con el calentamiento global. Los virus benignos pueden sufrir mutaciones en condiciones de malnutrición o desnutrición crónica, apareciendo características de virulencia. Los problemas de salud pública se acentuarían con el Fenómeno del Niño, originando un calentamiento periódico de las aguas tropicales del Pacífico, y que ocasionaría precipitaciones, inundaciones y sequías.

El Hantavirus aparece en 1993 como un síndrome pulmonar (HPS), constituyendo un ejemplo de los efectos del Fenómeno del Niño en la salud pública. El Fenómeno del Niño puede propiciar una explosión de la población de roedores. Debido a que una inusual lluvia primaveral incrementaría la vegetación que alimenta a estos animales. Por ello, en Mayo del presente año el INS con el apoyo de entidades nacionales e internacionales organizó en Lima el CURSO INTERNACIONAL SOBRE ENFERMEDADES VIRALES EMERGENTES. Luego, dentro del proceso de modernización institucional, se inauguró un excelente laboratorio para Virología, y en la actualidad podemos ofrecer al país la seguridad de contar con el método ELISA para la búsqueda de IgM e IgG en suero de pacientes presuntamente infectados con el virus Hanta.

Este documento técnico tiene como objetivo proporcionar información sobre esta enfermedad emergente, que permita su mejor conocimiento y la aplicación de medidas de prevención y control.

Dr. CARLOS CARRILLO PARODI
Jefe del Instituto Nacional de Salud

EL HANTAVIRUS

El hantavirus ha sido asociado como agente etiológico de dos formas agudas de enfermedad: Fiebre Hemorrágica con Síndrome Renal (FHSR) y Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH). Ambas formas de presentación se dan a partir de hantavirus provenientes de roedores que son *los* hospederos. La primera forma de presentación está asociada a roedores del viejo mundo y la segunda a roedores del nuevo mundo. Actualmente hay 6 hantavirus asociados a roedores nativos del viejo mundo (incluyendo 3 que causan FHSR) y ocho entre roedores originarios de América (incluyendo 4 que causan SPH).

HISTORIA

En la década de los 30, ocurrieron epidemias y casos esporádicos de fiebre hemorrágica con síndrome renal que fueron descritos en Eurasia especialmente en Escandinavia y el noreste asiático. Entre J 951- J 954 cientos de militares de las Naciones Unidas fueron afectados con este síndrome durante el conflicto con Corea, y posteriormente ha sido documentada la transmisión entre soldados de la armada Norteamericana destacados en la República de Corea. Previamente la FHSR era como fiebre hemorrágica de Corea, fiebre hemorrágica epidémica y nefropatía epidémica. Otros brotes que eran compatibles con FHSR fueron reportados en 19 J 3 en Rusia y en 1932 en tropas japonesas en Manchuria. En los inicios de 1940 fue sugerida la etiología viral de la FHSR por investigadores rusos y japoneses, que inocularon orina filtrada y suero de pacientes con la enfermedad adquirida naturalmente; pero no fue sino hasta J 978 en que se confirma la presencia del virus en roedores que eran reservorios, como causa de la FHSR. El nombre de virus Hantaan se origina, debido a que *los* casos originales de la enfermedad fueron descritos en la cuenca del río Hantaan en Corea. La propagación del virus en cultivos celulares en J 98 1, dio la oportunidad para el estudio sistemático de este agente patógeno, pues a partir de su aislamiento se han aplicado técnicas de biología molecular para su mejor conocimiento. En mayo de J 993, el departamento de Salud de Nuevo México notificó dos casos de personas con un intervalo de 5 días, de una enfermedad caracterizada por la abrupta instauración de la fiebre, mialgia, cefalea, tos y muerte debidos a un síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA). El 9 de Junio el CDC de "Atlanta-Georgia en EEUU, informó que se estaba frente a un probable nuevo hantavirus. Hasta noviembre de ese año se habían confirmado 42 casos, 26 (62%) de los cuales habían fallecido, en 4 áreas de los Estado Unidos de NA, Nuevo México, Arizona, Colorado y Utah. Se estaba frente a un nuevo hantavirus

Posteriormente se han registrado casos de SPH en Canadá, Brasil, Argentina y posteriormente en Chile, donde en lo que va de 1997 se han registrado 4 casos, siendo uno de los últimos el confirmado en Arica, en la frontera con el Perú.

AGENTE ETIOLOGICO

El género Hantavirus, que pertenece a la familia de *los* Bunyavirus, comprende 14 tipos de virus, incluyendo a los que causan FIEBRE HEMORRAGICA CON SINDROME

RENAL (FHSR) y EL SINDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS (SPH). La familia de los Bunyaviridae se agrupan en 5 géneros: Bunyavirus, Hantavirus, Phlebovirus, Nairovirus, Tospovirus.

Estos géneros son clasificados por sus características estructurales, incluyendo el ARN trisegmentado de polaridad predominantemente negativa. Los Bunyavirus dependen de animales en estado salvaje para su persistencia en la naturaleza, la transmisión de humano a humano generalmente no ocurre pues los humanos son el último huésped; sin embargo, hay evidencias de que esto pueda ocurrir en razón a lo descrito en Argentina en 1996.

☑ **MORFOLOGIA.**

Los virus de la familia Bunyviridae son similares morfológicamente; el tamaño es de 95 a 120 nm, su forma es esférica o pleomórfica, dependiendo de la técnica de fijación. Posee una envoltura compuesta de una doble capa de lípidos que contiene espículas o púas de glucoproteínas alrededor de un core o centro que contiene el genoma asociado a proteínas. Todos los Bunyavirus tienen dos proteínas designadas como G1 y G2, siendo la excepción los Nairovirus que tienen 3 glucoproteínas. Al microscopio electrónico se ve una doble capa de lípidos que es de 4 a 5 nm de grosor y las espículas de 8 a 10 nm de largo.

☑ **ORGANIZACION GENETICA.**

Los Bunyavirus tienen una simple cadena de ARN como genoma de polaridad negativa y dividida en tres segmentos: segmento largo (L), segmento mediano (M) y segmento pequeño (S). Los segmentos genómicos pueden reordenarse o recombinarse cuando los cultivos celulares están coinfectados con dos virus, pero el reordenamiento es limitado estrechamente para relacionar al virus con un grupo (serogrupo) de un simple género. Se ha obtenido un número significativo de recombinantes como los mutantes sensibles a la temperatura o los virus tipo salvaje, para poder asignar la presencia de las proteínas estructurales y no estructurales a ciertos segmentos individuales del ARN. La codificación también



Fig. N° 1.- Estadios de la replicación viral en la familia Bunyavirus. 1: Unión del virus a la membrana celular, 2: Liberación de las envolturas del virus, 3: Transcripción y síntesis del RNAm complementario al genoma viral, 4: Traducción de los segmentos L y S del RNAm a ribosomas libres, 5: Síntesis de cadenas de crNA como modelo del RNA genómico, 6: Replicación genómica, 7: Transcripción secundaria y síntesis de RNAm, 8: continuación de la traducción y replicación del RNA, 9: Morfogénesis y ensamblaje de las partículas virales, 10: Fusión de vesículas citoplasmáticas con la membrana plasmática y liberación de viriones maduros.

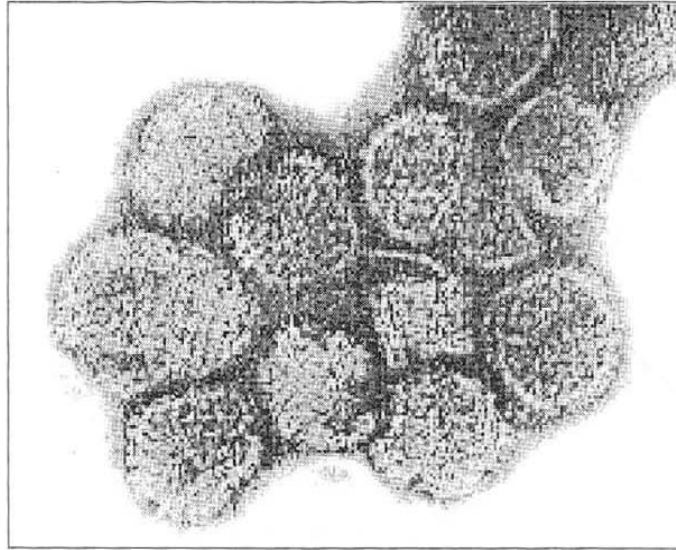


Fig. N° 2.- Ultraestructura del Virus Hantaan, tomado de *Fields VIROLOGY*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, USA, 1996, pp 1448.

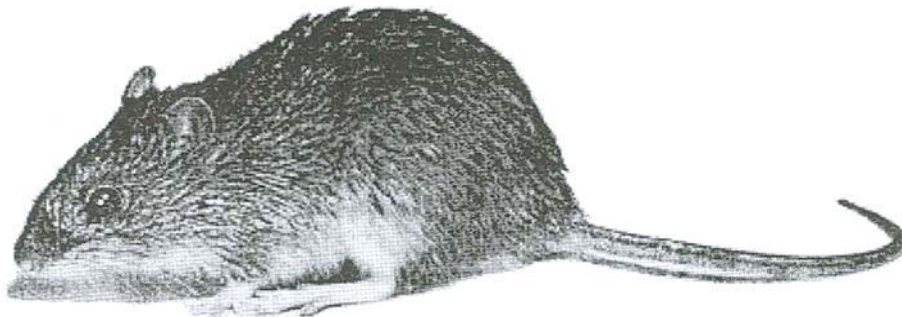


Fig. N° 3.- *Oryzomys palustris*, uno de los reservorios de Hantavirus en el nuevo mundo



Fig N°. 4.- *Apodemus agrarius* otro de los reservorios de Hantavirus

ha sido determinada por transcripción/traslación del ARNm, por expresión de ciertos segmentos de clonas ADNc en cultivos celulares y por comparación de las secuencias de las proteínas con secuencias de los aminoácidos.

Deducidos desde la secuencia de los nucleótidos del gen ama, todos los miembros de la familia, parecen usar el mismo código estratégico.

Los miembros del género Hantavirus, la enfermedad que causan, sus principales reservorios y su distribución geográfica, se muestran en la Tabla N° 1.

Tabla N° 1.- Miembros del género Hantavirus, pertenecientes a la familia Bunyaviridae, enfermedad que causa, principales reservorios y su distribución geográfica.

ESPECIES	EMFERMEDAD	RESERVORIO PRINCIPAL	DISTRIBUCION DEL VIRUS	DISTRIBUCION DEL RESERVORIO
Hantaan (HTN)	FHSR*	<i>Apodemus agrarius</i>	China, Rusia, Corea	Europa central, al sur Tracia, y las montañas Tien Shan. Del río Amur a través de Corea hasta China.
Taiwan (China) Dobrava-Belgrado (DOB)	FHSR	<i>Apodemus flavicollis</i>	Balcanes	Inglaterra y Gales, desde España, Francia Sur de Escandinavia, a través de la Rusia europea hasta los Urales. Desde Italia a los Balcanes, Siria, Líbano e Israel.
Seul (SEO)	FHSR	<i>Rattus norvegicus</i>	Mundial	Alrededor del mundo.
Puumala (PUU)	FHSR	<i>Clethrionomys glareolus</i>	Europa, Rusia Escandinavia	Desde Francia a Escandinavia y hasta el Lago Baikal. Sur de España, Italia, los Balcanes, Turquía, Altay y Sayan. Gran Bretaña, Irlanda.
Sin Nombre (SN)	SPH**	<i>Peromyscus maniculatus</i>	EEUU, Canadá México	Desde Alaska al Canadá, la pared continental de EEUU, excluye el Sur este y el este de Bajo California, Oaxaca en México,
New York (NY)	SPH	<i>Peromyscus leucopus</i>	EE.UU.	Parte central de EEUU, Alberta, Ontario, Quebec, Nueva Escocia, Canadá. El Caribe hasta la península de Yucatán en México
Black Creek Canal (BCC)	SPH	<i>Sigmodon hispidus</i>	EE.UU.	Nebraska, Virginia, Península de La Florida; México, América Central y Panamá, Sud América, Norte de Colombia y Venezuela
Bayou (BAY)	SPH	<i>Oryzomys palustris</i>	EE.UU.	De Kansas a Texas, Nueva Jersey y la Península de la Florida.
Andes (AND)	SPH	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i> <i>Calomys laucha</i>	Argentina	Chile y Argentina hasta los 50° Latitud Sur
Por nombrarlo	SPH	<i>Calomys laucha</i>	Paraguay	Argentina, Uruguay, Paraguay y Brasil.
Río Mamore (RIOM)	No reportado en humanos	<i>Oligoryzomys microtis</i>	Bolivia	Brasil, entre los ríos Solomoes y Amazonas, continua a las tierras bajas del Perú, Bolivia, Paraguay y Argentina.
Punchana (1) (2)	No reportado en humanos	<i>Oryzomys sp</i>	Perú	Loreto, Perú
Caño Delgadito (2)	No reportado en humanos	<i>Sigmodon alsoni</i>	Venezuela	Llanos venezolanos

* FHSR: Fiebre hemorrágica con síndrome renal

** SPH : Síndrome pulmonar por hantavirus

(1) Comunicación personal Dr. Douglas Watts NAMRID

(2) Comunicación personal Dr. Robert Tesh. Universidad de Texas

RESERVORIO

Los roedores silvestres son los principales reservorios de los hantavirus. Cada miembro de ellos parece tener preferencia por determinado tipo de roedor. Las características epidemiológicas de los brotes de enfermedad en humanos y la severidad de la infección están determinados principalmente por el roedor hospedero. La infección por hantavirus aparentemente no es deletérea para el reservorio y está asociada a una respuesta de anticuerpos contra la envoltura y proteínas nucleares del virus, conllevando a una infección crónica y probablemente de por vida. En poblaciones naturales muchas de las infecciones ocurren dependiendo de la edad a través de una ruta horizontal. Elevados títulos de anticuerpos se encuentran en animales grandes (maduros). Se ha observado una notable predilección de infección por hantavirus en algunas especies silvestres de roedores machos, pero raramente en ratas urbanas como *Rattus norvegicus*. La transmisión horizontal ha sido demostrada en ratones enjaulados; la transmisión vertical es insignificante o ausente, tanto en animales salvajes como en estudios experimentales.

ECOLOGÍA

Brotes de enfermedad por hantavirus en humanos, están asociados con cambios en la densidad de la población de roedores, lo cual varía con las estaciones del año y anualmente. Estos ciclos responden a factores extrínsecos así como la competencia interespecie, cambios climáticos y predación. En las estaciones de primavera y verano se han dado brotes de FHSR en Asia y Europa, pues están relacionadas al contacto de trabajadores agrícolas con roedores durante las épocas de siembra y cosecha. Igualmente cambios ecológicos en la Patagonia condicionaron brotes de SPH entre J 994-1996 de SPH en dicha área. Intervenciones humanas, tales como la introducción de especies de plantas del viejo mundo a la Patagonia (ciertas especies de rosas) que se asocian a una alteración de la dinámica poblacional de roedores, pueden constituir factores de riesgo para la aparición de enfermedades. De otro lado recientes incendios y un suave invierno en Río Negro (Argentina) y la provincia de Chubut pudo también tener un efecto positivo en los roedores portadores, de la especie *Oligoryzomys longicaudatus* (colilargo).

Los cambios climáticos que viene generando el fenómeno del Niño en el Perú y los países limítrofes están creando condiciones para los cambios poblacionales de roedores, que asociados a las actividades de los humanos pueden romper el equilibrio existente hasta el momento en el país.

MECANISMOS DE TRANSMISIÓN:

Si bien es indudable que la ruta de transmisión por aerosoles es la más común entre roedores y de éstos a humanos, la transmisión del virus por mordeduras puede ocurrir entre ciertos roedores y ocasionalmente ocurre infección en humanos. Investigaciones epidemiológicas han relacionado la exposición al virus, con ciertas

actividades como trabajos en granjas, visitas al campo, dormir en el campo y ejercicios militares. Exposición interna puede ocurrir cuando los roedores del campo invaden las casas a causa del tiempo frío, o por el anidamiento de éstos en las viviendas. La secuencia genética de los virus que infectan tanto roedores como a humanos, ha permitido evidenciar que la exposición interna es un factor de riesgo importante para adquirir la transmisión. Muchas infecciones por hantavirus, han ocurrido en personas de bajo nivel socio económico por las pobres condiciones de vivienda y actividades agro-culturales, que favorecen el contacto entre humanos y roedores. Sin embargo la sub urbanización, las actividades al campo libre por trabajos o por recreación, crean las condiciones para el contacto del hombre con los roedores y/o sus excreciones.

Aunque no se había descrito infección de humano a humano, recientes hallazgos, descritos por autores argentinos, muestran esta posibilidad durante un brote ocurrido en J 996, con casos inicialmente presentados en El Bolsón, Bariloche y Esquel al sur de Argentina, dado que personas con el sólo contacto con pacientes que tenían SPH y sin antecedentes de contacto con roedores o sus excreciones y no habiendo estado en áreas de riesgo (vivían en Buenos Aires) presentaron Síndrome Pulmonar por hantavirus

ASPECTOS CLINICOS

El periodo de incubación de la enfermedad es en promedio de 12 a 16 días, sin embargo el intervalo puede oscilar entre 5 a 42 días. La enfermedad producida por hantavirus, puede presentarse bajo dos formas clínicas: la fiebre hemorrágica con síndrome renal (FHSR) y como el Síndrome pulmonar por Hantavirus (SPH).

Para tener un diagnóstico más oportuno y con fines de vigilancia epidemiológica, se puede considerar caso sospechoso, como aquel que presenta fiebre ($T_0 > 38.3^{\circ}\text{C}$), en una persona previamente sana, que presente además síndrome de distres respiratorio del adulto (SDRA), o el desarrollo de infiltrado pulmonar intersticial bilateral en el lapso de una semana debido a un compromiso respiratorio que requiera suplemento de oxígeno.

Si el paciente fallece, se considera caso sospechoso si presenta: Inexplicable enfermedad respiratoria que conlleva a la muerte, en cuya autopsia se encuentre un edema pulmonar obtenido inmediatamente después de ocurrida la muerte del huésped. Las pruebas pulmonares no cardiogénicas, sin una causa aparente que explique el fallecimiento.

La confirmación de los casos se hace mediante el aislamiento del virus a partir del suero en la fase virémica o de tejidos serológicas para el diagnóstico incluyen la determinación de anticuerpos IgM o de anticuerpos IgG cuyos títulos deben ser cuatro veces mayores respecto al control, en muestras pareadas. También se puede utilizar el RT-PCR.

La enfermedad causada por hantavirus tiene un variado espectro en su presentación clínica, desde formas leves hasta severas, de acuerdo al agente etiológico y a la respuesta del huésped, como se puede ver en la Tabla N° 2:

Tabla N° 2. Espectro de las manifestaciones clínicas de la enfermedad causada por hantavirus.

ENFERMEDADES	PATOGENO	CARACTERISTICAS CLINICAS*
FHSR Moderado a severo Tasa de letalidad 1% - 15%	HTN,SEO,DOB	Hemorragia +++ Azotemia/ Proteinuria: +++/ ++++ Permeabilidad capilar pulmonar +/++ Miositis +/+++ Inyección conjuntival: ++/+++ Dolor ocular/ miopia: ++/++++
FHSR Leve Tasa de letalidad: < 1%	PUU	Hemorragia + Azotemia/ Proteinuria: +/++++ Permeabilidad capilar pulmonar -/+ Miositis + Inyección conjuntival:+ Dolor ocular/miopia:++/++++
SPH Clásico Tasa de letalidad: >40%	SN,NY	Hemorragia: + Azotemia/ Proteinuria: + Permeabilidad capilar pulmonar:++++ Miositis: + Inyección conjuntival: -/+ Dolor ocular/miopia: -
SPH Variante renal Tasa de letalidad: > 40%	BAY,BCC, Andes	Hemorragia: + Azotemia/ Proteinuria: ++/+++ Permeabilidad capilar pulmonar:+++/++++ Miositis: ++/++++ Inyección conjuntival: -/++ Dolor ocular/miopia: -

* Ocurrencia mínima/máxima de la característica clínica.

(-) raramente reportada(+) Manifestación infrecuente o leve; ++, +++, ++++ más frecuente y manifestación severa.

FIEBRE HEMORRAGICA CON SINDROME RENAL (FHSR). Es de inicio abrupto y su evolución puede ser dividida en 5 fases:

1. Fase febril, se manifiesta por cefalea, dolor lumbar y abdominal, rubrofacial y petequias generalizadas. Esta fase puede durar de 3 a 5 días.
2. Fase hipotensiva; que puede evolucionar al shock, con bajo gasto cardíaco con incremento de la resistencia periférica.
3. Fase oligúrica, durante la cual puede observarse hipertensión. . Durante las tres primeras fases descritas pueden presentarse trastornos hemorrágicos y coagulación intravascular diseminada (CID).
4. Fase diurética, la que puede cursar con alteraciones del balance hidroelectrolítico.

5. Fase de convalecencia, la cual es prolongada y está caracterizada por hipostenuria. El distrés respiratorio y el edema pulmonar no son frecuentes en la FHSR y cuando se presentan son generalmente debidos a sobrecarga de volumen.

En los casos leves no es tan nítida la secuencia descrita anteriormente y se puede ver también en las infecciones causadas por los virus **Seoul** y **Puumala**.

SINDROME PULMONAR POR HANTAVIRUS (SPH). Se inicia con una fase prodrómica, que dura entre 3 a 6 días. Los síntomas más frecuentes incluyen fiebre y mialgias, con menor frecuencia síntomas gastrointestinales como náuseas, vómitos y dolor abdominal, cefalea y mareos. Los síntomas respiratorios en esta etapa están ausentes. La radiografía de tórax usualmente es normal. Puede ser dificultoso el diagnóstico diferencial con la influenza o meningitis, siendo importante sin embargo considerar; que en el SPH usualmente no se observan dolor de garganta, rinorrea ni meningismo.

El periodo prodrómico es seguido por una fase cardiopulmonar; que comienza con tos progresiva y dificultad respiratoria. Al examen físico se encuentra taquipnea, taquicardia, fiebre e hipotensión. En los exámenes de laboratorio clínico pueden encontrarse hemoconcentración, plaquetopenia, prolongación del tiempo parcial de tromboplastina, además de elevados niveles en suero de TGO y DHL. Es común también encontrar leucocitosis, puede ser mayor a 25,000 x mm³, con incremento porcentual de granulocitos que inmaduros y de linfocitos atípicos. Otros hallazgos a considerar son hipoxemia progresiva, con porcentajes iniciales de saturación de oxígeno inferiores al 90%. En los casos severos se ve acidosis metabólica. Los niveles d- fibrinógeno generalmente son normales y la CID es inusual. La insuficiencia renal franca no es frecuente, aunque se puede observar proteinuria de leve a moderada. En *los* casos severos se observa elevación de la creatinina sérica. En la radiografía de tórax se observa infiltrados pulmonares bilaterales.

La fase de convalecencia se caracteriza por mejoría de las funciones hemodinámicas y en la oxigenación, siendo la recuperación completa.

Durante la fase prodrómica por la in especificidad del cuadro es difícil hacer el diagnóstico de SPH. Este debe ser considerado en todo paciente previamente sano que presenta fiebre seguido de síntomas y signos de insuficiencia respiratoria. Cuando se inicia la fase cardiopulmonar; los hallazgos del examen clínico, asociados a los resultados de laboratorio clínico y la radiografía de tórax permiten sospechar el diagnóstico con mayor certeza. En el diagnóstico diferencial debe incluirse leptospirosis, sepsis, meningococemia, legionelosis, micosis sistémica y tularemia pulmonar.

DIAGNOSTICO POR LABORATORIO

La confirmación del diagnóstico puede ser hecho por serología o por identificación del virus mediante aislamiento viral, por PCR y/o por inmunohistoquímica (inmunoperoxidasa) a partir de tejidos

Las líneas celulares susceptibles para el aislamiento del hantavirus son: A-549 y VERO E-6. La identificación del virus en cultivos celulares se realiza mediante la neutralización por reducción de placas.

La manipulación de estos virus requiere de laboratorios con bioseguridad tipo 3 ó 4.

Las pruebas serológicas incluyen la determinación de anticuerpos IgM contra hantavirus utilizando la técnica de ELISA, o mediante la elevación en cuatro o más veces el título de anticuerpos IgG cuando se determinan estos anticuerpos en sueros pareados.

En el Perú, la prueba de laboratorio para la confirmación de casos probables de hantavirus, se hará mediante la determinación de anticuerpos IgM ó la determinación de anticuerpos IgG. En este último caso, se considera una muestra positiva, cuando *los* títulos de anticuerpos IgG se incrementan 4 o más veces en relación a los niveles obtenidos en una primera muestra, con un intervalo de tres semanas entre la primera y segunda muestra.

OBSTENCIÓN Y ENVÍO DE LA MUESTRA

Las muestras deben ser obtenidas considerando estrictas medidas de Bioseguridad. Los resultados de Laboratorio dependen del cuidado que se ponga en la obtención, manejo y envío de las muestras. Se recomienda el uso de guantes y mascarilla durante la obtención de la muestra, así como el uso de tubos al vacío (vacutainer) de material plástico preferentemente por ser seguro, pues mantiene *los* elementos de la sangre en un sistema cerrado y aséptico. Esta técnica se describe en el MANUAL DE PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS ¡Serie Normas Técnicas N° J 5, INS). Una vez obtenida la muestra de sangre, debe ser enviada a un laboratorio que tenga las condiciones para hacer la separación del suero en una cabina de seguridad. La separación se hará utilizando pipetas descartables y la colocación del suero en viales de 2 a 4 cc. Los viales serán rotulados con el nombre, fecha y lugar de obtención de la muestra, y empacados en un envase primario rígido con tapa rosca. Este envase introducirlo en una bolsa plástica. Estos recipientes primarios con plásticos deben ser rodeados de hielo y colocados en una caja térmica. Esta caja térmica debe ser cerrada y sellada herméticamente y debe tener una señal de bioseguridad para su transporte. Adjuntar la ficha clínica en una bolsa plástica o mica. Rotular la caja con los siguientes datos: MATERIAL BIOLÓGICO : Calle Cápac Yupanqui 1400 Lima 1 J, Instituto Nacional de Salud, Tele-fax: O J 4-712529.

TRATAMIENTO

Para el manejo de estos pacientes, deben considerarse las medidas universales de bioseguridad y dada su condición clínica es aconsejable el aislamiento de los enfermos. El tratamiento es fundamentalmente de sostén. Siendo importante tener mucha cautela en la hidratación, para no ir a la sobrehidratación. Para mantener la perfusión tisular es conveniente el temprano uso de agentes inotrópicos y vasopresores. Donde sea posible se aconseja el uso de cateter SwanGanz que permite el mejor control del gasto cardíaco cuando se transfunden en cantidades bajas de líquidos.

Se debe usar oxigenoterapia, y ventilación mecánica si el caso lo requiere. En los casos de insuficiencia renal debe recurrirse a la hemodiálisis. El uso de corticoides es controversial.

La ribavirina utilizada por vía endovenosa puede mejorar la *insuficiencia* renal y las manifestaciones hemorrágicas en pacientes con FHSR. Su rol en el tratamiento del SPH aún no ha sido validado.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Los hantavirus tienen una envoltura de doble capa de lípidos, por lo que son

susceptibles a muchos desinfectantes como las soluciones de hipoclorito, detergentes , alcohol etílico al 70%, etc. La duración de la sobrevivencia de estos virus después de ser eliminados al medio ambiente, no es bien conocida. Los reservorios de hantavirus en algunas áreas pueden ser hospederos de *Yersinia pestis*. Aunque las pulgas y ectoparásitos no han sido implicados en la transmisión de hantavirus, las pulgas de roedores pueden transmitir la peste, por lo que el control de roedores sin el concurrente control de pulgas puede poner en riesgo de peste a los humanos. La erradicación de reservorios de hantavirus es poco factible o no deseable. Habiéndose aislado el virus en cultivos celulares, es posible el desarrollo de vacunas .Actualmente sin embargo la mejor aproximación para la prevención, control y reducción del riesgo es el de mejorar las prácticas de higiene para detener la colonización de los roedores en las casas y en los campos de trabajo.

Los trabajadores de laboratorio que practican las recomendaciones universales de bioseguridad en la manipulación y procesamiento de material clínico (sangre, orina, secreciones respiratorias) reducen al mínimo el riesgo de infección, sin embargo, infecciones ocurridas en el laboratorio pueden desarrollarse entre personas que manipulan roedores salvajes o infectados en el laboratorio. Para evitar la propagación del hantavirus, debe trabajarse en laboratorios con bioseguridad del nivel 4.

Considerando que los roedores son los portadores del virus y que lo excretan por heces, orina o saliva, las medidas de control deben estar orientadas a evitar el contacto con los roedores y sus excreciones.

CONTROL DE ROEDORES

Tomar las precauciones para evitar que los roedores ingresen a las casas, particularmente en las áreas donde se almacenan alimentos. Se deben sellar las rendijas con material resistente a la acción de roedores como cemento o metal.

Eliminar de las casas todos los desechos que puedan servir para que los roedores hagan sus nidos. En el exterior se debe evitar la acumulación de materiales de desecho y en lo posible, ubicar la leña, paja y otros materiales al menos a 30 m de la vivienda y sobre tarimas de 20 cm de alto, tratando además de mover el material periódicamente.

Alrededor de la vivienda debe quitarse la maleza y evitar la acumulación de desmonte.

Los restos de alimentos deben ser eliminados en tachos de basura cerrados, igualmente proteger las fuentes de almacenamiento de agua.

Si se utilizan roenticidas, debe considerarse la fumigación con pesticidas para el control de las pulgas, que abandonan los roedores muertos.

Se deben reforzar las medidas de control y vigilancia en establecimientos donde se almacenan alimentos, para evitar la proliferación de roedores.

MANEJO DE RESIDUOS SÓLIDOS

Es importante educar a a la población rural para la utilización de sistemas individuales de disposición sanitaria de residuos domésticos. Así mismo reforzar las actividades de detección de microbasurales y coordinar con las autoridades locales o comunales su eliminación. Se debe propender a la construcción de rellenos sanitarios, considerando previamente su factibilidad técnica.

CONTROL EN GRUPOS DE RIESGO

Los grupos de riesgo, lo constituyen aquellas personas que por su actividad están expuestas al contacto con roedores o sus excreciones, aparte de los laboratoristas, los' de saneamiento básico que realizan actividades de desratización, trabajadores portuarios, trabajadores agrícolas, personas que acampen al aire libre. Deben considerarse las siguientes precauciones: Las habitaciones que hayan permanecido cerradas por mucho tiempo, previa a su uso deben ser ventiladas al menos una hora. Si se ingresa a lugares cerrados, potencialmente contaminados con excreciones de roedores, debe hacerlo con protección respiratoria con máscaras o equipos de presión positiva, ,en ambos casos provistas de filtros de alta eficiencia.

Los campamentos, tanto de trabajadores como de recreación, deben instalarse en lugares alejados a potenciales focos de contaminación con roedores, como madrigueras, escombros, basurales, acúmulos de leña, paja u otros materiales del área.

En estos campamentos debe asegurarse la adecuada protección de del alimentos contra roedores, así como los residuos que se producen deben tenerse en recipientes cerrados y finalmente ser enterrados a una distancia no menor de trescientos metros campamento. Igualmente el agua debe estar protegida en recipientes cerrados y garantizar que esté hervida o con la aplicación de cloro. Si el campamento se establece por tiempo prolongado, deben aplicarse roenticidas como medida complementaria

MEDIDAS DE DESINFECCIÓN EN LOS AMBIENTES DE RESIDENCIA

Considerando que los roedores contaminan el ambiente con sus excretas, se deben tener precauciones cuando se haga la limpieza de ambientes potencialmente contaminados y la manipulación de roedores muertos. Se usarán desinfectantes como el hipoclorito de sodio a13% (lejía). En las habitaciones cerradas se debe hacer la limpieza del piso con un trapo humedecido en detergente o desinfectante, lo cual evitará la formación de aerosoles. Igualmente *los* muebles se limpiarán con tela embebida con detergente o desinfectante. Los alimentos y otros materiales con evidencias de haber sido contaminados por roedores, deben ser eliminados en doble bolsa plástica, pero previamente roseados con detergentes y finalmente enterrados a no menos de 60cm. de la superficie. Durante la manipulación de roedores muertos y objetos y/o alimentos contaminados, debe utilizarse guantes de goma gruesos. Al terminar el aseo se debe lavar *estos* guantes (mientras están puestos) en una solución

con desinfectante y detergente, y luego lavarse las manos con abundante agua y jabón.

PRECAUCIONES PARA LA MANIPULACION DE MUESTRAS Y MATERIALES INFECTADOS O POTENCIALMENTE INFECTADOS

En ambas formas de la enfermedad, la transmisión a humanos se piensa que ocurre a partir de aerosoles de saliva, heces, u orina de roedores infectados que están eliminando virus, pero no muestran estar enfermos. La transmisión por aerosol de *los* hantavirus asiáticos, parece que ocurre rápidamente alrededor de jaulas de roedores infectadas. También material aerolizado de las heces, orina o saliva son probablemente importantes en la transmisiones de las cepas de las Américas. La presencia del virus en la saliva, sugiere que la transmisión por mordedura de *los* roedores puede ocurrir de roedor a roedor o de roedor a humano. Se conoce que las mordeduras de los roedores infectados con los hantavirus asiáticos infectan a humanos. No se conoce si es que los vectores artrópodos tienen un rol en la transmisión de *los* hantavirus.

Los especímenes clínicos (*esto es*, secreción traqueal, suero, sangre, y tejidos) de pacientes potencialmente infectados con hantavirus pueden también representar un bio-peligro a *los* laboratoristas. Estos especímenes deben de ser manejados en un ambiente controlado, o si es posible, estar sujetos a procedimientos de inactivación viral que lo harían seguros de manipular.

Los hantavirus tienen envolturas lípidas que son susceptibles a la mayoría de desinfectantes (por ejemplo, soluciones de hipoclorito de sodio, alcohol etílico al 70%, o desinfectantes domésticos generales que contienen solventes de lípidos como ingredientes).

PRECAUCIONES CON MUESTRAS HUMANAS

Las muestras humanas que pudieran levantar sospecha como potencialmente infectadas con hantavirus, serán obtenidas de los casos con enfermedades hemorrágicas o neumonía en casos sospechosos de neumonía por peste, y especialmente casos descritos como síndrome de distres respiratorio agudo en adultos. Espudo, sangre, suero y/o tejidos de tales casos deben de ser inactivados por calor o radiación gama para ser manipulados en una instalación de laboratorio con Bioseguridad 2 ó manipulados en una cabina de bioseguridad de flujo laminar en un laboratorio (LFBSC) de nivel 3. Se debe de tener cuidado de evitar la producción de aerosol es de material no-irradiado. Los paquetes que contengan materiales potencialmente infectados con hantavirus deben de ser abiertos solamente en un LFBSC.

PRECAUCIONES CON RATONES SILVESTRES Y DE LABORATORIO

Hasta que se haya establecido con bastante certidumbre el rango de roedores hospederos de infecciones del hantavirus, todos los roedores silvestres deben de ser manejados como fuentes potenciales de infecciones de hantavirus. Similarmente, roedores de laboratorio inyectados o expuestos a sangre, componentes de sangre, u otros tejidos de roedores silvestres deben de ser considerados como potencialmente infectados por hantavirus. Sean animales silvestres o de laboratorio que estén infectados con hantavirus, representan un riesgo claro, de transmisión por aerosol de orina infectada, heces o saliva de roedores. No se conoce que los ectoparásitos

tengan un rol en la transmisión del hantavirus, consecuentemente los animales de laboratorio que solamente están expuestos a ectoparásitos (pulgas, garrapatas) no necesitan ser tratados como potencialmente infectados por hantavirus

PROCEDIMIENTOS PARA LA MANIPULACION DE ROEDORES EN AREAS ENDEMICAS, RECOMENDACIONES PARA PERSONAL QUE REALIZA ESTUDIOS DE CAMPO QUE INCLUYAN: HANTAVIRUS, PESTE Y ENFERMEDAD DE LYME

TRAMPAS

Colocar trampas tipo Sherman y Tomahawk en número apropiado y configuradas de acuerdo al diseño pre-establecido o características del terreno, Ninguna precaución especial se necesita seguir como medidas de protección personal durante esta actividad.

COLECTA DE ROEDORES

Antes de chequear las trampas para la captura de roedores, se requiere que cada persona se ponga guantes de latex y llevar dos bolsas, una mediana y otra larga (una dentro de otra). Los respiradores no son necesarios para esta operación, pero una máscara tipo parcial (de media cara) puede ser usada si es que el trabajador lo desea. Cada persona que manipula las trampas mientras chequea la captura de roedores debe de llevar uno o dos pares de guantes extras por si se rasguñan o rompen con la trampa de metal.

Las trampas Sherman cerradas deben de ser etiquetadas apropiadamente con datos de la colecta y puestas directamente dentro de la bolsa de plástico doble. No se debe abrir la puerta de la trampa para identificar al animal o para determinar si es que la trampa está simplemente disparada pero vacía. Esta acción puede exponer potencialmente al trabajador de campo a aerosoles causados por el animal que está dentro de la trampa. Manipule los animales colectados con la trampa de alambre Tomahawk de la misma manera.

Después de recoger los roedores capturados, cerrar la bolsa de plástico que contiene las trampas cerradas expulsando el aire de la bolsa en dirección opuesta a la cara del personal que manipula el equipo. La mortalidad de los roedores, puede ser alta si no son atendidos durante las estaciones de clima cálido y además se debe tener cuidado de protegerlos los animales embolsados del estrés del calor. Debe sacarse los guantes de latex de manera segura y ponerlos en una bolsa de descontaminación para el subsiguiente autoclavado o incineración.

TRANSPORTE DE ROEDORES CAPTURADOS

Si es que los animales atrapados deben de ser transportados de cualquier distancia, a un sitio de procesamiento central. los roedores embolsados no deben de ser puestos dentro del compartimento de los pasajeros de los vehículos. El personal y los roedores capturados pueden ser separados de acuerdo al tipo de vehículo de campo que se está usando. Si es que se utiliza una pick-up, es adecuado colocar los animales embolsados en la parte de atrás durante el transporte. Si es que se usa un

carro tipo sedán y la maletera es totalmente separada del compartimiento de pasajeros, el transporte de los roedores embolsados en la maletera es aceptable. Si es que se usan vehículos sin compartimientos de carga separadas, los roedores embolsados deben de ser asegurados afuera del vehículo en una parrilla para el transporte

PROCESAMIENTO DE ROEDORES CAPTURADOS

Al llegar al sitio de procesamiento de campo, ponerse un par de guantes de jebe antes de remover los roedores embolsados del vehículo. Colocar los animales en un sitio protegido.

Preparar y arreglar los suministros, instrumental y equipo, que serán usados para procesar los animales para la colecta de muestras de sangre, colección de ectoparásitos, y muestras de biopsias de oreja. Prepare tres baldes de 5 galones para la esterilización de las trampas y limpiado. Cada balde debe contener 4 galones de agua. Un balde deberá contener Lysol al 5-10% Y cada trampa de donde se saque un animal será sumergida en esta solución por 5 a 10 minutos. Los otros dos baldes serán usados para sucesivamente enjuagar las trampas desinfectadas.

Antes de manipular los roedores, el personal de campo usará una bata quirúrgica descartable, botas de cirugía para cubrir el calzado, guantes dobles de Jatex para el examen y un respirador aprobado por OSHA. Sacar al animal de la trampa y administrar cloruro de ketamina o methoxyflurano para anestésarlos. La colección de las muestras de los roedores deberá seguir la siguiente secuencia:

- 1 Extraer los ectoparásitos
- 2 Cosechar el tejido de la oreja y *ponerlo* en desinfectante;
- 3 Coleccionar la muestra de sangre del seno capilar post-orbital con un tubo capilar con heparina.

La punción directa al corazón con aguja y jeringa puede ser necesaria para animales grandes, pero un cuidado especial deberá tenerse por el potencial pinchazo de las agujas.

Las pulgas pueden ser guardadas en viales con alcohol al 70%; las garrapatas deben de ser guardadas con vida en los viales húmedos estándar para garrapatas; las biopsias desinfectadas de tejido de oreja, serán puestos en medio de cultivo BSK-II y almacenados a temperatura ambiente; las muestras de sangre total serán congeladas en hielo seco o nitrógeno líquido.

Precauciones adicionales que se deben de tener presentes mientras se procesen roedores:

1. Si un guante de latex exterior se corta o rasga debe ser reemplazado inmediatamente.
2. Limpiar todos los instrumentos con desinfectante líquido y llama de un mechero de alcohol.
3. Limpiar las superficies de trabajo contaminadas con orina, heces, y/o sangre con soluciones al 5-10% de Lysol o hipoclorito de sodio; y
4. Desinfectar los guantes de latex en Lysol o hipoclorito de sodio si es que se contaminan con excreta de roedor o sangre durante la colección de la muestra.

DESECHO DE MATERIALES CONTAMINADOS

Todo papel, bolsa de plástico, empaques, guantes de plástico, batas quirúrgicas y botines, etc., serán puestos en una bolsa de bioseguridad doble para ser incinerada. Agujas y tubos capilares serán puestos en recipientes de agujas autoclavables estándares. La incineración y autoclavado será hecho en un lugar especial designado para ello o en otros lugares si es que se trabaja en sitios remotos.

Cuando no se toman tejidos de órganos para el aislamiento viral, los roedores pueden ser regresados al sitio de captura. Los animales que se mueran durante el proceso pueden ser enterrados en el área del procesado, si es que es un área rural, o puestos en una bolsa de bioseguridad doble y congelados para su retorno al laboratorio, si es que es un área urbana.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

El riesgo de exposición al hantavirus en los laboratorios durante el examen de rutina de ectoparásitos es extremadamente bajo. Instalaciones P2 son adecuados para este tipo de actividades.

El hantavirus no se multiplica en medio de cultivo BSK-H. Consecuentemente, cultivos conteniendo muestras de tejido de oreja pueden ser procesadas usando procedimientos estándares para incubar y examinar cultivos para espiroquetas con precauciones personales de seguridad de cabina de flujo laminar, guantes y mandil de laboratorio.

La inoculación de ratones blancos de laboratorio con el cultivo original de espiroquetas aisladas para determinar infectividad no poseerá cambio de procedimiento para el manejo y cuidado del animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Addressing Emerging Infectious Disease Threats, A prevention Strategy for the United States, Center for Disease Control and Prevention, J 994,AtlantaGeorgia, USA.
- Childs J, Korch G, Glass G, LeDuc J, Sjah K. Epizootiology of hantavirus infections in Baltimore: aislation of a virus from Norway rats and characteristics of infected rat populations. AmJ Epidemiol J 987; 126:55-68
- Enria D, Levis S, Briggiler. Hantavirus, información para profesionales. Instituto de Enfermedades ViraJes Humanas "Dr. Julio 1. Maiztegi" Ministerio de Salud y Acción Social, Argentina J 995.
- Gajdusek D. Virus hemorrhagic fevers. J Pediatr J 962;60:841-57
- Gonzales-Scarano Francisco and Nathanson Neal, Bunyaviridae in Fields VIROLOGY, 1995, Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, New York, pp: 1473-1504
- Graham TB and Chomel BB. Population Dymamics of the Deer Mouse (*peromyscus manicu/atus*) and Sin Nombre Virus, California Channel Islands. Emerging Infectious Diseases, J 997;3:367-369
- Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimiento de Obtención de Muestras. Serie Normas Técnicas W] 5, INS. Lima, 1996
- Lederberg J Shope R and Oaks S C. Editors, Emergins Infections, Microbial Threats to Health in the United States. Institute of Medicine, National Academy Pres, Washington De 1 992.
- McKee K, LeDuc J Peters C. Hantaviruses. Jn:Belshe RB, editors. Textbook of human virology. St Louis:. Mosby Year Book J 99 J :61 5-32
- Ministerio de Salud de Chile, División Salud Ambiental. Medidas de prevención para fiebre hemorrágica por virus Hanta, Santiago de Chile 1 997.
- Rand Michael S. Hantavirus: An Overview and Update. Laboratory Animal Science, 1994;44:301-304
- Smadel. J. Epidemic hemorrhagic fever. AmJ Public Health 1953;43: 1327-30
- SchmaUohn Connie and Hjelle Brian. Hantaviruses: A Global Disease Problem. Emerging Infectious Diseases, J 997;3:95-1 04
- SchmaUohn Connie S. Bunyaviridae: The viruses and Their Replication, in Fields VIROLOGY Vol 1 pp 1995, Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, New York, pp: 1447-1471

- U.S. Center for Disease Control and Prevention, División of Vector-Borne Infectious Diseases, SAFETY MANUAL. Mulberry & Overland Trail/Foothills Campus Fort Collins, Colorado, J 994.
- Wells R, Sosa S, Yadon Z, Enria D et al. An Unusual Hantavirus Outbreak in Southern Argentina: Person-to-person Transmission 7 Emerging Infectious Diseases, 1997; 3: 171-174.

Lima, Setiembre 1997.

Decisión GRAFICA S. A.
Av. Teodoro Cárdenas 830 Santa Beatriz
Telf.: 265-8606 Telefax: 472-6276

Coordinación de Impresión:
Oficina Ejecutiva de Información Científica / OEIC - INS.

Instituto Nacional de Salud
Sede central
Calla Cápac Yuapanqui # 1400- Lima
Telf: 471-9920 471-3254
Fax: 471-7443 471-2529
E-mail Posrmast@ ins. Sld.pe
Jefatura@ ins.sld.pe