

T I T U L O

"VIRUS JUNIN: Encuesta Serológica en Bovinos del Partido de Tandil".

Tesis presentada por el Médico Veterinario DANIEL ANTONIO PARDO \* para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

DIRECTORA DE TESIS: Dra. Norma Evangelina Mettler, Profesora Titular de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires, y Miembro Carrera de Investigador de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Pcia. de Buenos Aires.

---

\* Ayudante de 1ra. con dedicación exclusiva en la Cátedra de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires y Ayudante de 1ra. en las Cátedras de Enfermedades Infecciosas y Producción Ovina de la misma Institución.

---

— AÑO 1981 —

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



AUTORIDADES:

RECTOR:

Profesor Dr. GUILLERMO G. GALLO

SECRETARIO GENERAL:

Odont. TOMAS FUCINI

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADÉMICOS:

Dr. JORGE BOLZAN

SECRETARIO DE SUPERVISION ADMINISTRATIVA:

Cdor. JUAN A. AREVALO

SECRETARIO DE EXTENSION CULTURAL Y DIFUSION:

Arq. JOSE MARIA MARQUINEZ

GUARDA SELLOS:

Dr. FEDERICO ENRIQUE CHISTMANN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

AUTORIDADES:

DECANO:

Profesor Dr. JOSE FERNANDEZ DE LIGER

DECANO SUSTITUTO:

Dr. NESTOR ANGEL MENENDEZ

SECRETARIO DE ASUNTOS ACADEMICOS:

Dr. JORGE EUGENIO LED

SECRETARIO ADMINISTRATIVO:

Sr. OMAR HUGO RAMIREZ

DIRECTORA DE ENSEÑANZA:

Sra. HAYDEE C.R. DE PERETTO

DIRECTORA DE BIBLIOTECA:

Srta. HEBE D. PEDERNEA

— NOMINA DE PERSONAL DOCENTE POR CATEGORIAS —

PROFESOR TITULAR "DEDICACION EXCLUSIVA"

<u>APELLIDO Y NOMBRE</u>	<u>CATEDRA</u>	<u>CATEGORIA</u>
ANGULO Eusebio	Investigadora	Titular
ERRECALDE Jorge E.	Microbiología	Interino
ETCHEVERRIGARAY María E.	Virología	Reemplazante
MENENDEZ Nestor A.	Anat. y Fisiol.Patol.	Interino
PRACCA Lydia C.	Clín.Pequeñ.Animales.	Reemplazante
QUINTEROS Indalecio R.	Gnét. y Biometría	Titular
ZACCARDI Eduardo M.	Fisiología	Titular

PROFESOR TITULAR "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

AGUIRRE Walter G.	Microb.Especial	Titular
ALBERDI Cecilio	Tec.y Sanid.Aliment.	Interino
ANDREATTA Jorge N.	Semiología y Propedéutica	Interino
ARGERI Nelson J.	Análisis Clin. I y II	Reemplazante
BERTOLINI José M.	Anatomía Comparada	Interino
DELPRATO Ismael O.	Anat.Descript.y Top.	EMERITO
JENSEN Alicia D.	Bioestadística	Interina
LED Jorge E.	Parasit. y Enf.Parasit.	Interino
MANZULLO Alfredo	Inmunología I y II	EMERITO - Reemp.
MAROTTA Eduardo G.	Zotec.Espec. I Pte.	Interino
OCHOA Mario E.	Director Inst.Sta.Cat.	Interino
OTTINO Julio F.	Histología y Embriol.	Interino
PENNIMPEDE Enrique F.	Inmunol. Gral y Aplic.	Reemplazante
RODRIGUEZ Benjamín R.	Zotec.Espec. II Pte.	Interino
TORRES Jorge F.	Int. a la Bioquímica	Interino

PROFESOR TITULAR "DEDICACION SIMPLE"

AGUIRRE Walter G.	Microbiol.Aplicada	Titular
ALBERDI Cecilio	Tecnol.y Sanid.Aliment.	Interino
CARROZZA Jesús S.W.	Introd. a la Biofísica	Titular
ERRECALDE Jorge E.	Enferm. Infecciosas	Interino
GIMENO Emilio J.	Higiene Epid. y S.Pública	Titular
ISEAS Fortunato B.	Patología Médica	Interino
MARTINO Olindo A. L.	Salud Pública	Interino
MORELLI Hector A.	Zotec.Espec.III Pte.	Interino
OSTROWSKI Jorge E. B.	Patol.Reprod. y Obst.	Interino
PANZONI Erico E.	Economía Agraria	Titular
RUAGER Jorge	Patología General	Interino
SARACHU Alberto N.	Genética Microbiana	Interino-1/s/s

SCIAMMARELLA Alfredo M.	Medicina Operatoria	Interino
TESORIERO Catalina	Físic. y Quím.Aplíc.	Reemplazante
TOUCEDO Guillermo A.	Patología Quirurg.y Pod.	Titular

PROFESOR ASOCIADO "DEDICACION EXCLUSIVA"

MARTIN Alcides A.	Anat. y Fisiol.Patol.	Interino
-------------------	-----------------------	----------

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION EXCLUSIVA"

BOCCIA Francisco O.	Clín.Pequeños Animales	Reemplazante
IDIART Julio R.	Anat.y Fisiol. Patol.	Interino
LAGRECA Liliana	Zotec.Gral. y Agrost.	Interino
LASTA Jorge A.	Higiene, Epid. y S.Pública	Interino
MONINA Marta I.	Clín.Grandes Animales	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

BRANDETTI Eugenio	Anat. y Fisiol.Patol.	Interino
CHAMPREDONDE Hugo N.	Patología General	Interino
DIBBERN Alberto R.	Zotec.Espec. II Pte.	Reemplazante
DURANTE Eduardo J.	Patol.Quirurg. y Pod.	Interino- l.c.s
ERRECALDO Jorge O. (h)	Farmacol.F. y Terapeút.	Interino- l.c.s.
FELDMAN Raquel E.	Parasitol. Comparada	Interino
FERNANDEZ Enrique J.	Enfermedades Infecciosas	Interino
GOMEZ Carlos M.	Inmunología II	Interino
MAGGI Nilda B.	Serv.Central de Cirug.	Reemplazante
MARTINO Juan J.	Microbiología	Titular
NOIA Miguel A.	Introd. a la Biofísica	Interino
ORTEGA César F.	Semiol. y Propedéutica	Interino
PENNIMPEDE María T. del A.	Tecnolog. y Sanid.Alim.	Interino
PIOVANO Nicolás M.	Introd. a la Bioquímica	Interino
REINOSO Enso M.	Micol.Médica e Indust.	Reemplazante
RUAGER Jorge	Anat. y Fisiol.Patolog.	Interino

PROFESOR ADJUNTO "DEDICACION SIMPLE"

BACIGALUPO Nésto R.	Tecnol.y Sanid. Aliment.	Interino
BAIGUN Roberto	Patolog.Reprod. y Obst.	Interino
BRANDETTI Eugenio	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
FERNANDEZ DE LIGER José H.	Clín.Grandes Animales	Titular
FINOCHIETTO Hécto D.	Patología Médica	Interino
GOMEZ Carlos M.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Interino
GRILLO Virginia E.	Zotec.Espec. III Pte.	Interino
LASTA Jorge A.	Microbiol. Aplicada	Interino
MAGGI Nilda B.	Patol.Quirurg. y Pod.	Interino
MALIANDI Florestán S. (h.)	Higiene,Epid. y S.Pública	Interino
MOISO Alejandro C.	Microbiología	Titular
NOVARINI Miguel A.	Farmacol. F. y Terapéut.	Interino

OLIVA Graciela A.	Virología	Interino
PEREZ CASTILLO Nelly E.	Física y Quím. Aplic.	Reemplazante
PRILO LOFEUDO Graciela E.	Zotec. Espec. III Pte	Reemplazante
RENNER Juan E.	Clín. Grandes Animales	Reemplazante
ROJAS Edmundo R.	Fisiología	Interino
RUTTER Bruno	Patol. Reprod. y Obst.	Interino
TARSIA Elba E.	Introd. a la Biofísica	Interino
VENTURINI Lucila M.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
VILLAR Marta E.	Análisis Clínicos I Pte.	Interino
VILLAR Marta E.	Análisis Clínicos II Pte.	Interino
YANNARELLA Francisco G.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION EXCLUSIVA"

BASCHAR Héctor O.	Clín. Grandes Animales	Interino
FONROUGE Reinaldo D.	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino
RONSIÑO Roberto O.	Sección Radioisótopos	Interino
TEJEDOR Eugenio D.	Genét. y Biometría	Interino

JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

ALIVERTI Héctor M.	Zotec. Espec. II Pte.	Interino
ALLEVATO Hugo L.	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino
AMASINO Carlos	Enfermedades Infecciosas	Interino
AULICINO Oscar O.	Tecnolog. y S. Aliment.	Interino
BABUSCI Máximo	Fisiología	Interino
BAMBILL Emilia C.	Zotec. Espec. I Pte	Interino
BARRENA Javier E.	Anatomía Descript. y Top.	Interino
BERNAGOZZI Jorge A.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Interino
BISCHOFF Jorge R.	Genét. y Biometría	Interino
BUGALLO Antonio	Patología General	Interino
BUGALLO Antonio	Farmac. F. y Terapéut.	Interino
CARBONE Cecilia	Animales de laboratorio	Interino
CASTUMA María E.	Introd. a la Bioquímica	Interino
COLL CARDENAS Ernesto F.	Introd. a la Biofísica	Interino
DE ANTONI Graciela	Genética Microbiana	L. c. s.
DEL CASTILLO Federico C.	Histología y Embriolog.	Interino
DRAGONETTI Ana María	Clín. Pequeños Animales	Interino
FORNER Jesús J.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
FREGOSI Mario O.	Anatomía Descript. y Top.	Interino
FRIGOLI Alicia E.	Introd. a la Biofísica	Interino
FUENTES Leticia S.	Introd. a la Biofísica	Interino
GARCIA VALENTI Horacio N.	Zotec. Espec. II Pte.	Interino
GIANOTTI Ricardo S.	Tecnolog. y S. Alimentos	Interino
GIMENO Eduardo J.	Anatomía y Fisiol. Pat.	Interino
GIMENO Eduardo J.	Patología General	Interino
GOITIA Oscar F.	Zotec. Espec. II Pte	Reemplazante

GUAJARDO Margarita H.	Introd. a la Bioquímica	Interino
GUGLIELMETTI Elda M.C.	Introd. a la Biofísica	Interino
HERRERA CANALES Félix E.	Anatomía Comparada	Interino
LACCHINI Raul A.	Zotec. Gral.y Agrost.	Interino
LESTCHINSKY Eva	Análisis Clínicos I Pte.	Interino
LINZITTO Oscar R.	Histología y Embriología	Interino
MARCANTONI Hugo	Histología y Embriología	Interino
MARCON Olga E.	Física y Química Aplic.	Reemplazante
MASSONE Raul A.	Clín. Grandes Animales	Reemplazante
MILLAN Margarita D.	Anatomía Descript. y Top.	Interino
MONTESINO RAMOS Ignacio	Clín. Grandes Animales	Interino
MUNARD Carlos J.	Patolog. Rep. y Obst.	Interino
NURO Alicia M.	Clínica Pequeños Animales	Interino
ORELLANA Jorge	Histología y Embriología	Interino
PASSIUCO Mabel N.	Introd. a la Bioquímica	Interino
PELLON Horacio S.	Tecnol.y S. Alimentos	Interino
PERFUMO Carlos J.	Anatomía y Fisiol. Patolog.	Interino
PIACENTINI Enrique	Tecnolog. y S. Alimentos	Interino
PIAZZA Delia D.	Microbiología Especial	Interino
POLI Mario A.	Genética y Biometría	Interino
PONS Eduardo E.	Clín. Grandes Animales	Interino
RADMAN Nilda E.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
RAMIREZ Luis E.	Anat. Descript. y Top.	Reemplazante
REPETTO SANCHEZ Olindo	Medicina Operatoria	Interino
RODRIGUEZ TOLEDO Jorge A.	Medicina Operatoria	Interino
SALESSI Enrique	Fisiología	Reemplazante
SARA Raul C.	Patolog. Rep. y Obst.	Interino
SCAVIA Ricardo C.	Anatomía Comparada	Interino
TABORCIA Juan A.	Patología General	Interino
TARABUSO Ricardo	Semiolog. y Propedéut.	Interino
TREBUCQ Rubén A.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Interino
VENTURINI María C.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Reemplazante
VOCOS GIMENEZ Sara T.	Zotec. Espec. II Pte	Interino

#### JEFES DE TRABAJOS PRACTICOS "DEDICACION SIMPLE"

ALLENDE María G.	Serv. Central de Cirugía	Interino
AVILA Silvia M.	Microbiología Especial	Interino
BARDON Juan C.	Patología Médica	Interino
BERNAGOZZI Jorge A.	Inmunolog. Gral. y Aplic.	Reemplazante
BRAVO BARDALES Tomás	Economía Agraria	Interino
BUTLER Eduardo A.	Patolog. Quirurg. y Pod.	Interino
CALONGE Carlos A.	Patología Médica	Interino
CASTAÑEDA Alberto C.	Clín. Pequeños animales	Interino
CESAR Norberto	Patología Médica	Reemplazante
CATALA Gustavo G.	Patolog. Reprod. y Obst.	Reemplazante

CUETO Eduardo R.	Zotec.Espec. II Pte	Interino
CHIARAVALLI Juan C.	Zotec. Gral. y Agrost.	Interino
DELGADO CAFFE Osvaldo	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino
FERNANDEZ DE LIGER José H. (h)	Patolog. Médica	Interino
FORMENTI Liliana E.	Microbiología Aplicada	Reemplazante
GALAN Jorge E.	Enfermedades Infecciosas	Interino - l.s.g.s
GARCIA FRONTINI María V.	Parasit. y Enf. Parasit.	Interino
GALLO Guillermo F.	Fisiología	Interino
GRAMIGNA Tomás F.	Taller de Educación	Interino
GIMENEZ Mabel A.	Zotec.Espec. I Pte.	Interino
HERNANDEZ Zulma H.	Salud Pública	Interino
LACCHINI Raul A.	Zotec. Espec. I Pte.	Interino
LOJO María E.	Genética Microbiana	Interino
MARILUNGO Anibal J.	Medicina Operatoria	Interino
MELANI Gustavo H.	Patología Médica	Interino
MORRIS Marta R.	Micol. Méd. e Ind.	Interino
NICODEMO María del C.	Zotec. Espec. III Pte.	Interino
NOSETTO Edgardo O.	Clín. Grandes Animales	Interino
OCAMPO Jesús M.	Introd. a la Biofísica	Interino
REGGIOSO Ana M.	Introd. a la Biofísica	Reemplazante
RONSINO Roberto O.	Fisiología	Interino
SALAS Laura V.	Semiolog. y Propedéut.	Interino
SANCHO José J.	Medicina Operatoria	Interino
TOBIA Marta B.	Microbiología Aplicada	Interino
TREBUCQ Rubén A.	Inmunología I	Interino
TUNES María del L.	Microbiología	Interino
VARELA Juan A.	Microbiología	Interino
WARD Miguel V.	Farmac. F. y Terapéut.	Interino

AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION EXCLUSIVA"

AVILA Silvia M.	Histología y Embriología	Interino
CASTELLANO María C.	Clínica Pequeños Animales	Interino
CATALANO Vicente A.	Histología y Embriología	Interino
CERRUTTI Augusto S.	Sección Radioisótopos	Interino

AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION TIEMPO PARCIAL"

BERISSO Marcela M.	Enfermedades Infecciosas	Interino
CABRAL Marta S.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
CAMINOA Ricardo A.	Microbiología Especial	Interino
CORREA Oscar M.	Introd. a la Bioquímica	Interino
GONZALEZ Ester T.	Virología	Interino
GUADARRAMA María del C.	Histología y Embriología	Interino
HUERTA Alicia N.	Introd. a la Bioquímica	Interino
MILLAN Roberto G.	Histología y Embriología	Interino
MARENGO Alejandro G.	Higiene, Epid. y S. Pública	Interino



PETRUCELLI Miguel A.	Anat.y Fisiol. Patolog.	Interino
RAMIREZ Luis E.	Clín.Pequeños Animales	Interino
RENARD Jorge L.	Tecnol. y S. Alimentos	Interino
RIVADANEIRA Elisabeth	Clín.Grandes Animales	Reemplazante
RULE Roberto	Farmacol.F. y Terapéut.	Reemplazante
TABORCIA Juan A.	Enfermedades Infecciosas	Interino
URQUIOLA Horacio M.	Fisiología	Reemplazante
ZOHUAR Edith E.	Clín. Pequeños Animales	Interino

AYUDANTE DIPLOMADO "DEDICACION SIMPLE"

ALONSO Juan C.	Genética Microbiana	Interino
ALT Celia M.	Microbiología Especial	Interino
ALLEVATTO Susana del C.	Zotec.Gral. y Agrost.	Reemplazante
ANTONINI Alicia G.	Genética y Biometría	Interino
ARCHELLI Susana M.	Parasitología Comparada	Interino
BEDOTTI Daniel O.	Clín.Grandes Animales	Interino
BUSCAGLIA Celina	Zotec.Espec. III Pte.	Interino
CALVO Carlos J.	Anatom. y Fisiol. Pat.	Interino
CAMINOA Ricardo A.	Animales de Laboratorio	Interino
CATALANO Vicente A.	Sección Audiovisuales	Interino
CERRUTTI Augusto S.	Fisiología	Interino
COLOCCIA PAYBA Lilian G.	Anatom. y Fisiol. Patolog.	Interino
CORTEZ Guillermo F.	Higiene, Epid. y S.Pública	Interino
COURREGES Marta M.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino
CREDARO Cristina N.	Análisis Clín. II Parte	Interino
D' AGOSTINO Liliana E.	Introd. a la Bioquímica	Interino
DELGADO CAFFE Osvaldo	Bioestadística	Interino
DI LEO Julio A.	Zotec.Espec. I Pte.	Interino
DOMINELLI Heraldo A.	Patolog.Quirurg.y Pod.	Interino
ELSO Liliana E.	Enfermedades Infecciosas	Interino
FERREYRA Juan C.	Farmacolog.F. y Terap.	Reemplazante
FRIGOLI Alicia E.	Introd. a la Biofísica	Interino
GONZALEZ Ester T.	Microbiología Aplicada	Interino
GUILLEN Griselda	Análisis Clín. I Pte.	Interino
IRASTORZA Jorge A,	Patología Médica	Reemplazante
IRIGOYEN Isabel A.	Introd. a la Bioquímica	Interino
KNAVERHASE Federico L.	Patolo.Reprod.y Obst.	Interino
LASTA Gregorio	Semiología y Propedéut.	Reemplazante
MEZZERA Ana M.	Clín.Pequeños Animales	Interino
PENSA Daniel A.	Micol. Méd. e Indust.	Interino
PEREZ León	Introd. a la Biofísica	Reemplazante
PIAZZA Delia D.	Microbiología Aplicada	Reemplazante
ROMERO Jorge E.	Parasit. y Enferm.Parasit.	Interino
SANGUINETTI Héctor R.	Anat. y Fisiol. Patolog.	Interino

DIRECCION DE ENSEÑANZA: 12 de Octubre de 1981.

## I N T R O D U C C I O N

El Virus Junín tiene distribución restringida a cierta área geográfica de la República Argentina considerada como endémica. Fué aislado por primera vez en 1958 de pacientes con el cuadro clínico actualmente conocido como "Fiebre Hemorrágica Argentina" y que en épocas de su primer aislamiento se llamaba "Mal de los Rastrojos", "Gripón", "Enfermedad del Sello", "Mal de O'Higgins", etc.

Taxonómicamente es un Arenavirus, y antigénicamente se encuentra en el grupo Tacaribe.

El virus ha sido aislado en numerosas oportunidades de humanos y roedores silvestres en donde también se han podido detectar anticuerpos fijadores de complemento para Junín, que delatan la infección pasada aunque no se haya registrado enfermedad clínica.

Dentro del marco epidemiológico no se han hecho estudios que permitan conocer la infección ó falta de la misma en animales domésticos que habitan los campos en donde se encuentran roedores infectados que con la orina contaminan el medio ambiente y pasturas para alimentación.

### D E S C R I P C I O N · D E L P R O Y E C T O

1. Se estudiarán bovinos de la zona de Tandil correspondientes a cabañas, rodeos y tambos para ver si los mismos tienen anticuerpos contra virus Junín.
2. Haremos nuestro sistema homólogo fijador de complemento usando como semilla la cepa prototipo XJ apatógena para cobayo.

Se inocularán con esta cepa ratones recién nacidos por vía intracerebral con dilución  $10^{-2}$  en buffer pH 7,2 más 0,75% de albúmina bovina y se cosecharán los cerebros de ratones a los 7 u 8 días posteriores a la inoculación con los cuales se hará antígeno sucrosa-acetona siguiendo el método descrito por Clarke y Casals.

Como suero inmune se usará fluido ascítico obtenido en ratones con dos inyecciones intraperitoneales espaciadas por 21 días a los cuales se les desencadenará ascitis con Sarcoma 180.

3. Se hará primero una encuesta serológica usando Fijación de Complemento con tres

diluciones dobles de suero previamente inactivado por calor, usando la dilución óptima de antígeno capaz de fijar complemento.

4. Todo suero que resultare positivo ó dudoso en la primera prueba panorámica será analizado nuevamente por fijación de complemento, esta vez en damero para confirmar su resultado.
5. Los sueros que resultaren positivos serán probados por neutralización para verificar especificidad para Junín, usando para esta prueba ratones recién nacidos.
6. Se podrán realizar estudios complementarios en caso de ser necesario. Por ej.: más neutralizaciones u otras pruebas serológicas en caso que no se encuentren anticuerpos fijadores de complemento para Junín en vacas.
7. Se realizarán análisis de los resultados e interpretación de los mismos.

#### FINALIDADES ESPECIFICAS

1. Conocer mejor la epidemiología de virus Junín.
2. Contribuir a la evaluación de los bovinos como animales centinelas para determinar la presencia de virus Junín en un campo.

## C O N T E N I D O

	Página
Título . . . . .	1
Resumen. . . . .	2
Summary. . . . .	2
Introducción . . . . .	3 - 13
Material y Métodos . . . . .	13 - 21
- Zona en estudio	
- Sueros encuestados	
- Cepa de referencia	
- Suero patrón	
- Antígeno	
- Control de sistema fijador de Complemento	
- Prueba de Fijación de Complemento	
- Neutralización	
- Inmunodifusión	
Resultados . . . . .	22 - 23
Discusión . . . . .	23 - 24
Conclusiones . . . . .	24 - 25
Figura y tablas. . . . .	26 - 31
Bibliografía . . . . .	32 - 37

T I T U L O

"VIRUS JUNIN: Encuesta Serológica en Bovinos del Partido de Tandil".

Tesis presentada por el Médico Veterinario DANIEL ANTONIO PARDO \* para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

DIRECTORA DE TESIS: Dra. Norma Evangelina Mettler, Profesora Titular de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires, y Miembro Carrera de Investigador de la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Pcia. de Buenos Aires.

h

---

\* Ayudante de 1ra. con dedicación exclusiva en la Cátedra de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires y Ayudante de 1ra. en las Cátedras de Enfermedades Infecciosas y Producción Ovina de la misma Institución.

---

— AÑO 1981 —

## R E S U M E N

Se analizaron por Fijación de Complemento (FC) contra virus Junín, 1279 sueros bovinos del Partido de Tandil. La positividad fué de 1.79% con títulos que oscilaron entre 1/4 a 1/32. Los porcentajes de acuerdo a los 5 lugares que resultaron positivos sobre los 13 muestreados, oscilaron entre 1,40% a 13,33%.

Respecto a las edades de los animales con serología positiva, contaban entre un mes y 5 años.

Sesenta y cinco sueros incluyendo los positivos por FC no fueron capaces de neutralizar 100 DL<sub>50</sub> de virus Junín inoculadas en ratones lactantes por vía intracerebral. Se discuten las posibles causas de estos resultados.

## S U M M A R Y

One thousand two hundred seventy nine bovine sera from Tandil county were tested by Complement-Fixation against Junín virus. Positive results with titers between 1/4 to 1/32 were found in 1,79% of them. Five of thirteen places investigated were found positive by CF with positivity ranging from 1,40% to 13,33%.

Positive sera by CF were found in bovines from 1 month to 5 years old.

None of the 65 sera tested including the ones positive by CF could neutralized 100 DL<sub>50</sub> of Junín virus inoculated to suckling mice by intracerebral route.

The causes of these results are discused.

## I N T R O D U C C I O N

La familia Arenaviridae debe su nombre a la raíz latina "arenosus", debido al aspecto que tienen los viriones cuando se ven en el microscopio electrónico; está constituida al menos por 11 miembros o especies (1), estando encabezada por el virus prototipo Coriomeningitis Linfocitaria ó LCM (del inglés Lymphocytic Choriomeningitis) aislado primeramente por Armstrong y Lillie en 1934 (2). Antigenicamente y basándose en reacciones cruzadas de Fijación de Complemento (FC) y prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), la familia se subdivide en dos grupos: el primero incluye los virus LCM y Lassa, además de otro antigenicamente relacionado a Lassa aislado en Mozambique; el otro complejo denominado grupo Tacaribe y formado en 1962 (3) está integrado por el virus homónimo Tacaribe, Junín, Machupo, Amaparí, Latino, Tamiami, Pichindé, Paraná y Flexal (1,4). En la tabla 1 se aprecian las especies que constituyen la familia Arenaviridae, las abreviaturas internacionales que los identifican, nombre de cepa prototipo, año de aislamiento, procedencia y distribución geográfica.

Del grupo Tacaribe vamos a referirnos al virus Junín que fuera aislado a raíz de los estudios efectuados para buscar la causa de una enfermedad hemorrágica que se presenta como endémica en algunas provincias de nuestro país.

El virus Junín comparte con los demás miembros de la familia Arenaviridae similares características físico-químicas. Son pleomorfos ó esféricos de 50 a 300 nm; contienen un núcleo central con partículas diseminadas similares a ribosomas (de allí el aspecto de arena). En cortes finos, los viriones se ven como bolsas membranosas con proyecciones en cuyo interior se encuentran de 2 a 10 gránulos densos de 20 a 25 nm, semejantes a ribosomas en tamaño, densidad y apariencia, que desarrollan en el citoplasma, y maduran sobre la membrana plasmática de la célula huésped, formando en grandes masas, cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos (1, 5).

El virus Junín posee una densa membrana lípida bilaminada y genoma de ácido ribonucleico (RNA), de cadena simple, fragmentada en 4 segmentos largos y entre uno y 3 segmentos cortos; la simetría es desconocida y la envoltura es labil a solventes lípidos; es sensible al éter, cloroformo, al desoxicolato de sodio y también a la acidificación (labil a pH 5,5), siendo el pH óptimo para la viabilidad del virus,

de 7,1 a 7,4. Es labil también a la luz ultravioleta y a la radiación gamma. En cuanto a la temperatura muere a 56°C en 30 minutos, pero en suspensiones de órganos infectados en una solución tampón pH 7,2 con el agregado de 0,75% de albúmina bovina persiste durante años a -70°C sin pérdida de la infectividad. Cuando se guarda en hielo seco, si no está perfectamente sellada la ampolla, es inactivado por la difusión de CO<sub>2</sub>. El cambio de temperatura que ocasiona el descongelamiento y congelamiento sucesivos va disminuyendo el título de virus, mientras que un buen método de conservación es la liofilización de las suspensiones infectadas (1, 4, 6, 7).

El virus Junín fué aislado en 1958 como resultado de estudios llevados a cabo por dos equipos de investigadores que trabajaban independientemente para averiguar la etiología de la enfermedad. Uno estaba encabezado por el Dr. Pirotsky (8) y avalado por el Ministerio Nacional de Salud Pública; el otro, provenía de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Buenos Aires, motivados por la invitación de médicos locales del área endémica, constituido por personal del Departamento de Enfermedades Infecciosas, dirigido por el Dr. Ruggiero, y el Departamento de Microbiología y Parasitología, dirigido por el Dr. Greenway (9).

También asistió a esa zona una tercera comisión avalada por el Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires, y encabezada por el Dr. Martínez Pintos.

Todo este personal se dirigía al área del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires donde ese año, la epidemia había sido más severa que otras veces (partido de Rojas, Junín, Chacabuco, Gral. Viamonte, Bragado, Alberti, 9 de Julio), en especial el Hospital Regional de Junín para coleccionar sangre, fluído espinal, gargarismos, orina y heces en pacientes, y trozos de órganos de casos fatales, para inocularlos en animales de laboratorio y en medios de cultivo para bacterias y hongos, centrándose la investigación en la búsqueda de microorganismos patógenos, especialmente virus y leptospiras.

El equipo de la Universidad Nacional de Buenos Aires aisló tres cepas de un mismo agente procedentes de tres pacientes. Las mismas se obtuvieron a partir de sangre, orina (un caso de hamaturia) y de órganos, respectivamente.



El agente se llamó "virus Junín" por ser el Hospital Regional de Junín, el lugar donde se encontraban los enfermos de los cuales las cepas fueron aisladas.

Por otro lado, el equipo del Dr. Pirotsky también aisló un virus con comportamiento similar al aislado por la Universidad Nacional de Buenos Aires (8). En 1961, los virus aislados por ambas instituciones fueron comparados en el Instituto Rockefeller, constatándose que eran cepas de un mismo virus, que era un virus nuevo, y que sólo se relacionaba por FC con el virus Tacaribe y que a la vez se distinguía de él por neutralización (NT) (3).

El virus Junín es el agente causal de la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA), enfermedad conocida también con otros nombres, como Mal de los Rastrojos, Mal de O'Higgins, Enfermedad del Sello, Enfermedad de Junín, Gripón, etc, todos apelativos aplicados por los médicos de las zonas donde aparecía cuando no se conocía la etiología (1, 5).

Según Martínez Pintos, epidemias de variable intensidad se recuerdan desde 1943. Aún antes se habían observado en 9 de Julio (Provincia de Buenos Aires), síntomas de lo que llamaron "una gripe maligna", que generalmente afectaba a trabajadores rurales (10).

Más tarde, en 1953 y 1954, Arribalzaga informaba acerca de una enfermedad similar en Bragado y Alberti (Provincia de Buenos Aires), haciendo la primera descripción clínica detallada de un grupo de pacientes que se ocupaban de recolectar papas. Atribuyó como causa probable un virus si bien el intento de aislamiento de agentes de tipo bacteriano ó viral fué inútil. Hablaba de "una nueva enfermedad de etiología desconocida: nefrotóxica y caracterizada por hipertermia enantemática". El pico de casos ocurrió en abril y mayo, fué disminuyendo para desaparecer después de agosto, enfermando más los hombres que las mujeres, y sólo unos pocos casos de niños de 10 a 12 años (12).

Durante 1955, 1956 y 1957, si bien no hubo publicaciones ni registros oficiales de casos, los médicos del área endémica año a año los observaban, y solicitaron ayuda a las autoridades sanitarias. Al año siguiente, se efectuarían los primeros aislamientos del virus, tal como ya se describiera.

En un principio, se consideró zona endémica al Noroeste de la Provincia de Buenos Aires. Actualmente, abarca también porciones de las Provincias de Córdoba, Santa Fé y La Pampa, áreas de importante producción agrícola-ganadera, coincidente con la presencia de poblaciones de roedores silvestres, quienes cumplen un rol fundamental como reservorios del virus Junín. Es evidente que el área endémica se va extendiendo (7, 11).

La investigación bibliográfica e información obtenida a través de los médicos de la zona del partido de Tandil llevó a la conclusión que la epidemia de "enfermedad lauchera" aparecida en trabajadores rurales en el año 1944 corresponde por sus características clínicas y estudios epidemiológicos a lo que hoy llamamos FHA (1). En efecto, de abril a setiembre de 1944, enfermaron unas 500 personas de las áreas de Azucena y Cerro Chato del partido de Tandil, produciéndose unos 15 casos fatales. Casi todos eran trabajadores rurales que durante sus tareas tenían contacto con elementos contaminados con orina de lauchas; entonces la llamaron "enfermedad lauchera" y al enfermo "alauchado". En coincidencia, había gran afluencia de lauchas en el campo, las que también enfermaban y morían. Se describió esta enfermedad como hemorrágica con grandes leucopenias y en el momento se la interpretó como leptospirosis. Según Justo Garate, la epidemia se extendió a los partidos vecinos (Juárez, Rauch, Lobería, Ayacucho, Tres Arroyos) (13). Un médico de Tandil, el Dr. Pedro Cereseto, que atendió parte de estos pacientes, informa que una vez conocida la etiología de FHA colectó muestras de sueros de varios de ellos, los envió al "Instituto Nacional de Microbiología Carlos Malbrán" y allí encontraron anticuerpos neutralizantes contra virus Junín (comunicación personal del Dr. Cereseto). Desde entonces, casi todos los años, se registran en la zona unos 5 a 6 casos con características clínicas de FHA.

El virus Junín infecta diversas poblaciones de roedores silvestres (similares a ratones y ratas), que son reservorios del mismo en la naturaleza. Pertenecen a la familia Cricetidae que se encuentra en el Nuevo Mundo, y a la Muridae considerada del Viejo Mundo, pero que también se introdujo en el nuevo. Se han realizado aislamientos de *Calomys* ó *Hesperomys musculinus* (laucha manchada mediana), *Calomys laucha* (laucha manchada menor), *Akodon azarae* ó arenícola (ratón de las arenas) y *Mus musculus* (laucha doméstica). Ver tabla 2, donde además se cita la bibliografía.

Las áreas endémicas mencionadas incluyen las provincias más populosas con clima saludable y con extensa producción de granos, donde la población de roedores encuentra abundante alimento y protección contra predadores (23).

De los roedores nombrados parece ser que el más importante como reservorio (tal como ocurre en Córdoba) es el *Calomys musculinus* (14), del que se aislaron al menos 45 cepas en esa Provincia y 3 en la Provincia de Buenos Aires (15, 20).

De *Calomys laucha*, por lo menos se reportaron dos aislamientos en Córdoba (14) y de *Akodon azarae* se recuperaron al menos 5 cepas (14, 15). En 1958, de lauchas domésticas se recuperaron 10 cepas en 33 intentos de aislamientos (15).

En ellos, el virus fué capaz de multiplicar para después ser eliminado por secreciones y excreciones, en especial por saliva y orina, contaminando el medio ambiente, constituyendo así fuentes de infección para el hombre.

También se aisló virus Junín de otros animales silvestres como *Cavia pamparum* (cuis) y sus ectoparásitos pulicídeos y del *Lepus europeus* (liebre) (24, 25).

Se recuperó el virus de varias especies de ácaros (*Echinolaelaps echidninus*, *Mesostigmata* y *Eubrachielaelaps rotundus* y *Naemolaelaps glasgowi*) que estaban parasitando roedores, demostrando ser portadores (7, 20) posiblemente mecánicos sin que estén involucrados en un ciclo biológico natural.

Nunca se informaron aislamientos de mosquitos u otros artrópodos voladores (1).

Muchas de las personas que enferman son recién llegados a la zona endémica; a menudo son recolectores de maíz, o se ocupan de otras tareas rurales. Afecta más a los hombres con relación aproximada de 5 hombres: 1 mujer; en niños, se registraron muy pocos casos, no conociéndose ó tal vez no identificándose como FHA en lactantes (1, 7). Precisamente, en niños se aisló durante una epidemia en los años 1962-63 en este país, un virus que en principio se llamó Portillo, que produjo cuadros de síndrome urémico hemolítico; estudios posteriores demostraron que aquel agente no se distinguía de Junín por pruebas de FC ni de NT (26, 27, 28).

Desde las fuentes naturales, en especial roedores, el virus puede pasar a los humanos; los numerosos aislamientos a partir de pacientes con FHA y los estudios realizados hasta ahora, han demostrado que hay un sólo tipo antigénico del virus.

Luego de un período de incubación de 7 a 16 días pueden distinguirse el período inicial, la fase aguda y la convalecencia. La enfermedad dura de 7 a 15 días seguida de un mes de convalecencia y raramente se observan secuelas. La infección puede ser asintomática. Los cuadros sistémicos son hemorrágicos y/o neurológicos, habiendo en el período inicial ó de invasión que dura de 2 a 4 días, malestar, cansancio, escalofríos y dorsalgia; siempre están presentes la fiebre y la astenia acentuadas.

Son pocos los casos que comienzan con postración grave y dolor en la espalda y extremidades. Hay cefalalgia, dolor retroorbital y edema palpebral, congestión de las conjuntivas palpebral sin lacrimación. Hay rigidez muscular especialmente de la nuca y de los músculos costovertebrales, y trastornos mentales (obnubilación, confusión, mareos y apatía). Suele haber marcha vacilante y temblor de las extremidades superiores; es común la linfadenopatía no inflamatoria. Hay enantema de la mucosa bucal, observándose entre paladar blando y duro pequeñas hemorragias, petequias y microvesículas no dolorosas que pueden ser más numerosas en la fase aguda; a veces, hay anorexia, sed, náuseas, vómitos y dolor epigástrico. La constipación es más frecuente que la diarrea; a menudo, esta última se acompaña de melena y dura pocos días.

En la mayoría de los casos, hay bradicardia, hipotensión arterial y dolor a la palpación renal.

Durante la fase aguda, la sintomatología descrita se acentúa. Se agravan las lesiones hemorrágicas, pudiendo aparecer además epistaxis, enterorragia, y gingivorragias. Hay exantema en el tronco (axilas y tórax) que luego se extiende a las extremidades, a menudo petequial y a veces, confluyente, dando a la piel un aspecto purpúreo.

La fiebre es remitente, la presión sanguínea desciende bruscamente, pudiendo originarse anuria u oliguria seguida de poliuria prolongada; cuando sobreviene el coma urémico, el paciente muere.

Frecuentemente, se afecta en forma progresiva el sistema nervioso central, con manifestaciones de desorientación y delirio, estupor y convulsiones, pudiendo llegar al coma en sus fases terminales.

A pesar de la sed, no bebe para evitar espasmos de los músculos faríngeos y laríngeos.

En el pico de la enfermedad puede ascender la temperatura (39-40°C) y manifestarse la hiperestesia cutánea.

A nivel respiratorio, a veces sólo hay tos seca.

Durante el período final ó de convalecencia, desciende la temperatura, durando 2 a 4 semanas ó algo más en casos graves. La hiperemia facial y de las mucosas desaparece y las hemorragias cutáneas se reabsorben; se normaliza la presión arterial y suele caer el cabello parcialmente, para luego regenerarse.

El paciente revela un debilitamiento general y propensión a la fatiga.

El pronóstico es desfavorable sólo en casos con trastornos nerviosos agudos y/o con graves manifestaciones hemorrágicas.

La ayuda de laboratorio es fundamental para el diagnóstico del cuadro producido por virus Junín, basado en la tríada leucopenia, trombocitopenia y células en orina que se caracterizan por tener inclusiones hialinas eosinofílicas del citoplasma.

Experimentalmente, puede propagarse el virus en animales de laboratorio, cultivo de tejidos y embriones de pollos (1, 4, 7, 29).

Los animales de laboratorio más utilizados como huéspedes para virus Junín son los cobayos, ratones, ratas, cricetos y monos. En cobayos, puede ser inoculado por distintas vías con resultados similares; son utilizados como adultos jóvenes y se observan por 40 días. Esta especie generalmente responde con enfermedad y muerte, con poca sintomatología ó de corta duración; es común encontrarlos muertos ente el 10mo y 15vo día posterior a la inoculación.

Hasta ahora, el cobayo es el modelo experimental más semejante a la enfermedad del hombre, pues comparten las mismas alteraciones hemáticas; leucopenia, plaquetopenia y disminución de eosinófilos, aparición de monocitos atípicos, entre otras (30, 31).

Hay quienes marcan diferencias ente la patología humana y del cobayo, por ejemplo, los cuerpos acidófilos en hígado humano y no en el cobayo (32).

Se ha encontrado en humanos fallecidos con FHA, destrucción de la pulpa blanca esplénica y de la corteza de los nódulos linfáticos, a semejanza de lo que

ocurre en cobayos (33).

A veces, la infección sólo es evidenciada por formación de anticuerpos (1); se realizaron estudios inoculando cobayos con diluciones decimales crecientes de la cepa MC 2 de virus Junín, observándose en los sobrevivientes, las primeras conversiones serológicas por FC 15 días después de la inoculación; en los días siguientes, murieron más cobayos, pero los vivos seguían evidenciando anticuerpos FC aunque con títulos cada vez menores. Los anticuerpos neutralizantes persistieron por más tiempo (34).

La susceptibilidad de los ratones depende de su edad, de la ruta de inoculación (intracerebral (i.c.), intraperitoneal (i.p.), subcutánea (s.c.) y de la dosis; la vía más patógena es la i.c., y cuanto menos días de edad tiene al ser inoculado, mayor es el título de virus en cerebro. Siempre responde con sintomatología neurológica, siendo susceptibles a la inoculación i.c., ratones de 0 a 10 días, y a la i.p. y s.c., los de 0 a 3 días de edad; entre el 7mo y 8vo días hay temblor, pérdida de reflejos posturales, lateralización de la marcha, convulsiones y generalmente parálisis del tren posterior; los síntomas se acentúan pudiendo morir entre el 1ro y 9no días desde que aparentan estar enfermos. En ocasiones, pueden recuperarse por completo con formación de anticuerpos FC muy específicos, lo que permite diferenciar Junín de otros Arenavirus. Los ratones se observan durante 21 días para obtener títulos finales.

Para pruebas de NT podemos usar ratones de 5 a 7 días, y se pueden tener resultados finales observándolos por 14 días; esto se basa en la observación que el período de incubación de la enfermedad disminuye a medida que aumenta la edad del animal en el momento de ser inoculado. Cuando los ratones adultos son inoculados intracerebralmente, no son generalmente susceptibles, aunque a veces muere alguno sin sintomatología previa; la inoculación i.p. produce menor mortalidad aún, y por este motivo, puede usarse virus vivo para producir fluido ascítico ó suero inmune en ratones adultos.

Los ratones recién nacidos se utilizan para aislar y titular virus, para pruebas de NT, para producir antígenos a partir de cerebros cosechados al 7mo y 8vo días posteriores a la inoculación y para estudiar fenómenos de inmunidad (cuando se extrae el timo dentro del primer día de vida, el ratón no muere por inoculación del

virus Junín; otro hecho interesante es que la administración de suero antitimocito disminuye la mortalidad causada por el virus) (1, 26, 27, 35).

Las lesiones anatomopatológicas de los ratones que mueren a causa de virus Junín, presentan activación microglial, manguitos perivasculares linfocíticos en sistema nervioso central y desmielinización (1).

Otro de los animales de laboratorio usado, es la rata Wistar; la mortalidad máxima ocurre en ratas entre los 7 y 12 días de edad, mientras que las mayores de 19 días no son susceptibles; cuando se inoculan ratas de 2 a 3 días, por vía i.c., el 100% enferma, pero se recuperan quedando con secuelas (retardo del crecimiento, alteraciones motoras, pelo opaco y ralo y diarrea).

Cuando enferman, comienzan al 7mo día los signos neurológicos, con lateralización de la marcha, temblor, contracturas, y mueren con encefalitis similar a la de ratones. Los sobrevivientes forman anticuerpos (37).

El criceto lactante es afectado por el virus Junín pero su cerebro infectado no es tan adecuado como el ratón para la producción de antígeno FC.

En los pollos recién nacidos, la inoculación i.c. les produce parálisis seguida de muerte.

También hay ensayos con monos de distintas especies que resultan muy sensibles al virus Junín (1).

Respecto a la propagación de virus, ella puede hacerse en células HeLa, Vero, en línea celular de riñón de conejo en monocapa (MA 111) usando como medio el M 199 con 2% de suero fetal bovino, células de riñón de mono Rhesus, tanto primarias (RH MK) como continuas (MA 104), capaces de reproducirse con producción o no de acción citopatogénica. Precisamente, el efecto citopatogénico (ECP) fué demostrado por vez primera en células HeLa (cepa GEY) (38, 39).

Sin embargo, son las células Vero, línea continua de riñón de mono africano verde, *Cercopithecus aethiops*, tanto en tubo como bajo agar, las que permiten un buen ECP como así también el crecimiento de casi todos los virus conocidos (40); el ECP que producen todos los virus del grupo Tacaribe ocurre entre el 3ro y 5to días posteriores a la inoculación; de todos modos, conviene esperar 21 días para obtener títulos finales.

La propagación de virus Junín en células WI-26, WI-38, BSC-1, MA-104 ó MA-111 no se acompaña de ECP (1).

La cepa prototipo XJ de virus Junín se adaptó al embrión de pollo; la cepa produjo placas sobre la membrana corioalantoidea, semejantes a las ocasionadas por Herpes simplex ó virus Pox, demostrándose la especificidad de las lesiones por pruebas de NT. Posterior a la inoculación en la membrana corioalantoidea, el virus alcanzó su título máximo en 5 días. El título infectivo más alto se encontró en el fluido amniótico, seguido en orden decreciente por líquido alantoideo, cerebro, membrana corioalantoidea, saco vitelino, hígado y corazón. La inoculación endovenosa en el saco alantoideo, el saco amniótico y en el saco vitelino para determinar la mejor vía que permitiese obtener la concentración más alta de virus en el fluido alantoideo cosechado 7 días más tarde, reveló que la membrana corioalantoidea fué la mejor ruta (41, 42).

Aunque el cobayo ofrece más posibilidades de aislamiento pues admite mayor inóculo ( 2ml vía i.p.), no sirve como fuente de antígeno FC para identificar el virus aislado, por lo cual, se debe hacer pasaje de cobayo a ratón recién nacido ó a células Vero, huéspedes estos dos últimos que además de proporcionar antígenos FC, constituyen sistemas en los que se pueden realizar pruebas de NT, la más específica para identificar finalmente al virus (1).

La localización de antígenos en los tejidos de un paciente muerto, ó en células del sedimento urinario, puede hacerse por IFI (4), prueba que también puede usarse para identificar virus en tejidos de cobayo, ratón ó cultivos celulares infectados.

Los esfuerzos para preparar un antígeno hemoaglutinante con virus Junín no fueron exitosos (1).

Es posible infectar células BHK-21 con sangre de cobayo enfermo; 48 horas más tarde, se detectan en las células por IFI, antígenos de virus Junín. Este método podría aplicarse para el diagnóstico rápido en pacientes con FHA (43).

El área centro-sur de la Provincia de Buenos Aires, donde cada año se producen cuadros clínicos compatibles con los de virus Junín, ofrece una rica producción tanto agrícola como ganadera, donde los trabajadores rurales coexisten con diversas poblaciones de roedores silvestres y de bovinos. Estos últimos se encuentran



en mayor número que los humanos, están más tiempo en contacto con los pastos posiblemente infectados, en exposición más directa puesto que se alimentan de él y son además los animales expuestos al rastrojo para que limpien los campos, ni bien se levantan las cosechas, en aquellos en que no se usa el fuego para tal propósito. Esto hace que deban coexistir en la misma área no sólo con los roedores pertenecientes al campo en donde se los coloca, sino también con todos aquellos que aquí se refugian para huir del fuego.

Por todo lo antedicho, los bovinos, además de ser animales fáciles de sangrar y dóciles para manejar, se considera que si ellos realmente se infectaran con todas las secreciones y excreciones de los presuntos reservorios naturales y fueran buenos formadores de anticuerpos podrían ser utilizados como animales centinelas que nos permitan detectar la presencia de virus Junín en el área donde se encuentran ó donde eventualmente quiera determinarse la presencia del virus.

En el caso que en este trabajo todos los sueros fueran negativos por ausencia del virus Junín en el área muestreada, este estudio servirá a otros colegas para demostrar que donde no hay virus los bovinos que allí habitan no tienen anticuerpos. Estudios de esta naturaleza no han sido abordados en nuestro país.

## M A T E R I A L   Y   M E T O D O S

Zona en estudio: el Partido de Tandil está ubicado en la zona centro-sudeste de la Provincia de Buenos Aires, República Argentina; específicamente la ciudad del mismo nombre se ubica a 37° 17' de latitud Sur y 59°07'30" de longitud Oeste, con respecto al meridiano de Greenwich; la superficie del partido es de 493 500 hectáreas, limita al Norte con los Partidos de Azul y Rauch; al Sur con Lobería y Necochea; al Este, con Ayacucho y Balcarce y al Oeste, con Juárez. En cuanto a las distancias con la Capital Federal, la misma es de 331 km, en tanto que de Bahía Blanca la separan 309 km y de la costa atlántica 130 km, sin tener en cuenta el trazado de los caminos. Posee una población aproximada a 100 000 habitantes. La topografía del terreno es variada: tiene una cadena de sierras que pertenecen al Sistema de Tandilia que se extiende desde Cabo Corrientes y Punta Mogotes, en el Océano Atlántico, hasta la zona de Los Cerrillos, en las inmediaciones de Bolívar, en su extremidad mediterránea. Está cons-

tituída por sierras bajas y de fundamento arcaico, en longitud aproximada de 350 km y con ancho máximo de 65 km, resumiéndose su altura considerable en el Cerro Albión ó de Las Animas, ubicado dentro de nuestro Partido, con 500 m de altura. Además, posee valles, hondonadas, praderas y una fértil llanura que hace propicia la zona para la agricultura y la ganadería. La mayor parte de la red hidrográfica tiene origen en las vertientes de la serranía y es mucho más importante por el número de cauces que la componen que por el volumen permanente de sus aguas, sometido a las variaciones de la estación de lluvias; al respecto, cuando se producen grandes lluvias (hasta 200 mm en 2 ó 3 días), el agua de los arroyos desborda y se extiende aguas abajo del cauce definido, originando inundaciones "en manto", fenómeno que se repite de 3 a 6 veces por siglo. Los arroyos del partido se caracterizan por sus lechos muy nítidos, que a su vez son angostos y ofrecen orillas altas y abruptas de 3 a 5 m, decreciendo aguas abajo hasta llegar a un metro; en casi todos los casos, presentan huellas de la acción erosiva de socavamiento.

Posee todas las características del clima subtropical templado. No se caracteriza por un clima serrano pues tiene humedad superior al 60%, sino pampeano (altitud entre 175 y 200 m), húmedo y semilluvioso, la temperatura media anual es de 13°8' con oscilaciones constantes. En la estación veraniega, el clima es seco-húmedo. Las precipitaciones son abundantes; al hallarse Tandil y su extensión comprendidos en la isohieta de 800 mm.

Con respecto a los vientos, se ha mantenido la prevalencia de los provenientes del sector Sur, sobre las que se originan en los puntos cardinales del Norte, Nor-este, Este, Sureste, Suroeste, Oeste y Noreste; en verano, los vientos predominantes provienen del cuadrante meridional.

En cuanto a las comunicaciones para transportes en gran escala cabe señalar que el ferrocarril se extendió a Tandil por la vía que tocaba Dolores en agosto de 1883 e hizo lo propio con la correspondiente a Las Flores en el mes de agosto de 1891. Las estaciones del Partido que posteriormente formaron poblaciones de importancia son Tandil (cabecera), Azucena, de la Canal, Fulton, Gardey, Iraola, Vela y La Pastora (ver figura 1).

Las carreteras trazadas para la comunicación intervecinal que convergen en nuestra ciudad, son las provenientes de los centros poblados vecinos de Rauch, Azul,

Mar del Plata, Ayacucho, Juárez, Necochea, Lobería y Balcarce que pasan por pequeñas poblaciones intermedias (44).

La agricultura está representada principalmente por cultivos de trigo, avena, maíz, lino, girasol y papa, aunque existen otros en menor cuantía.

Durante la época de cosechas se origina un importante movimiento de poblaciones humanas abundantes provenientes de otras zonas de producción, por ejemplo del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, que como es sabido, es zona endémica de FHA, así renovándose cada año la posibilidad de entrada del virus Junín a esta zona. También suele llegar personal de provincias como Santiago del Estero y Tucumán para la cosecha de papa.

Respecto a la ganadería, había 366 647 cabezas de ganado bovino en el año de la encuesta (1979).

Sueros encuestados: se colectaron 1279 muestras de sangre de bovinos, para propósitos múltiples de 13 establecimientos del partido en estudio, correspondiendo según el tipo de explotación, 8 a tambos, 2 a cabañas y 3 a rodeos generales para cría y/o invernada. Las extracciones se efectuaron durante el período 6 de abril de 1979 al 21 de noviembre de 1979 y las ubicaciones de los establecimientos se muestran en la figura 1.

En la tabla 3 puede apreciarse cantidad de animales encuestados en cada establecimiento y tipo de explotación.

En la tabla 4 se observa el número de animales discriminados por edad y sexo.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción en la vena yugular, usando una aguja esteril por cada animal, previa desinfección de la zona con alcohol y algodón; se colectaron aproximadamente unos 20 ml de sangre por animal en tubo de ensayo esteril. En el laboratorio, se desprendieron los coágulos de las paredes del tubo, y se esperó a que estos se retrajeran, para luego ser centrifugados y separados del suero. Cada suero fué guardado en envase plástico, rotulado y conservado a -20°C, para integrarse al banco de sueros que comprende además muestras de otras especies animales y de humanos.

En el Libro de Banco de Sueros se asentaron los siguientes datos: número de orden, fecha de extracción, especie animal e identificación, raza, sexo, edad, ubica-

ción y número de Hoja Adicional. En estas hojas, una para cada establecimiento, se registraron detalles del mismo, antecedentes de los animales y otros datos de interés epidemiológico.

Cepa de referencia: este trabajo fué llevado a cabo con la cepa XJ de virus Junín, apatógena para cobayo, obtenida por Mettler y Casals en 1962 (3) y que fuera enviada por el Centro Mundial de Referencia para Arbovirus (YARU), Estados Unidos de Norteamérica (USA). La cepa que llegara liofilizada a este laboratorio, se rehidrató en 0,5 ml de solución tampón de fosfatos pH 7,2 más 0,75% de albúmina bovina, y se inoculó en dosis de 0,02 ml de dilución  $10^{-2}$  por vía i.c. a ratones de 0 a 3 días, para constatar la viabilidad de la semilla.

Suero patrón: el suero patrón que sirviera para comprobar la identidad del virus Junín con la cual trabajamos fué provista por YARU, USA, al igual que la semilla.

Antígeno: para realizar las encuestas serológicas fué necesario preparar el sistema homólogo, que consiste en antígeno y suero inmune contra el mismo virus Junín.

Para hacer el antígeno, se inocularon ratones recién nacidos (0 a 3 días) con 0,02 ml de una suspensión de virus  $10^{-2}$  en solución tampón de fosfatos con 0,75% de albúmina bovina por vía i.c. Al 7mo día posterior a la inoculación, se cosecharon los cerebros de los ratones así infectados y fueron procesados según el método sucrosa-acetona descrito por Clarke y Casals (45).

El peso de los cerebros infectados fué multiplicado por 4 para calcular la cantidad de sucrosa al 8,5 % que se agregaría. Los cerebros y la sucrosa se homogeneizaron y luego se midió su volumen con ayuda de una probeta; se gotéó este homogeneizado sobre una cantidad 20 veces mayor de acetona fría para precipitar los lípidos cerebrales, a la vez que se iba agitando suavemente.

Posteriormente, se eliminó la acetona ahora de aspecto lechoso; se agregó un volumen de acetona fría igual al extraído, y luego de dejar una hora para que el precipitado se disuelva, con la ayuda de una varilla de vidrio se redujo a polvo; se dejó sedimentar y luego de eliminar la acetona, se llevó a secar a bomba de vacío. Posteriormente, el material seco se hidrató con 0,4 ml de solución fisiológica estéril por cada ml de homogeneizado original y se guardó en heladera a 4°C hasta el día siguiente. Después, se centrifugó 30 minutos a 5000 rpm; el sobrenadante es el antígeno;

éste fué fraccionado en frascos plásticos, se rotuló y se guardó a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Toda la operación se realizó en frío.

Control de sistema FC: se aplicó la técnica clásica de arbovirología que sustituye el suero de ratón inmune por el fluído ascítico inmune. El Sarcoma 180, propagado en cavidad peritoneal de ratón, provoca ascitis en pocos días (46). Si los ratones son antes inmunizados contra virus Junín, el fluído ascítico que se va acumulando se considera inmune contra dicho virus. El mismo se obtuvo inoculando ratones adultos vía i.p. con 0,3 ml de una suspensión de cerebros de ratón lactante infectado con XJ al 10% en solución fisiológica esteril. Veintiún días después se repitió la inoculación, y al día siguiente, se les inoculó Sarcoma 180 fresco con la misma dosis y por igual vía.

Una vez inoculado el Sarcoma 180, cuando las cavidades abdominales estaban pletóricas entre el 7mo al 11vo día posterior a la inoculación del Sarcoma comenzaron a obtenerse los fluídos ascíticos. Se esperó a que coagularan, se centrifugaron y los sobrenadantes considerados sueros inmunes, se mezclaron y esta mezcla se guardó a  $-20^{\circ}\text{C}$ , fué envasada en frascos plásticos y debidamente rotulados.

Con el antígeno sucrosa-acetona y el inmunosuero, se procedió a buscar el título homólogo FC; para esto se realizaron reacciones en damero con diluciones crecientes del suero frente a diluciones crecientes de antígeno, ambos a partir de 1:4.

El título homólogo resultó ser 128/1024, donde el numerador de la fracción indica la máxima dilución de suero positiva y el denominar indica la máxima dilución de antígeno positiva.

Además, se confirmó la identidad del virus enfrentando el antígeno con el suero patrón.

#### Prueba de FC

Diluyente: se realizó una solución de tampón veronal, compuesta por ácido dietil barbitúrico (barbital), barbital sódico, cloruro de Sodio, cloruro de Magnesio y cloruro de Calcio en agua destilada por cada litro. Esta solución llamada madre fué diluída 1:5 momentos antes de realizar la reacción de FC y previamente filtrada por papel de filtro para su uso.

Complemento: se extrajo sangre de cobayo adulto vía intracardíaca y se dejó coa-

gular en frío. Fué centrifugado para separar el suero que constituiría el complemento y posteriormente fué fraccionado y rotulado para ser guardado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , hasta ser titulado antes de cada reacción de FC.

Glóbulos rojos de ovino: con aguja y jeringa estériles se extrajo sangre de ovino en solución de Alsever (conservadora y anticoagulante) en la proporción de 2 a 4 partes de sangre y 10 de Alsever; esta solución está compuesta de citrato de Sodio, dextrosa, ácido cítrico y cloruro de Sodio en agua destilada.

La sangre así colectada se llevó a homogeneizador y se guardó 24 horas a  $4^{\circ}\text{C}$  en heladera; luego, se centrifugó durante 10 minutos a 2000 rpm, se descartó el sobrenadante quedando solamente los glóbulos rojos, los que fueron lavados 3 veces en solución fisiológica durante 10 minutos a 2000 rpm; luego del último lavado se dejaron en una concentración final del 20%, en donde se conservan en buenas condiciones por el término de una semana.

Se usaron diferentes tandas obtenidas cada tres semanas aproximadamente, que se dejaban conservadas en Alsever hasta el momento de ser lavados para su uso.

En el momento de ser usados eran llevados al 2,5% con el diluyente utilizado para las pruebas de FC.

Hemolisina: fueron colectados y lavados del modo ya indicado en el punto anterior, pero fueron llevados a una concentración final del 30% en solución fisiológica.

Los glóbulos rojos así tratados fueron inyectados en conejo adulto. Se dieron 3 dosis, las 2 primeras fueron de 5 ml vía endovenosa, espaciadas 7 días y la tercera de 10 ml vía i.p. a los 14 días de la primera. Siete días después de la última inyección se sangró parcialmente el conejo vía intracardíaca y se separó el suero; se efectuaron 2 extracciones más con intervalos de 7 días, obteniéndose el suero; posteriormente, se buscó el título hemolizante de estos sueros para glóbulos rojos de ovino. Para esto, se realizaron 10 a 12 diluciones dobles de hemolisina (también llamada amboceptor), partiendo de una dilución 1/100; se tomaron partes iguales de cada dilución con partes iguales de glóbulos rojos ovinos al 2,5 % (tal como se usa en FC). Los tubos se dejaron a temperatura ambiente 15 minutos, luego se les agregó complemento diluido 1:30 ó 1:40 (representando un exceso de complemento); se agitaron suavemente y se llevaron a Baño María a  $37^{\circ}\text{C}$  duran-

te 30 minutos.

La dilución más alta de hemolisina capaz de dar hemólisis completa se interpretó como el título de la misma y esta dilución representaba una unidad hemolítica.

Los títulos obtenidos para las distintas muestras de hemolisina oscilaron entre 1:2400 a 1:3200. Se guardaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  debidamente envasadas y rotuladas hasta el momento de ser usadas.

Sistema hemolítico: formado por hemolisina 1:600 a 1:800 según la tanda usada y glóbulos rojos de ovino al 2,5%.

Reacción de FC: la reacción utilizada fué la habitual para arbovirus con 2 unidades FC y 2 unidades de hemolisina (47), para lo cual se realizaron titulaciones preliminares de reactivos en tubos.

Las pruebas se hicieron en microplacas, donde se probaron los sueros en reacciones panorámicas de manera que con cada uno se efectuaron 3 diluciones dobles a partir de 1:4 enfrentando 8 unidades FC de antígeno XJ extraído con sucrosa-acetona, representado por la dilución 1:128. Iguales diluciones de suero se usaron con antígeno de cerebros infectados por un virus antigénicamente no relacionado, también tratado con sucrosa-acetona y contra diluyente en vez de antígeno para control de anticomplementariedad del suero.

Además de los sueros problemas, se incluyó el suero experimental del sistema homólogo para la cepa XJ.

En cada prueba se agregaron los controles para la titulación final de complemento y para averiguar la pro ó anticomplementariedad de cada antígeno utilizado.

Las mezclas suero-complemento-antígeno se incubaron toda la noche a  $4^{\circ}\text{C}$ ; al día siguiente, se dejaron las microplacas a temperatura ambiente y se preparó la mezcla hemolítica que luego se sensibilizó a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 15 minutos; posteriormente se incorporó la mezcla a la reacción, se agitaron las placas durante 3 minutos y se incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos; luego, se agitaron nuevamente y se llevaron a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su lectura, la que fué realizada sobre visor con espejo apropiado. Una reacción es considerada positiva cuando tiene 3 ó 4 cruces; es decir, cuando queda del 75 al 100% de glóbulos rojos sin hemolizar, y los valores restantes se consideran negativos.

En estas primeras pruebas panorámicas, los sueros que fueron positivos, dudosos por fijación parcial ó anticomplementarios, se probaron otra vez pero en darme-ro, es decir con diluciones crecientes de suero frente a diluciones crecientes de antígeno comenzando de 1:4 para ambos, para confirmar su positividad ó aclarar la duda.

#### Prueba de NT

Semilla : se colocaron 20 cerebros de ratón lactante infectados con la cepa XJ en un homogeneizador junto con 18 ml de solución tampón de fosfatos pH 7,2 más 0,75% de albúmina bovina. Después de homogeneizarlos, se centrifugaron en frío durante 30 minutos a 10000 rpm; el sobrenadante, que era la semilla, se fraccionó en cantidad de 0,5 ml por tubo, se rotuló y se guardó a -70°C.

Suero control: se usó el mismo que se incluyó como control en las pruebas de FC, obtenido en ratones adultos.

Huésped: se utilizaron ratones lactantes de 0 a 7 días inoculados intracerebralmente. Los mismos fueron observados diariamente por 21 días para obtener los resultados finales.

Titulación de la semilla: se diluyó la semilla a partir de  $10^{-1}$  y hasta  $10^{-10}$  en tampón de fosfatos más 0,75% de albúmina bovina y se inoculó una cría de ratones recién nacidos por dilución. Cada camada fué reducida a 8 ratoncitos al día siguiente de la inoculación. Los ratones fueron observados todos los días por el término de 3 semanas. Una vez obtenidos los datos de mortalidad se buscó el título del virus por el método de Reed y Muench, el que resultó ser de  $10^{-6}$  por cada 0,02 ml de virus empleado.

Pruebas de NT: se aplicó a los sueros que en reacciones de FC dieron resultados positivos ó dudosos y a los sueros provenientes de bovinos igual ó mayores de 12 años de edad; por tener más probabilidades de haber estado expuestos al virus.

Los sueros se emplearon puros y sin inactivar; los anticuerpos neutralizantes se buscaron mezclando cada suero con partes iguales de 100  $DL_{50}$  del virus; también se incluyeron los controles de sistema y de titulación. Las mezclas virus-suero fueron incubadas durante una hora a 37°C; posteriormente, se inoculó una ca-



mada de 8 ratones por cada suero en estudio más otra para control de sistema con 0,02 ml vía i.c.

La observación se realizó durante 21 días consecutivos para averiguar la cantidad de muertos y sobrevivientes. Las pruebas de neutralización se consideraron positivas cuando sobrevivieron el 50% ó más de los ratones inoculados con las mezclas virus-suero.

#### Prueba de Inmunodifusión (ID)

Antígeno: se usó el antígeno extraído con sucrosa-acetona, que ya fuera descrito.

Suero control: se utilizó el mismo suero de las reacciones anteriores.

Solución tampón: fué preparado con hidróxido de Sodio y ácido bórico en agua destilada, siendo el pH de la solución aproximadamente 8,6, siendo similar a la usada para las pruebas de Coggins (48).

Placas y gel de agar: se utilizaron placas plásticas de 4,5 cm de diámetro y en ellas se colocaron 2 ml de agar noble diluído al 2% en la solución tampón de modo de obtener una capa de aproximadamente 1,3 mm de altura; una vez solidificado, se colocó sobre la primera capa 3 ml de agar noble al 1% y se dejó enfriar tapándola parcialmente para impedir que se formase agua de condensación. Las placas así preparadas se llevaron unas 2 horas a 4°C y luego con un sacabocados de bronce, se cortaron 7 círculos, uno central y 6 periféricos, interesando sólo la capa superior y se extrajeron con una espátula roma. Cada círculo tiene 8 mm de diámetro y una separación de 3 mm entre ellos; el volumen aproximado que acepta cada pocillo es de 0,1 ml.

Reacciones de ID: se verificó el correcto funcionamiento del sistema homólogo enfrentando el antígeno con suero homólogo y suero normal de ratón; por otro lado, el suero homólogo fué probado con cerebro de ratón normal también extraído con sucrosa-acetona. Verificada la bondad del sistema, se hizo la encuesta a los mismos sueros usados para NT, colocando el antígeno puro en el pocillo central; en los laterales, se depositó alternadamente el suero homólogo puro y en los restantes los sueros problemas; de esta manera, en cada placa se probaron 3 sueros.

## R E S U L T A D O S

De los 1279 sueros analizados por pruebas de FC para virus Junín, 22 fueron confirmados como positivos por pruebas en damero, en títulos que oscilaron entre 1:4 a 1:32 lo que da un porcentaje global del 1,79% de positividad (ver tabla 5).

Cuando analizamos los 13 establecimientos encuestados vemos que sólo 5 de ellos tuvieron uno ó mas animales con anticuerpos FC; y de estos 5, 4 fueron tambos y otro una cabaña. La ubicación de estos 5 establecimientos en el partido de Tandil corresponden a las zonas del centro del Partido (ver figura 1 con los establecimientos rodeados por círculos). De estos 5 establecimientos con animales positivos los porcentajes fueron de 9,53% para el lugar F; 3,7% para el lugar M; 1,73 % para el lugar K; 13,33% para el lugar J y 1,40% para el lugar D. Los otros establecimientos resultaron con sueros totalmente negativos por FC.

Las edades de los animales positivos por FC oscilaron entre un mes a 5 años llamando la atención que la positividad predominó en animales jóvenes (ver tabla 5). Hubo 4 terneros de un mes positivos de manera que es difícil establecer si los anticuerpos presentes fueron adquiridos pasiva ó activamente siendo dable suponer que pueden ser pasivos, transmitidos a través de leche ó calostro.

Respecto al sexo de los 22 positivos, 19 eran hembras y 3 machos, pero esto no es más que la diferencia que existe entre los porcentuales de la muestra total en donde 94,05% de los animales encuestados eran hembras y sólo un 5,95% machos.

En cuanto a las razas positivas todos los animales eran Holando Argentino, excepto dos de ellos: un macho de cabaña que era Aberdeen Angus y otro un Pardo Suiizo agregado a un tambo.

Por NT se analizaron todos los sueros positivos por FC, los que dieron resultados de fijación parcial por prueba panorámica y muchos que siendo completamente negativos por FC, correspondían a vacas de 10 años ó mayores. En total, fueron analizados 65 sueros de los cuales todos resultaron negativos, es decir, incapaces de neutralizar 100 DL<sub>50</sub> de virus Junín inoculados por vía i.c. a ratones (ver tabla 5).

Por ID, las únicas bandas de precipitación observadas correspondían a los

controles de sistema homólogo excepto 3 sueros bovinos que presentaron precipitación evidente, pero también lo hacían contra antígeno de cerebro no infectado preparado de la misma manera que el XJ, y también con cerebros infectados con virus no relacionados. Estas líneas daban trazos de no identidad con XJ: es decir, no hubo sueros bovinos positivos por ID contra XJ, usando el sistema descrito en este trabajo.

### D I S C U S I O N

Se han encontrado anticuerpos FC contra Junín en 22 sueros bovinos de 1279 analizados, sin embargo, ninguno de ellos fué capaz de neutralizar 100 DL<sub>50</sub> de virus inoculados a ratones lactantes por vía i.c.

La interpretación de estos resultados deja al descubierto varias posibilidades:

1) Que los anticuerpos sean contra virus Junín y la NT fuera negativa por: a) falta de sensibilidad de la reacción

b) falta de anticuerpos neutralizantes a pesar de haberlos fijadores de complemento.

2) que los anticuerpos sean dirigidos a un virus antigénicamente relacionado por FC a Junín, pero diferente del mismo (cualquier otro virus del grupo Tacaribe, conocido o no).

3) Que los anticuerpos sean dirigidos contra algún otro antígeno presente en los cerebros de ratones empleados para hacer antígeno.

Si consideramos la primera posibilidad, veremos que esto es factible porque se eligió una prueba de NT muy específica pero muy poco sensible, ya que es la inoculación i.c. directa a ratones recién nacidos de una cepa ya adaptada a sistema nervioso central de ratón.

En 1b se admite la falta de anticuerpos NT y presencia de anticuerpos FC. Esto es factible y generalmente puede darse en animales que portan el virus crónicamente como son algunos reservorios para arbovirus en la naturaleza. Apoyando esto tenemos que la infección crónica con virus Junín en otros mamíferos como ratones ya ha sido descrito (49) y la infección de bovinos por Arenavirus también, como lo

indican los estudios realizados en Nigeria con virus Lassa (50).

Otra de las posibilidades es que los anticuerpos sean dirigidos contra virus antigénicamente relacionados con Junín aunque diferentes de él. Es factible, aunque hasta ahora sólo tenemos conocimiento de otro Arenavirus en roedores silvestres en nuestro país, LCM (51), y este virus difícilmente cruce con Junín por FC ya que generalmente no lo hace ni con sueros experimentales entre ambos sistemas.

En cuanto a la posibilidad que los anticuerpos sean dirigidos contra algún otro antígeno presente en los cerebros de ratones, es remota pero factible. Remota porque los cerebros de ratones normales usados como control en antígeno sucrosa-acetona, provienen de la misma colonia de animales usados para hacer el antígeno Junín. Si hubiera habido anticuerpos contra cerebro de ratón, que en algún caso los hubo, estos sueros fueron considerados negativos para Junín y no figuran en los 22 positivos. Sin embargo, la presencia de algún virus de ratón presente en algunos animales usados y no en otros, no puede descartarse científicamente, aunque esta posibilidad puede ser rotulada de remota.

Como desafortunadamente todas las reacciones de sueros bovinos contra Junín por ID fueron negativas, esta prueba que en caso contrario hubiera podido aclarar la identidad ó no de anticuerpos con respecto a controles, tampoco lo hizo.

En definitiva, y considerando que varios pueden ser los factores a considerar como responsables de la falta de oportunidad de poder demostrar la fehaciente identidad de los anticuerpos como pertenecientes a respuestas de infección por virus Junín; dable es proseguir los estudios en esta línea para aclarar todo lo que concierne a todas y a cada una de las causas expuestas.

### C O N C L U S I O N E S

En lo que respecta a la hipótesis de este trabajo sobre la posibilidad de buscar anticuerpos contra Junín en bovinos de un área determinada para saber si el virus está presente ó no en la naturaleza, podemos decir que usando FC pueden encontrarse anticuerpos, pero para emitir juicio sobre identidad de los mismos contra Junín ó sensibilidad de este animal como centinela, habría que continuar los trabajos. Otras especies de grandes y medianos animales domésticos por un lado (ca-

ballos, ovejas, etc); y el uso de sistemas más sensibles de NT para determinar especificidad y además comparar animales de zonas establecidas como de alta endemicidad con respecto a otras infectadas en menor grado de acuerdo a otros parámetros como porcentaje de roedores silvestres infectados ó de anticuerpos en trabajadores rurales de la zona en estudio, podrían aclarar los puntos arriba mencionados.

FIGURA 1. PARTIDO DE TANDIL, PROVINCIA DE BUENOS AIRES,  
ARGENTINA

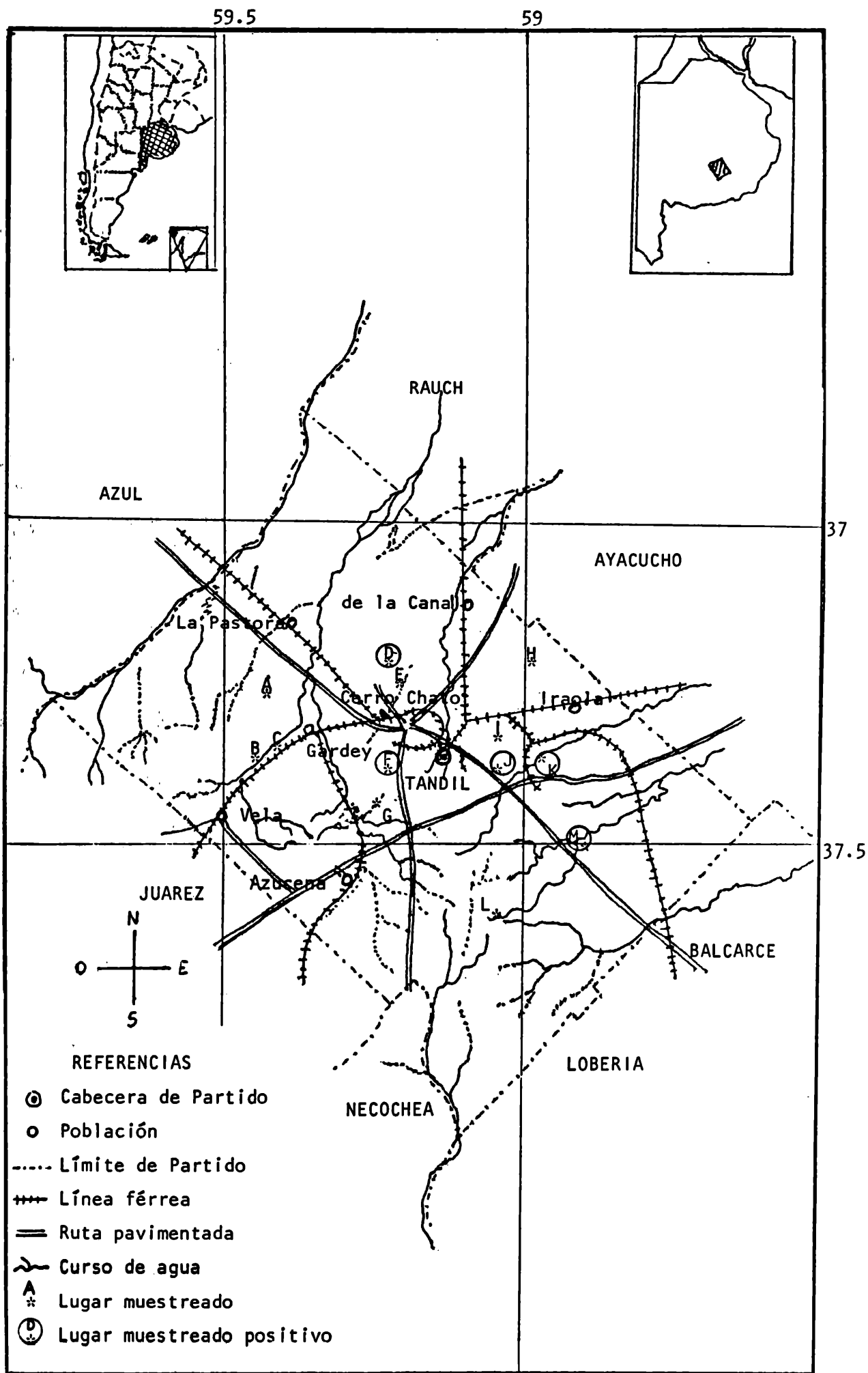


TABLA 1. FAMILIA ARENAVIRIDAE, VIRUS QUE LA INTEGRAN\*

VIRUS	ABREVIATURA	CEPA PROTO-TIPO	AÑO DE AISLAMIENTO	PROCEDENCIA	DISTRIBUCION GEOGRAFICA
Coriomeningitis Linfocitaria	LCM	Armstrong E 350	1934	U.S.A.	Mundial (aunque no aislado en Africa y Australia)
Tacaribe	TCR	TR 11573	1956	Trinidad	Trinidad
Junín	JUN	X J	1958	Argentina	parte de Argentina
Machupo	MAC	Carvallo	1963	Bolivia	parte de Bolivia
Amaparí	AMA	Be An 70563	1964	Brasil	parte de Brasil
Pichindé	PIC	An 3739	1965	Colombia	parte de Colombia
Tamiami	TAM	W 10777	1965	U.S.A.	parte de U.S.A.
Paraná	PAR	12056	1965	Paraguay	parte de Paraguay
Latino	LAT	10924	1965	Bolivia	partes de Bolivia y Brasil
Lassa	LAS	LP	1969	Nigeria	varios países africanos
Flexal	no registrada	Belen 293022	1975	Brasil	parte de Brasil

\* Cuadro procedente de bibliografía (1).

TABLA 2. ROEDORES SILVESTRES DE LOS CUALES HA SIDO AISLADO EL VIRUS JUNIN

O R D E N		R O D E N T I A		B I B L I O G R A F I A
S u b o r d e n		M y o m o r p h a		
Familia Cricetidae		Familia Muridae		
Akodon azarae	Calomys laucha y musculus	Mus musculus		1, 7, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21 y 22
5 cepas aisladas	48 cepas aisladas	67 cepas aisladas		



TABLA 3. NUMERO DE ANIMALES POR ESTABLECIMIENTO  
Y TIPO DE EXPLOTACION

ESTABLECIMIENTO	# ANIMALES ENCUESTADOS	TIPO DE EXPLOTACION
A	31	tambo
B	13	tambo
C	33	cría
D	569	tambo
E	9	cabaña
F	42	tambo
G	95	cría
H	60	tambo
I	40	tambo
J	30	tambo
K	289	tambo
L	41	cría
M	27	cabaña
TOTALES 13	1279	

TABLA 4. NUMERO DE ANIMALES ENCUESTADOS DISCRIMINADOS SEGUN EDAD Y SEXO

E D A D   E N   A N O S   Y   S E X O												T O T A L E S			
0 < 1		1 < 3		3 < 5		5 < 7		7 < 9		9 < 11		≥ 11		♂	♀
♂		♂		♂		♂		♂		♂		♂			
	♀		♀		♀		♀		♀		♀		♀		
17	34	29	248	5	436	14	170	9	193	2	73	-	49	76	1203
														1279	

TABLA 5. SUEROS BOVINOS CON SEROLOGIA POSITIVA

PARA VIRUS JUNIN

# CONSECUTIVO	# BANCO	LUGAR	EDAD	SEXO	RAZA	TIPO EXPLOTACION	FC	NEUTRALIZACION	
								M/I*	TSM**
1	29	F	1 m	♀	HA***	tambo	4	7/7	13.5
2	33	F	1 m	♀	HA	tambo	4	7/8	12.28
3	35	F	1 m	♀	HA	tambo	8	8/8	12.75
4	44	F	1 m	♂	HA	tambo	4	8/8	14
5	74	M	18 m	♂	AA**	cabaña	4	8/8	12
6	117	K	4 a	♀	HA	tambo	4	7/8	14.4
7	122	K	2 a	♀	HA	tambo	8	8/8	11.12
8	1277	K	6 a	♀	HA	tambo	32	8/8	14.50
9	1404	K	8 m	♀	HA	tambo	8	8/8	14
10	1418	K	2 a	♀	HA	tambo	8	8/8	13.85
11	174	J	8 m	♀	HA	tambo	8	8/8	16.14
12	1466	J	9 m	♀	HA	tambo	8	8/8	12.12
13	1480	J	1 a	♀	PS***	tambo	8	6/8	13
14	1482	J	1 a	♀	HA	tambo	4	7/8	14.57
15	604	D	4 a	♀	HA	tambo	8	8/8	15.75
16	818	D	4 a	♀	HA	tambo	8	8/8	16
17	846	D	2 a	♀	HA	tambo	8	8/8	14.28
18	885	D	2 a	♀	HA	tambo	8	8/8	11.75
19	888	D	2 a	♀	HA	tambo	8	8/8	13
20	892	D	2 a	♀	HA	tambo	4	8/8	12.75
21	941	D	2 a	♀	HA	tambo	4	8/8	15
22	1074	D	5 a	♂	HA	tambo	8	8/8	9
23 a 1279	VARIOS	13 DIFERENTES	VA- RIAS	♀/♂	VARIAS	VARIOS	NEG.	NEG. (OTROS 43 sue- ros)	7.9 y <21 ds.

\* Muertos/inoculados

\*\* Tiempo de sobrevivencia medio

\*\*\* Holando Argentino

\*\*  
\*\* Aberdeen Angus

\*\*\*  
\*\* Pardo Suizo

OBSERVACIONES NEUTRALIZACION: control con 100 DL<sub>50</sub> + tampón de fosfatos pH 7.2 y 0,75% albúmina bovina a/a = 8/8, en esta prueba TSM 13 control sistema 100 DL<sub>50</sub> + suero anti-XJ, 0/8, descartados 21 días.

## B I B L I O G R A F I A

- 1 - METTLER, Norma E. Cuaderno nro 7 de Virología: "FAMILIA ARENAVIRIDAE". Publicación de la Universidad Nacional del Centro de la Pcia. de Buenos Aires, Tandil, 1980, 55 pgs.
- 2 - ARMSTRONG, C. and LILLIE, R.D.: "Experimental Lymphocytic Choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis Encephalitis epidemic". Pub Health Rep. 49:1019-1027, 1934.
- 3 - METTLER, Norma E., CASALS, J. and SHOPE, R.E. : "Study of the antigenic relationships between Junin virus, the etiological agent of Argentinian Hemorrhagic Fever and other Arthropod-borne-viruses". Amer.J.Trop.Med.Hyg. 12, 647-652, 1963.
- 4 - JAHRLING, P.B. and EDDY, G.A. : "Arenaviruses". Chapter 91, Manual of Clinical Immunology. 2nd ed, USA, Rose and Friedman, libro 1105 pgs, 1980.
- 5 - MURPHY, F.A., WEBB, P.A., JOHNSON, K.M., WITFIELD, S.G., and CHAPPEL, A.: "Arenaviruses in Vero cells. Ultrastructural studies". J. of Virology, Vol. 6, Nro. 4, 507-518, 1970.
- 6 - FENNER, Frank.: "Classification and nomenclature of viruses". Intervirology, vol 7, 1-2, 1976.
- 7 - METTLER, Norma E.: "Argentine Hemorrhagic Fever: Current knowledge" Pan American Health Organization, World Health Organization, 1969, 55 pgs.
- 8 - PIROSKY, I., ZUCCARINI, J., MOLINELLI, E.A., di PIETRO, A., BARRERA ORO, J.G., MARTINI, P., MARTOS, L. y D'EMPAIRE, M.: "Virosis hemorrágica del NO bonaerense: endemo-epidémica, febril, enantemática y leucopénica. IV: Investigaciones virológicas de orden epidemiológico (primera nota)". Orientación médica 8 (361):708-710, 1959.
- 9 - PARODI, A.S., GREENWAY, D.J., RUGIERO, H.R., RIVERO, E., FRIGERIO, M., de la BARRERA, J.M., METTLER, N.E., GARZON, F., BOZACA, M., de GUERRERO, L. y NOTA, N. : "Sobre la etiología del brote epidémico de Junín". Día Médico 30:2300-2302, 1958.
- 10 - MARTINEZ PINTOS, I.F.: "Epidemiología del 'Mal de los Rastrojos'". An Com Investig Cient. 3:9-102, 1962.

- 11 - MAIZTEGUI, J.I. y SABATTINI, M.S. "Extensión progresiva del área endémica de Fiebre Hemorrágica Argentina". Medicina (Buenos Aires) 37:Supl. 3, 162-166, 1977.
- 12 - ARRIBALZAGA, R.A.: "Una nueva enfermedad epidémica a germen desconocido: Hipertermia nefrotóxica, leucopénica y enantemática". Día Médico 27-1204-1210, 1955
- 13 - GARATE, Just: "Etiología y clínica de la colecistitis. Una epidemia Weilliana". 106 pgs, El Ateneo, 1945.
- 14 - Instituto de Virología de Córdoba: "Virus Junín en la Pcia. de Córdoba". Publicación de la Comisión Nacional Coordinadora para Estudio y Lucha contra la Fiebre Hemorrágica Argentina". Buenos Aires. Secretaría de Estado de Salud Pública, 1966.
- 15 - PARODI, A.S., de la BARRERA, J.M., RUGIERO, H.R., GREWAY, D.J., YERGA, M., METTLER, N.E., BOXACA, M. y FRIGERIO, M.J.: "Los reservorios del virus Junín de la Fiebre Hemorrágica Epidémica de la Pcia. de Buenos Aires". Prensa Médica Argentina. 46:554-556, 1959.
- 16 - PARODI, A.S., RUGIERO, H.R., GREENWAY, D.J., METTLER, N.E. y BOXACA, M. :El aislamiento de virus Junín en roedores de zonas no epidémicas". Prensa Médica Argentina. 48:2321-2322, 1961.
- 17 - RUGIERO, H.R., PARODI, A.S., GREWAY, D.J., de la BARRERA, J.N., YERGA, M., METTLER, N.E. y BOXACA, M. : "Consideraciones sobre el hallazgo del virus de Fiebre Hemorrágica Epidémica en roedores de zonas epidémicas y no epidémicas de la Pcia. de Buenos Aires". Prensa Médica Argentina. 46:2009-2014, 1959.
- 18 - MASSOIA, Elio y FORNES. Abel: "Contribución al conocimiento de los roedores miomorfos argentinos vinculados con la Fiebre Hemorrágica Argentina". Folleto 25 pgs, editado por el Ministerio de Asistencia Social y SP, Buenos Aires, 1965.
- 19 - VANELLA, J.L., GONZALES, L.E., PAGLINI, S. y MARQUEZ, A.: "Evidencia de laboratorio de actividad del virus Junín en el SE de Córdoba, hipótesis sobre su epidemiología". Día Médico 36:290-291, 1964.

- 20 - PIROSKY, I., ZUCCARINI, I., MOLINELLI, E.A., di PIETRO, A., BARRERA, J.G., MARTINI, P., y COPELLO, A.R.: "Virosis hemorrágica del NO bonaerense, endemoepidémica, febril, enantemática y leucopénica". Buenos Aires, Instituto Nacional del Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, 197 pgs., 1959.
- 21 - SABATTINI, M.S., GONZALES de RIOS, L.E., DIAZ, G. y VEGA, V.R.: "Infección natural y experimental de roedores con Virus Junín". Medicina (Bs. Aires), 37; supl. 3, 149-161, 1977.
- 22 - DHEW Publication N° (CDC) 75:8301: "International Catalogue of Arboviruses including certain other viruses of vertebrates". Second ed. by Trygve O. Berge, libro 790 pgs, 1975.
- 23 - RUGIERO, Humberto R., y col. : "Síntesis médica sobre Fiebre Hemorrágica Argentina". Pub. del Minist. de Asist. Social y Salud Pública, Buenos Aires, 1965, 31 pgs.
- 24 - ARGENTINA. INSTITUTO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA: "Investigaciones sobre Fiebre Hemorrágica Argentina. Publicación de la Comisión Nacional Coordinadora para Estudio y Lucha contra FHA". Buenos Aires, Secretaría de Estado de Salud Pública, 1966.
- 25 - CEDRO, V.C.F., C.de PEREZ ARRIETA, R.A. CACCHIONE, J. CRESPO, E.S. CASCELLI, R.J. ROVERE, J.A. RUIZ y ORMAECHEA, E. ROSAS COSTA, E.S. MARTINEZ, and C.R. RAMIS. "Aportes al estudio de la fiebre hemorrágica argentina". Publicación de la Comisión Nacional Coordinadora para Estudio y Lucha contra FHA. Buenos Aires, Secretaría de Estado de SP, 1966.
- 26 - METTLER, N.E., CASALS, J.: "Susceptibility of mice aged 0-14 days to infection with Junin virus". Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 134:1051-54, 1970.
- 27 - METTLER, N.E., CASALS, J. : "Paralytic sequelae and immunological response of suckling mice after infection with viruses of the Tacaribe group". Acta Viroológica, 17:472-478, 1973.
- 28 - METTLER, N.E., GIANANTONIO C.A., y PARODI A.S.: "Aislamiento causal del síndrome urémico hemolítico". Medicina Vol. XXIII N°3, Mayo-Junio, pgs 139-142, 1963.

- 29 - RUGIERO, H.R., PARODI, A.S., RUGGIERO, H.A., CINTORA, A.F., MAGNONI, C., y MILANI, H. : "Síntesis médica sobre FHA". Ministerio de Asistencia Social y Salud Pública, Poder Ejecutivo Nacional, Bs. Aires, 1965.
- 30 - GONZALES, S.M., MEJSZENKIER, J.D.: "Variaciones hematológicas en los cobayos con Fiebre Hemorrágica experimental (virus Junín)". Rev. Soc. Arg. Biol. 38: 392-399, 1962.
- 31 - VUCETICH, M., PALATNICK, M., ANDERSON, G., y MARTINEZ PINTOS, I.: "Alteraciones hematológicas de la Fiebre Hemorrágica Argentina". Publicación de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Gobernación de la Pcia. de Buenos Aires, folleto de 18 pgs, La Plata, 1964.
- 32 - ELSNER, B.: "Anatomía patológica de la Fiebre Hemorrágica Argentina". Medicina (Buenos Aires) 37:supl. 3, 200-204, 1977.
- 33 - GONSALEZ, P.H., COSSIO, P.M., ARANA, R., MAIZTEGUI, J. and LAGUENS, R.P.: "Lymphatic tissue in Argentine Hemorrhagic Fever". Pathologic Features". Arch. Path. Lab. Med. 104(5):250-254, 1980.
- 34 - BERRIA, M.I., GUTMAN FRUGONE, L.F., GIROLA, R. y BARRERA ORO, J.G.: "Estudios inmunológicos con virus Junín. I. Formación de anticuerpos en cobayos inoculados con virus vivo". Medicina Vol. XXVII, N°2, 1967.
- 35 - NOTA, N.R., NEJAMKIS, M. y GIOVANELLÓ, O. A.: "Patogenia de la encefalitis del ratón infectado por virus Junín". Medicina (Buenos Aires) 37: supl. 3, 114-120, 1977.
- 36 - BOXACA, M.C., GIOVANELLO, O.A., NOTA, N.R., NEJAMKIS, M.R., GUERRERO, L.B. de, FRIGERIO, M.J.: "Estudio de la infección experimental del ratón por virus Junín. Cuadro clínico y susceptibilidad". Rev. Asoc. Arg. Microbiol. 5:2, 1973.
- 37 - NEJAMKIS, M.R., WEISSEMBACHER, M.C., CALELLO, M.A.: "Infección experimental con virus Junín en la rata". Medicina (Buenos Aires) 37: supl. 3, 121-127, 1977
- 38 - METTLER, N.E., BUCKLEY, S.M. and CASALS, J.: "Propagation of Junín Virus: the etiological agent of Argentinian Hemorrhagic Fever in HeLa cell cultures". Proc Soc. Biol. Med. 107:684-688, 1961.

- 39 - BUCKLEY, S.M.: "Junín and Tacaribe work in HeLa cells". Amer. J. Trop. Med. 14:792-794, 1964.
- 40 - RHIM, J.S., SIMRZU BUNSIU, WIEBENGA, N.H.. "Growth of Junín Virus, the etiological agent of Argentinian Hemorrhagic Fever in HeLa cells cultures" Proc. Soc. Biol. Med. 107:684-688, 1961.
- 41 - METTLER, N.E.: "Adaptación al huevo del agente etiológico de la Fiebre Hemorrágica Epidémica del NO de la Pcia. de Buenos Aires". Rev. Soc. Argent. Biol. 35:295-299, 1959.
- 42 - METTLER, N.E.: "Adaptación del virus Junín al embrión de pollo (Fiebre Hemorrágica Argentina) y estudio de sus propiedades biológicas. Thesis, Fac. de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina, 1960.
- 43 - RABINOVICH, A., COSSIO, P.M., CARBALLAL, G. y ARANA, R.M.: "A rapid method for detecting Junín virus viremia in the guinea pig". Intervirology 8(6): 360-363, 1977.
- 44 - Revista "Bodas de Oro NUEVA ERA, Periódico local, Tandil, 1969.
- 45 - CLARKE, D.H. y CASALS, J.: "Techniques for hemagglutination-inhibition with arthropod - borne viruses". Am. Journal of Trop. Med. and Hygiene, 7(5), Set, 1958.
- 46 - SARTORELLI, Alan C., FISCHER, David and DOWNS, Wilbur G.: "Use of Sarcoma 180/TG to prepare hyperimmune ascitic fluid in the mouse". Journal of Immunology, vol. 96, n°4, 676-682, 1966.
- 47 - LENNETE, E.H.; SCHMIDT, N.J.: "Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections". 4°ed., 1969, 978 pgs, APHA, 1969.
- 48 - COGGINS, L. and NORCROSS, N.L.: "Immunodifusion reaction in equine infectious anemia". Cornell Vet. 60:330-335, 1970.
- 49 - METTLER, N.E., CASALS, J.: "Paralytic sequelae and immunologic response of infant mice after infection with viruses of the Tacaribe group". Acta Virol. 17:472-478, 1973.



- 50 - HENDERSON, B.E., GARY, G.W. Jr., KISSLING, R.E., FRANCE, I.D. y CAREY, D.E.:  
"Lassa Fever. Virological and serological studies". Trop. Med. Hyg., 66 (3),  
409-416, 1972.
- 51 - BARRERA ORO, J.L., GRELA, M.E., ZANNOLI, V.H. y GARCIA, C.A.: "Anticuerpos contra  
virus Junín y LCM en casos presuntivos de Fiebre Hemorrágica Argentina". Medi-  
cina (Buenos Aires) 37:3, 69-77 (1977).



ARTICULO 11: La Facultad no se hace solidaria de las opiniones vertidas  
en una Tesis.