

## AISLAMIENTO DEL VIRUS DE LA CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA DE SERES HUMANOS

MARIA DEL CARMEN SAAVEDRA, ANA MARIA AMBROSIO, LAURA RIERA, SILVANA LEVIS,  
JOSEFA SOTTOSANTI, MARTA SABATTINI

*Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas, Dr. Julio I. Maiztegui (INEVH), Pergamino*

**Resumen** Los antecedentes del virus de la coriomeningitis linfocitaria (vLCM) en Argentina se basan en la detección de anticuerpos en roedores y seres humanos y en el aislamiento de sólo una cepa viral a partir de un roedor *Mus domesticus* en el sur de la provincia de Córdoba. El objetivo de este trabajo fue registrar los casos diagnosticados por serología como LCM y realizar el aislamiento y tipificación de cepas humanas del vLCM en Argentina. Durante los últimos 19 años se diagnosticaron por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y/o ensayo de inmunoenzima (ELISA) 15 casos de LCM y, al incorporar la prueba de neutralización (NT), éstos fueron clasificados como ocho confirmados, tres probables y cuatro negativos. La distribución geográfica de los casos abarcó tres provincias: Córdoba, Bs.As. y Santa Fe. El aislamiento viral se intentó en cinco pacientes clasificados como confirmados, resultando dos aislamientos positivos (P5226 y P8573), que fueron identificados como vLCM por IFI y NT. La importancia del aislamiento de cepas de vLCM en esta zona, radica en que su coexistencia con otros arnavirus, como los virus Junin y Oliveros podría generar modificaciones en la virulencia y/o patogenicidad para humanos asociada a cambios genómicos. Futuros estudios de la variabilidad antigénica, genómica y de virulencia de las cepas de vLCM de la Argentina así como también la búsqueda sistemática de la infección humana, contribuirán a conocer la importancia de este agente viral en nuestro país y derivar en medidas de control.

**Palabras clave:** LCM, aislamiento viral, diagnóstico serológico

**Abstract** *Isolation of lymphocytic choriomeningitis virus from human individuals.* The activity of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMv) in Argentina has been previously reported on the basis of serological evidence in rodents and humans and the isolation of only one strain of LCMv from a *Mus domesticus* captured in the province of Córdoba. The aim of this paper was to register patients with serological diagnosis of LCM, to isolate and to identify human strains of LCMv in Argentina. During the last 19 years, 15 cases were diagnosed as LCM by immunofluorescent indirect assay (IFI) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) but when neutralizing assay (NT) was incorporated, eight cases were classified as confirmed, three as probable and four as negative. The geographic distribution of the cases included three provinces: Córdoba, Buenos Aires and Santa Fe. Viral isolation was attempted in five patients classified as confirmed and only two resulted positive (P5226 and P8573). They were identified as LCMv by IFI and NT. The coexistence of LCMv with other arenaviruses, such as Junin and Oliveros viruses, in the same area, raises the probability of interactions between them, which could modify the virulence and/or pathogenicity for humans associated to genomic changes. Future studies of antigenic, genomic and virulence variability of different Argentine strains of LCMv, as well as the systematic search for human infection, will contribute to define the importance of this viral agent in our country and to implement control measures.

**Key words:** LCM, viral isolation, serologic diagnosis

El virus de la Coriomeningitis Linfocitaria (vLCM) es el prototipo de la familia *Arenaviridae*, por haber sido el primero de estos agentes aislado, en 1933, durante una epidemia de encefalitis de San Luis<sup>1</sup>. Los arnavirus comprenden dos serocomplejos, el complejo LCM-Lassa

(Viejo Mundo) que incluye los virus: LCM, Lassa, Mopeia, Mobala e Ippy y el complejo Tacaribe (Nuevo Mundo) que incluye los virus: Tamiami, Whitewater Arroyo, Pichindé, Amapari, Flexal, Guanarito, Junin, Latino, Machupo, Oliveros, Parana, Pirital, Sabiá y Tacaribe. Se conocen seis arnavirus que producen enfermedad severa en humanos: el vLCM, agente asociado con enfermedades del sistema nervioso central (SNC)<sup>2</sup> y malformaciones congénitas<sup>3</sup> y los virus Lassa, Junin, Machupo, Guanarito y Sabiá, agentes etiológicos de fiebre hemorrágica en Africa occidental, Argentina, Bolivia, Venezuela y Brasil respectivamente<sup>4</sup>.

Recibido: 31-VIII-2001

Aceptado: 23-X-2001

**Dirección postal:** Dra. María del Carmen Saavedra, Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui, Monteagudo 2510, 2700 Pergamino, Buenos Aires, Argentina  
Fax: (54-2477) 433045 e-mail: carmensaavedra\_ar@yahoo.com.ar

Los arenavirus poseen un genoma RNA de cadena simple, bisegmentado. El segmento S (small) codifica la nucleoproteína (N) y una glicoproteína precursora (GPC) que por clivaje post transduccional origina dos glicoproteínas de la envoltura viral (GP<sub>1</sub> y GP<sub>2</sub>)<sup>5</sup> relacionadas con polipéptidos únicos presentes en la envoltura externa de estos virus, que son diferentes para cada uno de ellos y sirven para su identificación. El segmento L (large) codifica la RNA polimerasa y una pequeña proteína con capacidad de unión a metales<sup>6,7</sup>. Ambos segmentos han sido relacionados por distintos investigadores con las características de patogenicidad de LCM, dependiendo del huésped<sup>8</sup>.

La historia natural de los arenavirus está caracterizada porque generalmente infectan a un número limitado de especies de pequeños roedores, los que actúan como reservorios y habitan áreas geográficas bien definidas. La única excepción es el vLCM que se extiende a América, Europa, Asia, África y Oceanía, continentes todos en los que se encuentra su reservorio, el roedor *Mus domesticus*<sup>9</sup>.

Los roedores se infectan crónicamente y liberan virus en las secreciones orofaríngeas, orina y materia fecal. Existen evidencias de que la inhalación de virus sería la principal vía de transmisión para el hombre<sup>10</sup>, aunque no se descartan otras vías de entrada como las mucosas, ingestión o pequeñas escoriaciones en la piel<sup>11</sup>.

La infección por vLCM en humanos evoluciona por lo general subclínicamente, con aparición de anticuerpos. Cuando se manifiesta clínicamente, puede presentar tres formas, a) enfermedad febril no diferenciada, de sintomatología gripal, b) meningitis aséptica y c) meningoencefalitis. La enfermedad comienza con un cuadro febril, mialgias, dolor retrocular, decaimiento y anorexia<sup>10</sup>. Puede haber artralgias, artritis, parotiditis u orquitis<sup>12</sup>. La remisión se produce en una semana o aparece la meningitis aséptica. Raramente progresa hacia una encefalitis, la que puede ser fatal. Las pruebas de laboratorio muestran leucopenia y trombocitopenia, como en la FHA, y elevación de LDH y TGO. El LCR, en los casos con compromiso neurológico, puede presentar recuentos celulares entre 100 y 1000 linfocitos y glucosa normal o baja<sup>13</sup>. La infección prenatal se adquiere por vía transplacentaria y está asociada a la aparición de hidrocefalia y otras alteraciones congénitas<sup>3, 14</sup>.

El vLCM se recupera de la sangre o suero en la fase aguda de la enfermedad (primera semana). El diagnóstico serológico se efectúa por conversión serológica (aumento del título de anticuerpos entre los sueros de fase aguda y de convalecencia)<sup>15,16</sup>.

Los antecedentes de vLCM en Argentina se basan en la detección de anticuerpos en roedores<sup>17</sup> y seres humanos<sup>18-20</sup>, y al aislamiento de sólo una cepa viral a partir de un roedor *M. domesticus* en el sur de la provincia de Córdoba<sup>21</sup>. El aislamiento de cepas autóctonas

de este virus reviste importancia para conocer: su distribución, el grado de virulencia y también para poder producir antígenos con cepas locales. El presente trabajo informa el diagnóstico por serología y aislamiento viral de casos humanos de LCM ocurridos durante 19 años en la zona pampeana de Argentina.

## Materiales y métodos

**Muestras de pacientes.** Para el diagnóstico serológico de LCM se incluyeron muestras de suero de pacientes tomadas entre los años 1982 y 2000, que a pesar de tener un diagnóstico clínico presuntivo de FHA, fueron negativos para el virus Junin, agente etiológico de esa enfermedad. De cada paciente se contó con una muestra del período agudo y una de la convalecencia. Para el intento de aislamiento viral se utilizó sangre entera heparinizada del período agudo de la enfermedad.

**Cultivos celulares.** Se utilizaron células L-929 (ATCC-CCL 1) entre los pasajes 567 y 589, sembradas en botellas T 75 y T 150 para la preparación de los antígenos para inmunofluorescencia indirecta (IFI) y enzimoimmunoensayo (ELISA), y sembradas en placas de 6 pozos para realizar la prueba de Neutralización (NT).

**Animales.** Se utilizaron tanto para el aislamiento de vLCM como para la preparación de ascitis inmune, ratones albinos libres de patógenos específicos (spf) de la cepa swiss N:NIH, exocriada.

Para la preparación de sueros inmunes se utilizaron conejos New Zeland obtenidos de un proveedor comercial.

**Preparación de líquidos inmunes.** El líquido ascítico hiperinmune se preparó en ratones adultos (r ad) realizando tres inoculaciones intraperitoneales cada 15 días de la cepa prototipo de vLCM WE y una inyección intraperitoneal de sarcoma 180, extrayendo el líquido ascítico entre los 8 y 15 días de la última inoculación.

El suero hiperinmune se obtuvo en conejos realizando dos inoculaciones por vía intramuscular y diez por vía subcutánea con la cepa prototipo WE; este esquema se repitió cada 30 días durante tres meses, extrayendo la sangre a partir de los 30 días de la última inoculación.

**Pruebas utilizadas para el diagnóstico serológico.** Para los casos producidos entre 1982 y 1995 se utilizó la prueba de IFI para detectar anticuerpos según la técnica de Rowe y col.<sup>22</sup>, empleándose como antígeno células L-929 infectadas con la cepa Cba An 13065; de vLCM.

En 1995 se ensayó una prueba de ELISA que, comparándola con la IFI resultó ser más conveniente por su objetividad y mayor capacidad para detectar infecciones previas por vLCM<sup>23</sup>, y desde ese momento este ELISA se viene utilizando como técnica de tamizaje para anticuerpos anti vLCM. Esta técnica básicamente consiste en la adaptación de la prueba de ELISA ya existente para virus Junin<sup>24</sup>, empleándose como antígeno células L-929 infectadas con la cepa Cba An 13065.

La prueba de NT se realizó en células L-929 enfrentando los sueros de los pacientes con aproximadamente 100 ufp de la cepa Cba An 13065, el procedimiento utilizado fue descrito por Ambrosio y col<sup>25</sup>.

**Aislamiento viral.** El aislamiento viral se intentó en aquellos pacientes positivos por serología para vLCM de los que se disponía de la muestra aguda de sangre entera heparinizada. La muestra de sangre del paciente se inoculó por vía intracerebral (i c) en grupos de ratones recién nacidos (rn) de no más de 48 hs. de vida y en grupos de ratones adultos (r ad) de 30 a 35 días de edad (1° pasaje). A los 7 días se hizo un pasaje ciego con una suspensión al 20 % en buffer de

fosfatos pH 7.2, antibióticos y albúmina bovina de cerebros de los rrn a otros grupos de la misma edad y/o adultos (2° pasaje). Se observó diariamente la aparición de enfermedad o muerte durante 21 días post inoculación (p i). Ante algún síntoma dudoso se efectuó la prueba de rotación que consiste en suspender al ratón por la cola y rotarlo, con lo cual acentúa la sintomatología en los ratones efectivamente enfermos. Se cosecharon y conservaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  todos los ratones enfermos y muertos a partir de los cuales se obtuvo una suspensión de cerebro al 20% para nuevos pasajes, con el fin de obtener semillas maestras y de trabajo.

*Identificación de cepas.* Se realizó por IFI enfrentando células L 929 infectadas con cada cepa aislada y distribuidas sobre portaobjetos para IF, con diluciones factor dos del líquido ascítico hiperinmune anti vLCM, cepa WE. La cepa aislada fue identificada como vLCM cuando el título de anticuerpos anti WE enfrentado a las cepas a tipificar fue igual ( $\pm$  una dilución) al título obtenido con la cepa homóloga (WE).

La identificación se confirmó por NT utilizando la misma técnica que la empleada en el diagnóstico serológico<sup>25</sup>. Se utilizó una dilución 1/5 del suero inmune anti WE preparado en conejo, y la cepa aislada fue identificada como vLCM cuando esta dilución neutralizó por lo menos en un 80 % aproximadamente 100 ufp de la cepa.

## Resultados

Se estudiaron los sueros de 3759 pacientes por IFI y/o ELISA, detectándose 15 pacientes positivos para vLCM (Tabla 1). Al incorporarse la prueba de NT, que sólo se realizó cuando se dispuso de una muestra adicional del suero correspondiente, los resultados fueron clasificados en: ocho confirmados, tres probables y cuatro negativos para vLCM.

Los pacientes clasificados como confirmados presentaron conversión serológica por IFI o ELISA, dos de ellos (P 5345 y P 7136) también presentaron conversión por NT. Los tres pacientes clasificados como casos probables, presentaron algún inconveniente para la confirmación. En dos pacientes, los sueros del período agudo fueron positivos por NT lo cual indicaría que la infección por vLCM fue anterior a la enfermedad actual o que hubo un error en la fecha considerada como inicio de la enfermedad. En otro paciente (P 40082) no se dispuso de la muestra de suero del período agudo.

Los casos clasificados como negativos presentaron bajos títulos (ej. 8 en IFI; 800 en ELISA) en el suero de la convalecencia y resultaron negativos por NT, por lo que se consideraron reacciones inespecíficas en las pruebas iniciales.

El aislamiento viral se intentó con la sangre heparinizada del período agudo de cinco pacientes confirmados por seroconversión, resultando dos aislamientos positivos (Tabla 2). La muestra de sangre del 4° día del paciente 5226, no enfermó ni mató ratones lactantes del 1° y 2° pasaje, pero resultó positiva en r ad desde el primer pasaje, éstos enfermaron o murieron al 7° y 8° día post inoculación. La muestra de sangre del paciente 8573 fue negativa en la inoculación original en rrn y r ad,

TABLA 1.— Resultados de pacientes con serología positiva para LCM

Paciente	Días post comienzo síntomas	Título de Anticuerpos*		Interpretación
		IFI o ELISA***	NT	
P 5226	4	<4	NH**	
	22	$\geq 8$	NH	Confirmado
	142	512	NH	
P 5345	9	<4	<5	Confirmado
	35	$\geq 8$	10	
P 5953	4	<4	NH	
	65	16	NH	Confirmado
	96	16	NH	
P 6013	6	<4	NH	Confirmado
	65	256	NH	
R 23745	5	<4	NH	Confirmado
	70	128	NH	
P 7136	5	<4	<5	
	66	16	10	Confirmado
	104	64	NH	
P 8280	4	<4	NH	Confirmado
	72	16	NH	
P 8573	7	100	NH	Confirmado
	67	51200	NH	
P 7182	6	<4	40	Probable
	68	32	$\geq 160$	
P 7205	6	<4	40	Probable
	68	64	640	
R 40082	72	128	10	Probable
	167	128	40	
P 6114	5	<4	<5	
	74	8	<5	Negativo
	124	8	NH	
P 6514	5	<4	<5	Negativo
	66	8	<5	
P 7273	5	<4	<5	Negativo
	65	8	<5	
R 50303	5	<100	<5	Negativo
	36	800	<5	

\* Inversa de la dilución \*\* NH : No hecho

\*\*\* Todos los pacientes fueron probados en IFI excepto el P8573 y el R50303 que fueron probados en ELISA

pero el pasaje ciego se efectuó en r ad y estos enfermaron y murieron al 9° día.

La identificación de las dos cepas aisladas por IFI y NT resultó positiva para vLCM en ambas pruebas (Tabla 2).

El análisis temporal de los 11 casos confirmados y probables de LCM, se presentan en la Figura 1. No se han diagnosticado casos todos los años, pero si consi-

TABLA 2.- Aislamiento viral de sangre entera de pacientes que seroconvirtieron para vLCM

Paciente	Sangre (Día post comienzo síntomas)	Resultado del aislamiento				Identificación**	
		1 <sup>er</sup> Pasaje rrn*	rad*	2 <sup>do</sup> Pasaje rrn*	rad*	IFI	NT
P 5226	4	Neg	Pos	Neg	NH***	LCM	LCM
P 6013	6	Neg	Neg	Neg	NH	—	—
P 5953	4	Neg	Neg	Neg	NH	—	—
P 8280	4	Neg	Neg	Neg	NH	—	—
P 8573	7	Neg	Neg	NH	Pos	LCM	LCM

\* r r n: ratón recién nacido; \* r ad: ratón adulto

\*\* Se usó un líquido ascítico hiperinmune de ratón anti LCM, cepa WE, con título homólogo en IFI de 512. Para NT se usó un suero de conejo anti LCM, cepa WE, con un título homólogo de 160

\*\*\* No hecho.

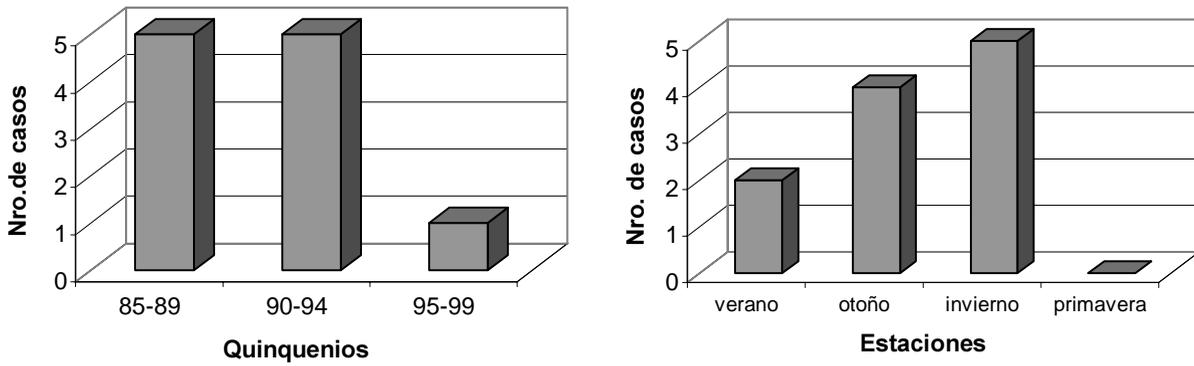


Fig. 1.- Distribución temporal de los casos confirmados y probables de LCM

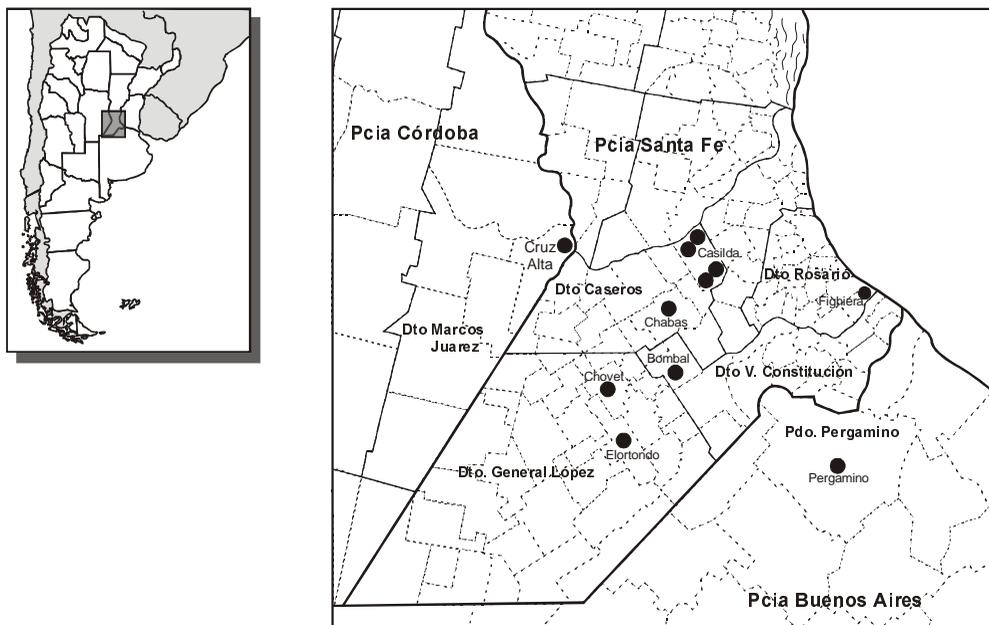


Fig. 2.- Distribución geográfica de los casos confirmados y probables de LCM

deramos los quinquenios, el de 1995-1999 presentó menos casos que los dos anteriores. Estacionalmente los casos se agrupan en otoño e invierno aunque también se registraron casos en verano (Figura 1). La distribución geográfica de los 11 pacientes confirmados y probables se muestra en la Figura 2. Abarca tres provincias, Córdoba, Buenos Aires y Santa Fe, concentrándose en los departamentos de General López, Constitución, Caseros y Rosario de la provincia de Santa Fe.

## Discusión

El vLCM tiene el mayor rango de potencial geográfico de todos los arenavirus, y puede ocurrir en cualquier lugar donde esté el ratón doméstico *M. domesticus*, nativo o introducido. En la Argentina se lo aisló de su reservorio *M. domesticus*<sup>21</sup> y la detección de anticuerpos contra el vLCM en humanos, demostró que este virus podía infectar al hombre<sup>19</sup>.

En este trabajo se demuestra la ocurrencia de 11 casos clínicos de infección por vLCM (ocho confirmados y tres probables) en pacientes internados en el INEVH. El análisis temporal de los casos de LCM no ha sido parejo en el período estudiado, sin embargo, se observó que en los últimos cinco años el número de casos fue menor, lo cual podría estar ligado a una evolución natural de la infección de la población de *M. domesticus* o a una mejora en la sanidad de la vivienda humana. La distribución estacional de la enfermedad está seguramente ligada a la dinámica poblacional del reservorio. Sospechamos que con el clima templado de la región, el *M. domesticus* suspende su reproducción y experimenta mortalidad durante el invierno, con lo que disminuiría la biomasa infectada para la primavera y verano, recuperándose recién el otoño siguiente. Estudios en curso tratan de confirmar esta presunción. Los datos que se presentan revelan que la enfermedad fue detectada en una zona geográfica muy amplia; sin embargo, hay una concentración de los casos en cuatro Departamentos de la provincia de Santa Fe. Además, cuatro de los cinco casos del Departamento Caseros, se produjeron en Casilda. Todos estos casos han sido rurales, sin embargo se sabe que el *M. domesticus* es un ratón intradomiciliario y como su nombre lo indica, se encuentra frecuentemente viviendo con humanos tanto en situación rural como urbana<sup>26</sup>. En Argentina solo se cuenta con estudios de anticuerpos anti vLCM en roedores de zonas urbanas de la ciudad de Río IV, provincia de Córdoba<sup>27</sup>.

Como ocurre en otros países, LCM es una enfermedad de presentación esporádica en Argentina, ya que solo el 0.2 % de los individuos estudiados en el transcurso de 19 años resultaron casos confirmados de LCM. La baja incidencia de la enfermedad en la pampa argentina es similar a la reportada en otros países<sup>28</sup>. Sin em-

bargo, un estudio sistemático realizado entre 1941 y 1958 en un hospital de Washington (EEUU) con pacientes febriles y alguna alteración del SNC, condujo a determinar que el 10% obedecían a una infección por vLCM<sup>29</sup>. Será necesario entonces incluir el vLCM en el diagnóstico diferencial de las enfermedades que cursen con un síndrome neurológico.

Otros autores relatan que las cepas de vLCM circulando por el mundo serían de baja patogenicidad para humanos dada la alta prevalencia de anticuerpos indicativa de infección subclínica en las poblaciones estudiadas<sup>19, 30, 31</sup>. Si se compara la distribución de casos clínicos descrita en este trabajo con la prevalencia de anticuerpos en la provincia de Santa Fe informada por Ambrosio y col. se observa una aparente contradicción porque la enfermedad se concentró en los departamentos con menor prevalencia de anticuerpos. Sin embargo, esto podría explicarse por una mayor virulencia de las cepas de vLCM que circulan en las zonas con casos clínicos.

A pesar de que la actividad del vLCM en Argentina se conoce desde la década de 1960, con la detección de anticuerpos en roedores y en humanos, y con el aislamiento de una cepa de un roedor, este trabajo demuestra que en los últimos 19 años se han producido ininterrumpidamente casos de LCM. Estas observaciones indican claramente la endemicidad del vLCM en la misma región de Argentina en que otros arenavirus, los virus Junin y Oliveros<sup>32</sup>, son también endémicos.

Otro hallazgo de importancia es el aislamiento de las dos primeras cepas de vLCM causantes de enfermedad en humanos, en Argentina. El aislamiento de estas dos nuevas cepas de vLCM amplía el espectro de cepas autóctonas y su coexistencia con otros arenavirus podría generar modificaciones en la virulencia y/o patogenicidad para humanos asociada a cambios genómicos. Algunos autores han demostrado, en trabajos experimentales, que el cambio de un solo aminoácido en la glicoproteína del vLCM estuvo asociado con la supresión de la respuesta antiviral citotóxica letal de los linfocitos T y con la habilidad de causar un síndrome de deficiencia en la hormona del crecimiento en los ratones infectados<sup>33</sup>.

Futuros estudios de la variabilidad antigénica, genómica y de virulencia de las cepas de vLCM de la Argentina así como también la búsqueda sistemática de la infección humana, contribuirán a conocer la importancia de este agente viral en nuestro país y derivar en medidas de control.

**Agradecimientos:** A los médicos del INEVH, a las técnicas Patricia Pastore, Cristina Albani, Josefa Castellano y Carina Paz por su colaboración en el trabajo de laboratorio, a los técnicos de cultivos celulares y control de calidad por la provisión de las diferentes líneas celulares certificadas y a los técnicos de bioterio por la provisión de ratones spf.

## Bibliografía

1. Armstrong C, Lillie RD. Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic. *Public Health Rep* 1934; 49: 1019-27.
2. Jahrling PB, Peters CJ. Lymphocytic choriomeningitis virus. A neglected pathogen of man [editorial] *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 486-8.
3. Barton LL, Budd SC, Morfitt WS, et al. Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection in twins. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 942-6.
4. Peters CJ, Buchmeier M, Rollin PE, Ksiazek TG. Arenaviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, Chanock RM, Melnick JL, Monath TP, et al.(eds). *Fields virology*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996, p 1521-51.
5. Riviere Y, Ahmed R, Southern PJ, Buchmeier MJ, Dutko F J, Oldstone MBA. The S RNA segment of lymphocytic choriomeningitis virus codes for the nucleoprotein and glycoproteins 1 and 2. *J of Virol* 1985 a; 966-8.
6. Singh MK, Fuller-Pace FV, Buchmeier MJ, Southern PJ. Analysis of the genomic L RNA segment from lymphocytic choriomeningitis virus. *Virology* 1987; 161: 448-56.
7. Salvato MS, Shimomaye EM. The completed sequence of lymphocytic choriomeningitis virus reveals a unique RNA structure and a gene for a zinc finger protein. *Virology* 1989; 173: 1-10.
8. Riviere Y, Ahmed R, Southern PJ, Buchmeier MJ, Oldstone MBA. Genetic mapping of lymphocytic choriomeningitis virus pathogenicity: virulence in guinea pigs is associated with the L RNA segment. *J of Virol* 1985; 704-9.
9. Howard CR. Arenaviruses. In: AJ Zuckerman (ed). *Perspectives in Medical Virology*. New York : Elsevier, 1986, p 10-7.
10. Hinman AR, Fraser DW, Douglas G, et al. Outbreak of Lymphocytic choriomeningitis virus infections in medical center personnel. *Am J of Epidemiol* 1975; 101: 103-10.
11. Skinner HH, Knight EH. Epidermal tissue as a primary site of replication of lymphocytic choriomeningitis virus in small experimental hosts. *J Hyg (Camb)* 1979; 82: 21-30.
12. Lewis JM, Utz JP. Orchitis, parotitis, and meningoencephalitis due to lymphocytic-choriomeningitis virus. *New Engl J Med* 1961; 265: 776-80.
13. Green WR, Sweet LK, Prichard RW. Acute lymphocytic choriomeningitis: a study of twenty-one cases. *J Pediatr* 1949; 35: 688-701.
14. Komrower GM, Williams BL, Stones PB. Lymphocytic choriomeningitis in the newborn, probable transplacental infection. *Lancet* 1995; 1: 697-8.
15. Hotchin J, Sikora E. Laboratory diagnosis of lymphocytic choriomeningitis. *Bull WHO* 1975; 52: 555-9.
16. Lehmann-Grube F, Kallay M, Ibscher B, Schwartz R. Serologic diagnosis of human infections with lymphocytic choriomeningitis virus: comparative evaluation of seven methods. *J Med Virol* 1979; 4: 125-36.
17. Maiztegui JI, Sabattini MS, Barrera Oro JG. Actividad del virus de la Coriomeningitis Linfocitaria (LCM) en el área endémica de fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1972; 32: 131-7.
18. Barrera Oro JG, Grela ME, Zannoli VH, Garcia CA. Anticuerpos contra virus Junin y LCM en casos presuntivos de fiebre hemorrágica argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1977; 37: 69-77.
19. Ambrosio AM, Feuillade MR, Gamboa GS, Maiztegui JI. Prevalence of lymphocytic choriomeningitis virus infection in human population of Argentina. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1994; 50: 381-6.
20. Riera LC, Saavedra MC, Briggiler AM, Calderón G, Schuster M, Ambrosio AM. Foco de infección por virus de la Coriomeningitis Linfocitaria (LCM) en la ciudad de Pergamino (Bs.As.) Argentina. V Congreso Argentino de Virología. II Encuentro de Virólogos Latinoamericanos, 24-27 de abril 1996, Tandil, Argentina. Libro de resumen, n° de resumen: 147.
21. Sabattini MS, Barrera Oro JG, Maiztegui JI, Ferradas B. Actividad del virus de la Coriomeningitis Linfocitaria en el área endémica de fiebre hemorrágica argentina (FHA). II. Aislamiento a partir de un *Mus musculus* campestre capturado en el sudeste de Córdoba. *Medicina (Buenos Aires)* 1974; 34: 313 -20.
22. Rowe WP, Pugh WE, Webb PA, Peters CJ. Serological relationships of the Tacaribe complex of viruses to lymphocytic choriomeningitis virus. *J Virol* 1970; 5: 289-92.
23. Riera L, Ksiazek T, Feuillade MR, Saavedra MC, Ambrosio AM. Comparación entre inmunofluorescencia y ELISA en la detección de anticuerpos contra el virus de la coriomeningitis linfocitaria ( LCM ). *Medicina (Buenos Aires)* 1995; 55 (5/2): 586.
24. Riera L, Feuillade MR, Saavedra MC, Ambrosio AM. Evaluation of an enzyme immunosorbent assay for the diagnosis of Argentine Hemorrhagic Fever. *Acta Viroológica* 1997; 41: 305-10.
25. Ambrosio AM, Riera L, Saavedra MC, Sottosanti J. Prueba de neutralización de Coriomeningitis Linfocitaria para diferenciar infecciones con dos arenavirus en Argentina. *Rev Asoc Arg de Microbiol*. En prensa 2001.
26. Childs JE, Glass GE, Ksiazek TG, Rossi CA, Barrera Oro JG, Le Duc JW. Human-rodent contact and infection with Lymphocytic Choriomeningitis and Seoul viruses in an inner-city population. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 117-21.
27. Riera L, Castillo E, Sottosanti JM, Priotto J, Saavedra C, Provenzal C, Sabattini M, Ambrosio AM. Actividad del virus de la Coriomeningitis Linfocitaria (vLCM) en roedores capturados en la ciudad de Río Cuarto (Córdoba). VI Congreso Argentino de Virología, 29-31 de agosto 1999, Buenos Aires, Argentina. Libro de resumen pag: 62, n° de resumen: 077.
28. Lehmann-Grube F, Gard S, Hallauer C, Meyer KF (eds). *Lymphocytic choriomeningitis virus*. Section 10. New York: Springer Verlag, 1971.
29. Meyer HM, Johnson RT, Crawford IP, Dascomb HE, Rogers NG. Central nervous system syndromes of "viral" etiology. A study of 713 cases. *Am J Med* 1960; 29: 334-47.
30. Park JY, Peters CJ, Rollin PE, Ksiazek TG, Katholi CR, Waites KB, Gray B, Maetz HM, Stephenson CB. Age distribution of lymphocytic choriomeningitis virus serum antibody in Birmingham, Alabama: evidence of a decreased risk of infection. *Am J Trop Med Hyg* 1997a; 57: 37-41.
31. Armstrong C. Studies on choriomeningitis and poliomyelitis. *Bull NY Acad Med* 1941; 17: 295- 318.
32. Mills JN, Barrera Oro JG, Bressler DS et al. Characterization of Oliveros virus, a new member of the Tacaribe Complex (Arenaviridae: *Arenavirus*). *Am J Trop Med Hyg* 1996; 54: 399-404.
33. Salvato PJ, Borrow P, Shimomaye E, Oldstone MB. Molecular basis of viral persistence: A single amino acid change in the glycoprotein of lymphocytic choriomeningitis virus is associated with suppression of the antiviral cytotoxic T-lymphocyte response and establishment of persistence. *J Virol* 1991; 65: 1863-9.