

COMPORTAMIENTO DE CEPAS ARGENTINAS DEL VIRUS DE LA CORIOMENINGITIS LINFOCITARIA EN ROEDORES

MARIA DEL CARMEN SAAVEDRA, ANA M. AMBROSIO, LAURA RIERA, MARTA S. SABATTINI

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui, Pergamino, Buenos Aires

Resumen La actividad del virus LCM fue informada en Argentina a comienzos de la década del 70 y sólo han sido aisladas cinco cepas a partir del roedor *Mus domesticus* y dos de humanos. El objetivo de este trabajo consistió en investigar características biológicas de las cepas argentinas de virus LCM para compararlas entre sí y respecto a las cepas históricas WE y Armstrong. En células L 929 se obtuvieron placas bajo agarosa tanto con las cepas humanas como con las cepas de ratón, pero en células Vero sólo se obtuvieron placas con las cepas humanas. No se observó ninguna característica morfológica de las placas que distinguiera nitidamente a las cepas históricas de las cepas argentinas, ni se observaron diferencias que se relacionen con las especies de origen de las cepas. Las cepas históricas y las cepas argentinas no fueron letales para ratón recién nacido (rrn) generando una infección persistente, según se comprobó al inocular ratones recién nacidos (rrn) por vía intracerebral con cepas de virus LCM y detectarse virus en los cerebros cosechados a diferentes días post inoculación. La única excepción fue la cepa Cba An 13065 que resultó virulenta para rrn ya que con sólo 0.026 UFP se logró 1 DL₅₀. Todas las cepas resultaron letales en ratón adulto (rad), siendo las cepas de ratón más virulentas que las cepas de humanos. Estos resultados permitieron evidenciar el diferente comportamiento en cultivos celulares de las cepas de ratón con respecto a las cepas humanas, e identificar marcadores de virulencia mediante la respuesta a la inoculación por vía intracerebral del rad y del rrn.

Palabras clave: virus LCM, cepas argentinas, huéspedes de laboratorio

Abstract *Behavior of Argentine lymphocytic choriomeningitis virus strains in rodents.* The activity of LCM virus was first reported in Argentina at the beginning of the seventies and only five strains have been isolated from rodents *Mus domesticus* and two from humans. The objective of this paper was to find differential biological characteristics of Argentine strains of LCM virus comparing them in relation to the historical strains WE and Armstrong. Regarding the results obtained in tissue culture, when L 929 cells were used, plaque forming units (PFU) were obtained with human and mouse strains, whilst on Vero cells only human strains developed PFU. Differential characteristics of historical and Argentine strain's plates were not found, neither differences related to the strain's origin. Neither historical nor Argentine strains were lethal to new-born mice giving a persistent infection, that was demonstrated when we inoculated new-born mouse by intracranial route with different strains of LCM virus and virus was isolated from brains harvested at different days post inoculation. The only exception was Cba An 13065 strain that exhibited virulence in new-born mice, only with 0.026 PFU was obtained 1 DL₅₀. All the strains resulted lethal to adult mice. The mouse strains were more virulent than human strains, being Cba An 13065 the most virulent. These results demonstrate a different behavior in tissue culture between human and mouse strains and allow the identification of virulence markers by intracranial inoculation into new-born or adult mice.

Key words: LCM virus, Argentine strains, laboratory hosts

El virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCM) es el prototipo de la familia *Arenaviridae*. Fue aislado en 1934¹ de un caso humano en el transcurso de investigaciones de una epidemia de encefalitis en San Luis, EE.UU. La familia *Arenaviridae* está constituida por 23 agentes y el

virus LCM es el arenavirus de más amplia distribución geográfica, comprendiendo a América, Europa, Asia, África y Oceanía, continentes todos en los que se ha dispersado su reservorio roedor *Mus domesticus*². La actividad del virus LCM fue notificada por primera vez en Argentina a comienzos de la década del 70^{3,4} en seres humanos y roedores por la presencia de anticuerpos, confirmando su actividad por el aislamiento de una cepa de virus LCM en la provincia de Córdoba⁵. Estudios posteriores consistieron en la detección de anticuerpos en roedores⁶, en seres humanos^{7,8} y en el aislamiento de otras

Recibido: 25-IV-2007

Aceptado: 2-VII-2007

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

cepas a partir del roedor *M. domesticus*^{9, 10} y de dos casos de enfermedad humana¹¹. Estos hallazgos tuvieron lugar en áreas urbanas y rurales de las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires, pero la distribución del virus se supone mucho mayor, no habiéndose detectado en otros lugares por falta de búsqueda. Aunque se estima que la mayoría de los casos humanos son inaparentes, es importante incorporar el estudio de LCM al diagnóstico diferencial en los síndromes neurológicos y en enfermedades febriles indiferenciadas. También sería importante incorporarlo como estudio de rutina en mujeres embarazadas, ya que el virus LCM puede atravesar la placenta y provocar una infección que puede ser fatal para el feto^{12, 13}. Las manifestaciones comúnmente identificadas han sido hidrocefalia y corioretinitis. Esto fue primero informado en Lituania^{14, 15}, ha sido confirmado en Alemania^{16, 17}, y más recientemente por algunos casos en EE.UU.¹⁸⁻²¹. A pesar que el virus LCM ha servido de modelo para describir y analizar una serie de procesos biológicos e inmunológicos, la mayoría de estos estudios se han hecho en base a un escaso número de cepas aisladas hace 30 a 50 años que tienen un alto nivel de pasaje en el laboratorio, con los que se plantea la posibilidad de que cambien su constitución genómica y antigénica y sus propiedades biológicas respecto de las cepas que circulan en la naturaleza. Se puede sospechar una gran variabilidad en las propiedades biológicas del virus LCM, porque su huésped natural el *Mus domesticus* tiene una alta variabilidad genómica que ha permitido derivar colonias de laboratorio con diferencias notables en su comportamiento frente a la infección con este y otros agentes virales²². Sin embargo, las características biológicas diferenciales de las cepas silvestres de virus LCM, con bajo nivel de pasaje en el laboratorio, han sido poco estudiadas comparativamente, en especial respecto a su virulencia para huéspedes de laboratorio. Respecto de la virulencia diferencial de los arenavirus, es con el virus Junin con el que se ha investigado más ampliamente, definiéndose marcadores biológicos en animales de laboratorio que han permitido esclarecer aspectos de la base biológica de la virulencia diferencial²³⁻²⁶. La infección del ratón con virus LCM, ha brindado modelos experimentales para el estudio de interacciones entre un virus y el sistema inmune del huésped natural en infecciones agudas y persistentes. Múltiples trabajos se refieren al comportamiento de los ratones infectados con virus LCM, que es diferente según la edad de los mismos. El ratón adulto (rad) usualmente se enferma y luego muere, el virus no es directamente perjudicial para las células en las que se multiplica, y la enfermedad y muerte son expresiones de reacciones inmunes de linfocitos T contra los antígenos estructurales virales o antígenos inducidos por el virus, presentes en las células infectadas²⁷. Si la infección ocurre antes o inmediatamente después del nacimiento, el ratón adquiere

un estado de portador del virus, con alta replicación viral y con persistencia y excreción viral de por vida^{28, 29}. Esto fue interpretado como resultado de una tolerancia inmunológica específica en el animal inmunológicamente inmaduro³⁰. Se consideró que la tolerancia está restringida al compartimiento de células T, porque son producidos anticuerpos antivirales que a su vez son responsables de una enfermedad tardía por acúmulos de complejos Ag-Ac en riñón^{31, 32}.

Reviste fundamental interés conocer las características biológicas diferenciales de las cepas de virus LCM presentes en Argentina, porque esto condiciona la virulencia y el riesgo potencial de enfermedad y la gravedad de la misma en los seres humanos. El objetivo de este trabajo es analizar la respuesta de cultivos celulares y ratones albino suizos frente a la infección con alguna de las cepas de virus LCM aisladas en Argentina, y compararlas con cepas históricas reconocidas internacionalmente.

Materiales y métodos

Cepas de virus LCM

Las cepas históricas de virus LCM que se utilizaron con fines comparativos fueron la cepa WE³³, aislada en el año 1936 del LCR de un enfermo con un cuadro meníngeo de varias semanas de duración y la cepa Armstrong¹, aislada en 1934 del cerebro de un enfermo con un cuadro de encefalitis durante un brote en St. Louis (EE.UU.). Ambas cepas fueron recibidas en el Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui (INEVH), con un número de pasajes desconocido y dos pasajes en células Vero; en el INEVH se realizaron tres pasajes en ratón recién nacido (rrn) para obtener la semilla de trabajo.

Las cepas en estudio, aisladas en Argentina, fueron las siguientes:

- Cba An 13065⁵ fue aislada en el sur de la provincia de Córdoba en el año 1974 del cerebro de un ratón *Mus domesticus*, la misma fue enviada al INEVH con un nivel bajo de pasajes, en donde se realizaron cuatro pasajes en rrn para obtener la semilla de trabajo,
- An 7134¹⁰ y c) An 4949¹⁰ fueron aisladas en el INEVH en el año 2004, de ratones *Mus domesticus* capturados en el sur de la provincia de Santa Fe por el Dr. James Mills³⁴. Para obtener la semilla de trabajo se realizó un pasaje en células Vero, un pasaje en rad y tres pasajes en rrn,
- P8573¹¹ y e) P5226¹¹ fueron aisladas en el INEVH en el año 2001 de la sangre de dos pacientes del sur de la provincia de Santa Fe que presentaron un cuadro clínico diagnosticado como coriomeningitis linfocitaria. La historia de pasajes de la semilla de trabajo de la cepa P8573 es un pasaje en rad y cinco en rrn, y de la cepa P5226 tres pasajes en rad y tres en rrn.

Las semillas maestra y de trabajo de todas las cepas fueron obtenidas en cerebro de rrn (suspensión al 20%).

Líneas celulares

Se utilizaron células L 929 (ATCC- CCL1) entre los pasajes 370 y 600 y células VERO (ATCC-CCL 81) entre los pasajes 140 y 160, ambas líneas sembradas en bandejas de 6 pozos para cultivos celulares.

Ratones de laboratorio

Ratones albino suizos libres de patógenos específicos (spf), cepa Swiss N:NIH exocriados de la colonia del INEVH, originaria de una colonia del *National Institute of Health* (NIH), Bethesda, EE.UU. La edad fue de 24-48 horas (rrn) y de 30-35 días (rad). Los animales fueron manipulados cumpliendo con las buenas prácticas en el tratamiento de animales de experimentación.

Método de plaqueo en cultivo celular bajo agar

Se inocularon en la monocapa celular 0.2 ml de diluciones factor 10 de las cepas de virus a ensayar y luego de un período de adsorción a 37 °C con 5% de CO₂ se le agregó el primer agar consistente en una mezcla en partes iguales de agarosa Seakem al 1% en agua, y Medio Básico Eagle (BME) con SFB al 6% v/v, L-glutamina y antibióticos, y se siguió incubando en las mismas condiciones durante 4 días, momento en que se le agregó el segundo agar constituido por agarosa al 1% en agua conteniendo rojo neutro, incubándose un día más. Las células se conservaron en la heladera a 4 °C durante 3 días, al cabo de los cuales las placas se veían más nítidas para su recuento. Se registró el tamaño, la forma, los bordes y la nitidez. El título de virus se expresó en unidades formadoras de placas por mililitro (UFP/ml).

Ensayo de letalidad

Para observar la letalidad y cuantificarla se calculó el índice de infección letal, inoculando rad y rrn por vía intracerebral (ic) con 0.02 ml de diluciones factor 10 de la semilla de trabajo viral a partir de la dilución 10⁻¹; simultáneamente se inocularon células L 929 con las mismas diluciones. Se observó la letalidad de los animales durante 21 días y se calcularon las dosis letales 50 (DL₅₀)³⁵ en rad y rrn, las UFP en células L 929 para un volumen del inóculo de 0.02 ml y el índice de infección letal para rrn (I_{rrn}) y para rad (I_{rad}), según las siguientes fórmulas:

$$I_{rrn} = \log \text{UFP} / \text{DL}_{50rrn}$$

$$I_{rad} = \log \text{UFP} / \text{DL}_{50rad}$$

Este índice indica el número de UFP requeridas para lograr una DL₅₀ en el animal inoculado, ya sea rrn o rad por la vía usada; un mayor índice indica menor capacidad letal de la cepa viral.

Ensayo viral de las muestras de los animales inoculados

Para explicar la sobrevivencia de los ratones inoculados, se evaluó la evolución de la presencia de virus en cerebro. Para ello se inocularon por vía ic, rrn y/o ratones de 7 días de edad con una dilución 10⁻¹ de la semilla de trabajo de algunas cepas de virus, comprobándose la presencia de virus en cerebro a diferentes días post inoculación (pi), mediante la inoculación de células L 929.

Resultados

Infeción de cultivos celulares

Como resultado de la inoculación de cultivos celulares con las cepas en estudio, se observó que en células L 929 se obtuvieron placas bajo agar tanto con las cepas humanas WE y P5226 como con las cepas de ratón An 7134 y Cba An 13065 a diferencia de lo que ocurrió al utilizar células Vero como sustrato, ya que sólo se obtuvieron placas con las cepas humanas, a pesar de que una de las cepas de ratón (An 7134) fue aislada en células Vero, lo que indica que se replica en este huésped. En la Tabla 1 se muestran los resultados de cada combinación de cepa de virus-línea celular y los títulos virales obtenidos en cada una. En base a estos resultados, se prepararon las semillas de trabajo de todas las cepas en estudio y se titularon en células L 929 bajo agar, observándose las características de las placas de cada una de ellas. En la Figura 1 se muestran las placas obtenidas en células L 929 de las diferentes cepas estudiadas y se describen las características de las placas para cada una de ellas. La variabilidad en tamaño y forma de las placas no guardó relación con el origen de las cepas, ya sea ratón silvestre o humano. Las placas de las cepas Armstrong y An 4949 presentaron un tamaño heterogéneo y en general todas las cepas de virus LCM formaron placas muy nítidas con excepción de la cepa P 5226.

TABLA 1.- Título de cepas de virus LCM en dos líneas celulares

Cepa	Origen	Material	Células L 929	Células VERO
WE	humano	(Desconocido+2 Vero)	3.25 x 10 ⁴	2.00 X 10 ⁵
P 5226	humano	(3 rad, 1 rrn)	3.50 x 10 ⁴	1.70 x 10 ⁴
An 7134	ratón	Semilla maestra (1 Vero, 1 rad, 2 rrn)	3.25 x 10 ⁴	<5.00 x 10 ¹
An 7134	ratón	Semilla trabajo (1 Vero, 1 rad, 3 rrn)	3.25 x 10 ⁵	<5.00 x 10 ¹
Cba An 13065	ratón	Semilla trabajo (Desconocido + 4 rrn)	4.00 x 10 ⁶	<5.00 x 10 ¹

* Título: UFP/ml (menor dilución inoculada 10⁻¹)

rrn: ratón recién nacido

rad: ratón adulto

Letalidad para ratón de laboratorio

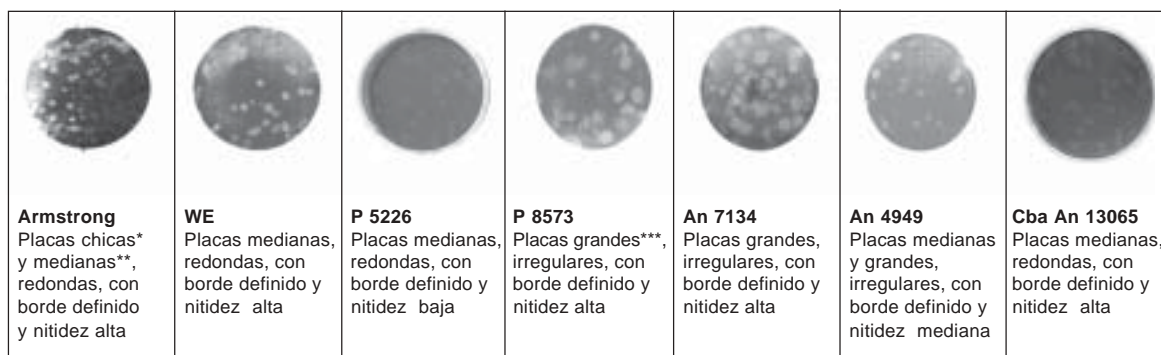
La Tabla 2 muestra el título en células L 929, en rrn y en rad y el índice de infección letal de las cepas de virus LCM aisladas en Argentina y de las cepas históricas.

Las cepas Armstrong, WE, P 5226, P 8573, An 7134 y An 4949 no fueron letales para rrn aun para la más baja dilución inoculada, resultando en títulos menores a 10¹ para 0.02 ml de inóculo. Los índices de infección letal para rrn fueron mayores a 3 logaritmos de virus indicando menor letalidad de las cepas para esa edad del ratón. La única excepción fue la cepa Cba An 13065 que resultó virulenta para rrn, en donde el nivel de virulencia está indicado por un índice negativo que se traduce en que con sólo 0.026 UFP se logra 1 DL₅₀ en el rrn. Todas las cepas resultaron letales en rad, los títulos fueron entre 10^{3.63} y 10^{6.13} resultando índices de infección letal entre -0.23 y 1 log de virus. Las cepas varían entre 0.59 y 10 UFP para producir 1 DL₅₀ en rad, lo cual indica una pequeña diferencia en la virulencia entre algunos pares de ce-

pas. El análisis de los índices de virulencia para rad de la Tabla 3, sugiere que las cepas cuyo origen es el roedor *Mus* son más virulentas que las cepas de origen humano, siendo la cepa Cba An 13065 la más virulenta de todas.

Evolución de la infección no letal de virus LCM en ratones de distintas edades

La falta de letalidad para rrn de las diluciones inoculadas de las cepas Armstrong, WE, P 5226, P 8573, An 7134 y An 4949 se podría atribuir a una infección aguda inaparente o a una infección con persistencia viral. Para explorar esta posibilidad descrita en la literatura, se ensayaron diversas cepas en rrn para ver si el virus persistía en el cerebro a distintos días p.i. Los cerebros de los rrn inoculados con las cepas WE, Armstrong y P5226 fueron cosechados en distintos días p.i. detectándose virus con títulos entre 10² y 10⁸ UFP/ml (Tabla 3), esto demuestra que estas cepas producen infección persistente en rrn, por lo menos hasta los 34 días p.i. Por otra



* <1 mm ** 1-3 mm *** >3 mm-6 mm

Fig. 1.— Fotografía y características de las placas obtenidas en células L 929 bajo agar por las diferentes cepas de virus LCM

TABLA 2.— *Indices de infección letal de las cepas de virus LCM para ratón recién nacido y ratón adulto*

Origen	Cepa	Células L 929 Título (UFP/0.02ml)	rrn		rad	
			Título (DL ₅₀ /0.02ml)	Índice Log(UFP/DL ₅₀)	Título (DL ₅₀ /0.02ml)	Índice Log(UFP/DL ₅₀)
Humano	Armstrong	10 ^{7.13}	<10 ¹	> 6.13	10 ^{6.13}	1
	P 5226	10 ^{4.51}	<10 ¹	>3.51	10 ^{3.63}	0.88
	P 8573	10 ^{5.95}	<10 ¹	>4.95	10 ^{5.42}	0.53
	WE	10 ^{5.95}	<10 ¹	>4.95	10 ^{5.65}	0.30
<i>Mus domesticus</i>	An 4949	10 ^{4.98}	<10 ¹	>3.98	10 ^{4.97}	0.01*
	An 7134	10 ^{5.09}	<10 ¹	>4.09	10 ^{5.11}	-0.02*
	Cba An 13065	10 ^{4.90}	10 ^{6.48}	-1.58*	10 ^{5.13}	-0.23*

* cepas más virulentas
rrn: ratón recién nacido
rad: ratón adulto

TABLA 3.— Infección a distintos tiempos post inoculación, de ratones de 1-2 días de edad inoculados con las cepas virales WE, Armstrong y P5226

Día cosechado post inoculación	Cepas de virus LCM		
	WE	Armstrong	P 5226
7	$4.50 \times 10^{7*}$	6.75×10^8	3.25×10^3
11	NH	NH	2.00×10^2
19	NH	NH	2.25×10^3
34	2.75×10^5	5.25×10^4	3.75×10^3

*Título de virus en cerebro (UFP/ml)

NH: No hecho

parte, si bien trabajos previos demuestran que la infección con virus LCM es persistente cuando la inoculación del ratón es perinatal, al inocular animales de 7 días de edad con la cepa An 7134, se mostró persistencia viral con un título de 3.5×10^1 UFP/ml en cerebros cosechados a los 28 días p.i.

Discusión

En este estudio se demuestra que existen características diferenciales en las cepas argentinas de virus LCM. La primera de ellas se refiere al comportamiento en cultivos celulares ya que al infectar dos tipos de células, Vero y L 929 las cepas aisladas de ratón no plaquearon en células Vero y sí lo hicieron en células L 929, mientras que las cepas aisladas de humanos plaquearon en ambas células. Esta selectividad para el sustrato celular según las cepas de virus LCM sugiere algún mecanismo de especificidad de especie, ya que todas las cepas (origen murino y/o humano) han debido adaptarse a ratón pues el hombre contrae la enfermedad por contacto directo o indirecto con el ratón reservorio del virus. En cambio, sólo las cepas aisladas de humanos produjeron placas en Vero, una línea celular originada en monos de especie cercana al hombre. Se observó también que las características de las placas de las cepas Armstrong y WE obtenidas con nuestras condiciones de trabajo en monocapa de células L 929 bajo agar, son similares en cuanto al tamaño, nitidez, forma y borde, presentando la cepa Armstrong algunas placas pequeñas que no se visualizan con la otra cepa. Estas cepas están adaptadas al laboratorio, y por el tiempo transcurrido desde su aislamiento se infiere que tendrían un nivel de pasajes mayor que el de las cepas aisladas en Argentina.

Las placas obtenidas con las cepas aisladas en Argentina (con bajo nivel de pasaje), tanto las de origen humano como las de origen de ratón silvestre, presentaron algunas diferencias en el tamaño, forma y nitidez que no se relacionaron con el origen. Estas diferencias tam-

poco se relacionaron con la diferente virulencia para el rrn que se observó entre la cepa Cba An 13065 y las otras cepas. Algunos trabajos muestran que la historia de pasajes puede afectar el tamaño de las placas³⁶. En este trabajo no se observó ninguna diferencia en el tamaño de las placas entre las cepas históricas de alto nivel de pasaje y las cepas argentinas de bajo nivel de pasaje. Ha sido puntualizado que partículas de virus agrupadas pueden ser las responsables de la heterogeneidad del tamaño de las placas, pero otros autores descartaron esta posibilidad al demostrar que el tratamiento con sonicado, que rompe los agregados virales, no alteró las características de las placas³⁷. Esto conduce a pensar que el tamaño de las placas puede ser una característica genética de cada cepa y la heterogeneidad en el tamaño indicaría heterogeneidad genómica de los viriones que constituyen una cepa. Las únicas cepas que presentaron heterogeneidad en el tamaño de las placas fueron Armstrong y An 4949. Para conocer las características biológicas diferenciales de las cepas argentinas de virus LCM, además del comportamiento en cultivos celulares, se estudió el comportamiento de las mismas en ratón albino suizo de laboratorio que en estado silvestre es su reservorio. Una de las razones por las que ha sido interesante estudiar la inmunobiología del virus LCM, es porque el resultado de la infección de esta especie de roedor con este virus, varía enormemente dependiendo de la edad, inmunocompetencia, antecedentes genéticos de los animales infectados, ruta de infección y de la cepa, y dosis del virus infectante²². La diferencia máxima de virulencia en rad se observó entre la cepa Cba An 13065 (índice de infección letal: -0.23) y la cepa Armstrong (índice de infección letal: 1), ubicándose las tres cepas de origen ratón en la mayor virulencia para rad. La cepa Cba An 13065 se comportó diferente a las otras cepas argentinas en el rrn inoculado por vía i.c. Esta cepa fue letal para rrn cuando se inoculó una alta concentración de virus (10^5 - 10^6 UFP/ml) por vía i.c., en cambio las cuatro cepas aisladas en el INEVH no fueron letales para rrn, demostrándose una infección persistente e inaparente en los animales de hasta 7 días de edad. Esto sería atribuible a la falta de respuesta inmune debido a la inmadurez inmunológica del rrn.

Hotchin²⁷ documentó que los pasajes bajos en cerebro de ratón de las cepas de LCM experimentales resultaron tener una mortalidad menor y tolerancia en rrn (virus dócil), y que pasajes mayores de virus mataban rrn (virus agresivo). Sin embargo, no es el nivel de pasaje de la cepa Cba An 13065 el determinante de su letalidad para el rrn ya que desde su aislamiento⁵ esta cepa fue letal para el ratón de esa edad. La letalidad de la cepa Cba An 13065 en rrn resulta similar al comportamiento del virus Junin en este huésped, donde la muerte del rrn se debe a la acción directa del virus. Las cepas conocidas de virus LCM son toleradas por el rrn y resultan leta-

les cuando el ratón ha madurado su sistema inmunológico.

Los resultados aquí presentados demuestran que el rrrn es un marcador nítido de virulencia del virus LCM. Con este marcador, determinamos que en la naturaleza existen cepas de virus LCM de diferente virulencia. Estos hallazgos tienen significación en la vigilancia epidemiológica de la infección humana por este virus.

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

Bibliografía

1. Armstrong C, Lillie R. 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; 9: 1019.
2. Howard CR. Laboratory diagnosis and serological properties. In: *Arenaviruses*. pp. 23-46. Elsevier, Amsterdam 1986.
3. Barrera Oro JG, Maiztegui JI, Sabattini MS, Garre ME. Evidencias serológicas preliminares de la actividad de un arnavirus relacionado con el de la coriomeningitis linfocítica (LCM) en presuntos enfermos de fiebre hemorrágica argentina (FHA). *Rev Asoc Arg Microbiol* 1970; 2: 184.
4. Maiztegui JI, Sabattini MS, y Barrera Oro JG. Actividad del virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCM) en el área endémica de la fiebre hemorrágica argentina (FHA). I. Estudios serológicos en roedores capturados en la ciudad de Pergamino. *Medicina (Buenos Aires)* 1972; 32:131-7.
5. Sabattini MS, Barrera Oro JG, Maiztegui JI, de Ferradas B. Actividad del virus de la coriomeningitis linfocítica en el área endémica de la 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.
6. Riera L, Castillo E, Saavedra MC, Priotto J et al. Serological study of the Lymphochoriomeningitis Virus (LCMV) in an inner city of Argentina. *J Med Virol* 2005; 76: 285-9.
7. Ambrosio AM, Feuillade MR, Gamboa GS, Maiztegui JI. Prevalence of lymphocytic choriomeningitis virus infection in a human population of Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50: 381-6.
8. Riera L, Saavedra MC, Briggiler AM, Calderón G, Schuster M, Ambrosio AM. Foco de infección por virus de la Coriomeningitis Linfocitaria (LCMV) en la ciudad de Pergamino (Buenos Aires) Argentina V Congreso Argentino de Virología. II Encuentro de Virólogos Latinoamericanos. Tandil, Buenos Aires - 24 - 27 de abril de 1996.
9. Saavedra C, Riera L, Castillo E, Sottosanti J, Sabattini M, Ambrosio A. Aislamiento de cepas de virus de la Coriomeningitis Linfocitaria (LCM) de roedores capturados en la ciudad de Río Cuarto. *Medicina (Buenos Aires)* 2002; 62: 346, 472.
10. Saavedra MC. Caracterización de cepas argentinas del virus de la coriomeningitis linfocitaria. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, 2004.
11. Saavedra MC, Ambrosio AM, Riera L, Levis S, Sottosanti J y Sabattini MS. Aislamiento del virus de la Coriomeningitis Linfocitaria de seres humanos. *Medicina (Buenos Aires)* 2001; 61: 837-42.
12. Komrower GM, Williams BL, Stones PB. Lymphocytic choriomeningitis in the newborn, probable transplacental infection. *Lancet* 1995; 268: 697-8.
13. Biggar RJ, Woodall JP, Walter PD, Haughie GE. Lymphocytic choriomeningitis outbreak associated with pet hamsters: Fifty-seven cases from New York state. *J Am Med Assoc* 1975; 232: 494-500.
14. Sheinbergas MM. Hydrocephalus due to prenatal infection with the lymphocytic choriomeningitis virus. *Infection* 1976; 4: 185-91.
15. Sheinbergas MM, Ptashekas RS, Pikelite RL, Tulyavichene YuP, Sverdlov YuM, Chibirene IK, Raynite-Audinene AB. Clinical and pathomorphologic findings in hydrocephalus caused by prenatal infection with lymphocytic choriomeningitis virus. *Zh Nevropatol. I Psikiatr Im S-S-Korsakova*. 1977; 77: 1004-7.
16. Ackermann R. Lymphozytaren Choriomeningitis: diaplazentare Übertragung. *Munch Med Wschr* 1976; 118: 689-90.
17. Chastel C, Bosshard S, Le Goff F, Quillien MC, Gilly R, Aymard M. Infection transplacentaire par le virus de la coriomeningite lymphocytaire. Résultats d'une enquête sérologique rétrospective en France. *Nouv Presse Med* 1978; 7: 1089-92.
18. Barton LL, Budd SC, Morfitt WS, et al. Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection in twins. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 942-6.
19. Larsen PD, Chartrand SA, Tomashek KM, Hauser LG, Ksiazek TG. Hydrocephalus complicating lymphocytic choriomeningitis virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 528-31.
20. Barton LL, Peters CJ, Seaver LH (1996). Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection. *Arc Pediatr Adolesc Med* 1996; 150: 440.
21. Barton LL, Mets MB. Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: decade of rediscovery. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 370-4.
22. Borrow P, Oldstone MB. Lymphocytic choriomeningitis virus. In: *Viral Pathogenesis*. Neal Nathanson et al. (eds). cap.25, Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997 p 593-627.
23. Contigiani MS, Sabattini M. Features of infection in hamsters by Junin virus. *Rev Argent Microbiol* 1983; 15:41-5.
24. Contigiani MS, Sabattini M. El cobayo lactante como indicador diferencial de la virulencia de cepas atenuadas de virus Junin. *Medicina (Buenos Aires)* 1984; 44: 376-82.
25. Medeot SI, Contigiani MS, Brandan ER, Sabattini MS. Neurovirulence of wild and laboratory Junin virus strains in animal hosts. *J Med Virol* 1990; 32: 171-82.
26. Medeot SI, Contigiani MS, Sabattini M, Diaz G. Experimental neuroinvasiveness of wild and laboratory Junin virus strains. *J Med Virol* 1992; 143: 259-67.
27. Hotchin J. The biology of lymphocytic choriomeningitis infection: virus-induced immune disease. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1962; 27: 479-99.
28. Lehmann-Grube F. Lymphocytic choriomeningitis virus. In: *The Mouse in Biomedical Research*, vol. II, Diseases. Foster HI, Small JD, Fox JG (eds) New York: Academic Press, 1982; p 231-66.
29. Lehmann-Grube F, Martinez Peralta L, Bruns M, Lohler, J. Persistent infection of mice with the lymphocytic choriomeningitis virus. In: *Comprehensive Virology*. Fraenkel-Conrat H, Wagner RR. (eds). New York: Plenum Publishing 1983, p 43-103.

30. Volkert M, Hannover Larsen J. Immunological tolerance to viruses. *Progr Med Virol* 1965; 7: 160-207.
31. Hotchin J, Collins DN. Glomerulonephritis and late onset disease of mice following neonatal virus infection. *Nature* 1964; 203: 1357-9.
32. Oldstone MBA. Virus neutralization and virus-induced immune complex disease. Virus-antibody union resulting in immunoprotection or immunologic injury-two sides of the same coin. *Progr Med Virol* 1975; 19: 84-119.
33. Rivers TM, Scott TFM. Meningitis in man caused by filterable virus. II. Identification of the etiological agent. *J Exp Med* 1936; 63: 415-32.
34. Mills JN, Ellis BA, McKee KT, et al. Junin virus activity in rodents from endemic and nonendemic loci in central Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 589-9
35. Reed LJ, Muench HA. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am J Hyg* 1938; 27: 493-7.
36. Thacore H, Youngner JS. Cells persistently infected with Newcastle disease virus. I. Properties of mutants isolated from persistent infected L cells. *J Virol* 1969; 4: 244-51.
37. Pfau CJ, Camyre KP. Biophysical and biochemical characterization of lymphocytic choriomeningitis virus. III. Thermal and ultrasonic sensitivity. *Arch Gesante Virusforsch* 1967; 20: 430-7.

LA TAPA

Luis Felipe Noé. Hacia la naturaleza. 1988

Técnica mixta, 100 × 100 cm. Cortesía de la Comisión Nacional de Energía Atómica, Predio TANDAR, Centro Atómico Constituyentes. Presidente de la Comisión Organizadora de la Exposición Permanente: Dr. A.J.G. Maroto. La exposición permanente está abierta al público.

Luis Felipe Noé nació en Buenos Aires en 1933. En 1951 ingresó a la Facultad de Derecho y al taller de Horacio Butler. Ha expuesto desde 1959, realizando más de 50 muestras individuales en diversas ciudades argentinas y del exterior (Madrid, New York, París, Lima, Bogotá, Cuenca, Caracas, entre otras). Sus obras forman parte de 40 colecciones en museos en todo el mundo. Junto a Macció, De la Vega y Deira formó el Grupo *Otra Figuración*, que exhibió sus obras en la Galería Peuser en 1961, y que significó un hito fundamental en la historia del arte pictórico argentino. En ese año fue becado por el gobierno de Francia, y en 1965 obtuvo la beca Guggenheim. Ha recibido numerosas distinciones y premios, entre ellos el nacional Di Tella (1963), el premio a la Trayectoria Artística (AACAA), Fortabat, Mención de Honor en la Bienal Internacional de Tokio, diplomas de honor Konex (1982, 1992, 1994, 2002), y los premios Konex Platino y Diamante (2002) dedicados a Artes Visuales, y a la Teoría del Arte. En 2007 fue declarado Ciudadano Ilustre de la Ciudad de Buenos Aires, y ha realizado una muestra en el Palacio de Correos, (sede provisional del MAMBA), titulada "*Noé en línea*", que abarcó un panorama del dibujo de todas sus etapas artísticas e incluyó obras nuevas e inéditas, algunas de ellas con leyendas como: "*Todo es misterio pero nada es absurdo, sólo nosotros*" o "*La vida es misterio pero también es un gran papelón*"^{1,2}.

¹Comisión Nacional de Energía Atómica. Artistas Plásticos con la CIENCIA, 101. Centro Atómico Constituyentes, Predio TANDAR, Buenos Aires, 1999; p 113.

²Noé recorre su trayectoria artística con una antología de sus dibujos. En: *La Nación.com*. Sección Cultura, Jueves 3 de mayo de 2007.