Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Análisis de la relación huésped-patógeno en el sistema Calomys-Virus Junín

Vitullo, Alfredo Daniel

1989

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Vitullo, Alfredo Daniel. (1989). Análisis de la relación huésped-patógeno en el sistema Calomys-Virus Junín. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2207_Vitullo.pdf

Cita tipo Chicago:
Vitullo, Alfredo Daniel. "Análisis de la relación huésped-patógeno en el sistema Calomys-Virus Junín". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1989. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2207_Vitullo.pdf

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

TESIS
2.207
Ej.2

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ANALISIS DE LA RELACION HUESPED-PATOGENO EN EL SISTEMA CALOMYS-VIRUS JUNIN

ALFREDO DANIEL VITULLO

1989

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ANALISIS DE LA RELACION HUESPED-PATOGENO EN EL SISTEMA CALOMYS-VIRUS JUNIN

por

ALFREDO DANIEL VITULLO

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina

Universidad de Buenos Aires

Directora de Tesis: Dra. MARIA SUSANA MERANI

Tesis presentada para optar al título de

Doctor en Ciencias Biológicas

1989

2.207

Ej: 2.

mis

Five hundred years ago, a great physician of Islam, Al Asuli, living in Bokhara, wrote a medical pharmacopea which he divided into two parts: "Diseases of the Rich" and "Diseases of the Poor". If Al Asuli were alive and writing today about the afflictions wrought upon itself by mankind, I am sure he would divide his pharmacopea into the same two parts. One part of the book would speak of the threat of Nuclear Annihilation inflicted on humanity by its richer half. The second part of his book would speak of the affliction which poor humanity suffers from
underdevelopment,
undernourishment
and famine.
We could add that both these diseases come from a common cause,
excess of Science and Technology
in the case of the rich,
and the lack of Science and Technology
in the case of the poor.

ABDUS SALAM

En la realización del presente trabajo el autor ha adherido y observado las normas establecidas por el Canadian Council on Animal Care para el manejo y uso de los animales de experimentación.

INDICE

INTRODUCCION 8

I- MECANISMOS DE TRANSMISION 9

- Definiciones y clasificación 13
- Clasificación de los sistemas de transmisión 19
- Estrategias de transmisión de los virus 25
- Significado epidemiológico de los mecanismos de transmisión 34

II- FIEBRE HEMORRAGICA ARGENTINA 42

- Arenavirus 42
- Arenavirus del Viejo y Nuevo Mundo 46
- Virus Junín: Agente etiológico de la Fiebre Hemorrágica Argentina 50
- Reservorios naturales del virus Junín 52
- Infección experimental con virus Junín en Calomys musculinus 56
- Mecanismos de transmisión del virus Junín 59

OBJETIVOS 61

MATERIALES Y METODOS 65

- Animales 66
- Virus 66
- Toma de muestras 67
- Ensayos virológicos 68
- Inmunofluorescencia 70
- Serología 71
- Procedimiento experimental 72
- Estadística 79
- Cuantificación de la transmisión vertical 79
- Cuantificación de la transmisión horizontal 81

RESULTADOS 83

I- INFECCION NEONATAL CON VIRUS JUNIN EN CALOMYS MUSCULINUS 84

- Morbilidad y mortalidad 84
- Crecimiento y desarrollo postnatal 89
- Persistencia viral 91
- Capacidad reproductiva dependiente de la infección 94

II- INFECCION CON VIRUS JUNIN EN CALOMYS MUSCULINUS ADULTOS 100

- Desarrollo de la infección: Persistencia y seroconversión 100
- Efectos sobre la reproducción y gestación 103
- Transmisión vertical de la infección 105

III- TRANSMISION HORIZONTAL EXPERIMENTAL 111

- Transmisión horizontal predestete 112
- Transmisión horizontal postdestete 114

IV- TRANSMISION VERTICAL: EFECTOS SOBRE LA PREVALENCIA DE INFECCION 118

- Capacidad de transmisión vertical en Calomys musculinus infectados al nacimiento 118
- Capacidad de transmisión vertical en Calomys musculinus infectados de adultos 126

V- INTERRELACION TRANSMISION VERTICAL--TRANSMISION HORIZONTAL 131

- Transmisión horizontal teórica 131
- Prevalencia de infección intrageneracional 133
- Transmisión horizontal intrageneracional y transmisión vertical 139

DISCUSION 149

- Efectos de la infección con la cepa Cba An 9446 del virus Junín en Calomys musculinus 150
- Eficacia simbiótica de la asociación virus Junín Calomys musculinus 156
- Mecanismos de transmisión del virus Junín 160
- Mantenimiento de la asociación virus Junín-Calomys musculinus 166

APENDICES 169

I- Cuantificación de la transmisión vertical Modelo matemático de Fine (1975) 170

II- Citotaxonomía del género Calomys 181

AGRADECIMIENTOS 184

BIBLIOGRAFIA 186

INTRODUCCION

I. MECANISMOS DE TRANSMISION

A fines del siglo XIX, el origen espontáneo de las enfermedades infecciosas, en ambientes sucios, era aceptado en la comunidad científica de la época aun cuando algunos investigadores habían avanzado ya la hipótesis de que algunas enfermedades, como la tuberculosis, no se originaban de novo sino que eran causadas por agentes parasitarios transmisibles (Villemin, 1866). Varios años después, ya a principios de nuestro siglo, la ley de "transmisibilidad obligada" de las enfermedades infecciosas cobró validez y aceptación general.

El primer ejemplo documentado en detalle sobre la transmisión de un patógeno fue realizado, en 1893, por Smith y Kilbourne al analizar la transmisión de generación en generación (transmisión vertical) del agente causal de la 'fiebre sureña del ganado'; sin embargo recién a mediados de nuestro siglo, los trabajos de Ludwik Gross sobre el virus del tumor de mamas murino sentaron las bases de la teoría epidemiológica de los mecanismos de transmisión.

Gross (1949, 1951) trabajando sobre colonias de ratones que desarrollaban carcinomas mamarios, analizó la ocurrencia de tal afección a través de generaciones suce-

sivas. Encontró que el desarrollo tumoral era inducido por un "agente filtrable" que no resistía la pasteurización, que poseía propiedades antigénicas y podía ser neutralizado in vitro mediante un suero inmune específico. Este virus se hallaba, principalmente, en la leche materna y el contacto de adultos enfermos con adultos sanos no promovía el contagio de la infección. No obstante, al analizar el desarrollo de tumores en colonias afectadas observó que su aparición no era azarosa y espontánea sino que podía ser seguida a través de la genealogía de los animales. El desarrollo de tumores respondía a una línea familiar y podía prevenirse simplemente aislando, al nacimiento, las crías de una madre perteneciente a un linaje que desarrollaba tumores y criándolas con una nodriza de una línea libre de infección. De este modo, se interrumpía la aparición de tumores no sólo en las crías sino en toda la descendencia de éstas. Contrariamente, las crías nacidas de madres libres de infección desarrollaban tumores al ser criadas por hembras afectadas, y transmitían esta característica a toda su descendencia. A este modo particular de transmisión de la afección que sólo se realizaba de una generación a la siguiente en el

momento de la lactancia, lo denominó "epidemia vertical".

Esta epidemia vertical podía saltear, a veces, una o más generaciones enteras y reaparecer en la siguiente. Este hecho, conjuntamente con la ausencia de contagio entre adultos, había inducido a otros investigadores a proponer un origen espontáneo del tumor (Bittner, 1941; Kirschbaum y Bittner, 1945). Para Gross la ley de transmisibilidad obligada también era aplicable en este caso. ¿Cómo explicar, entonces, que una generación pudiera no manifestar tumorización precedida y seguida de sendas generaciones afectadas? Al analizar la aparición de tumores en familias afectadas halló que el desarrollo tumoral ocurría, generalmente, al final del ciclo de vida del animal. Esto explicaba porqué en algunas generaciones en que los animales morían tempranamente, no se desarrollaba la enfermedad. Sin embargo, aunque ellos no resultaran enfermos, lograban transmitir la infección a su progenie en la que sí podía haber desarrollo tumoral.

El patrón de la epidemia vertical encontrado por Gross se caracterizaba por: (1) exposición e infección durante la lactancia a través de la leche materna, se-

guido por (2) una fase asintomática muy larga asociada a (3) la capacidad del huésped de transmitir la enfermedad sólo a su progenie y, finalmente, (4) la aparición de síntomas de la enfermedad y (5) muerte del huésped.

Este patrón era esencialmente distinto al observado en la mayoría de las enfermedades transmisibles donde luego de (1) la exposición e infección (que ocurría en cualquier momento durante el ciclo de vida), rápidamente (2) aparecían síntomas de la enfermedad, asociados con (3) la capacidad del huésped afectado de transmitir la infección a otros individuos susceptibles (que pertenecían en general a la misma generación) y, finalmente,(5) muerte o recuperación del huésped infectado.

Para distinguir ambos patrones, Gross acuñó los términos "transmisión vertical" para el primero de ellos y "transmisión horizontal" para el segundo.

La transmisión vertical no era un modo particular de transmisión del virus del tumor de mamas murino sino que representaba un patrón generalizado para muchos parásitos, no sólo de los mamíferos, sino también de insectos y plantas, que pasaban de una generación a la siguiente a través de los huevos y semillas.

Independientemente de los aportes que los trabajos de Gross hicieron a la teoría general del cáncer en su momento, y eran el motivo central de sus estudios, el reconocimiento de estos dos patrones generales de transmisión generó el desarrollo ulterior de la teoría epidemiológica de la transmisión de los parásitos.

- DEFINICIONES Y CLASIFICACION

La transmisión vertical se define como la "transferencia directa de una infección desde los organismos parentales a su progenie" (Gross, 1949, 1951; Andrewes, 1957). El complemento lógico de la transmisión vertical es la transmisión horizontal que contempla cualquier "transferencia de la infección entre individuos de la especie huésped, excepto en el caso en que ésta ocurra directamente de padres a hijos" (Gross, 1949; Andrewes, 1957). Estos dos tipos fundamentales de transmisión se manifiestan tanto en poblaciones huéspedes de reproducción sexual como asexual (Fig. 1) y son válidos tanto para huéspedes unicelulares como pluricelulares, animales y vegetales.

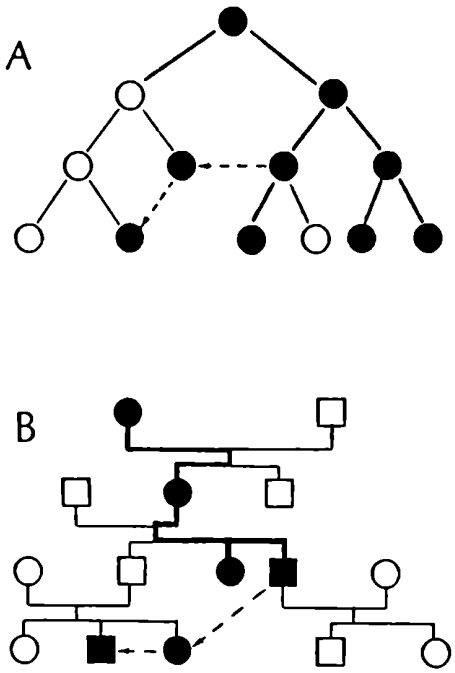

Figura 1.--Patrones de transmisión vertical (líneas completas) y horizontal (líneas punteadas) en poblaciones de reproducción asexual (A) y sexual (B). Las poblaciones se representan como pedigrés que cubren cuatro generaciones sucesivas del huésped. En el diagrama (B) se utilizan símbolos convencionales: círculos = hembras, cuadrados = machos. Símbolos oscuros: individuos infectados

La transmisión horizontal puede tener lugar entre individuos de la misma o diferentes generaciones (Fig. 1, línea punteada) y puede realizarse a través del contagio por contacto entre los individuos de una población, transmisión horizontal directa, o por transferencia de la infección mediante un vector, transmisión horizontal indirecta (Andrewes, 1957).

Por el contrario, la transmisión vertical es estrictamente intergeneracional (Fig. 1, línea llena) y puede ocurrir en el momento mismo de la fertilización o durante la gestación -transmisión vertical antenatal-, en el momento mismo de la parición -transmisión vertical perinatal- o, incluso, luego del nacimiento -transmisión vertical postnatal (Tabla 1) (Mims, 1981).

La transmisión vertical antenatal puede realizarse en distintas etapas de la gestación. En términos generales, la variedad de posibilidades de transferencia de la infección antes del nacimiento puede agruparse en tres categorías esenciales: transmisión germinal, transmisión preimplantativa y transmisión postimplantativa. La transmisión germinal de una infección se lleva a cabo a través de las gametas; el agente in-

TABLA 1

Clasificación de los mecanismos de transmisión

a)- General

- TRANSMISION VERTICAL (sólo intergeneracional)
  - ANTENATAL
    - GERMINAL
    - PREIMPLANTATIVA
    - POSTIMPLANTATIVA
  - PERINATAL
  - POSTNATAL
- TRANSMISION HORIZONTAL (intra-intergeneracional)
  - DIRECTA
  - INDIRECTA

b)- Transmisión vertical según caracteres clinales

- TRANSMISION VERTICAL
  - MONOCLINAL
    - MATERNA
    - PATERNA
  - BICLINAL (MATERNA + PATERNA)

feccioso puede incorporarse al embrión transportado por el óvulo o el espermatozoide, asociado a éstos de modo mecánico (v.g. adsorción a membrana) o incorporado a la célula germinal en su citoplasma o genoma. La transmisión preimplantativa concierne el pasaje del agente infeccioso al embrión durante los primeros estadios de división previos a la implantación, y suele ser el resultado de infecciones localizadas en los tejidos o fluídos del oviducto. Una vez establecida la conexión materno-fetal a través de la placenta, se favorece la transmisión de aquellos patógenos capaces de transgredir esta barrera. Esta división de los mecanismos de transmisión antenatal se ajusta, especialmente, a mamíferos y en general a los organismos con desarrollo vivíparo. En los organismos con desarrollo ovíparo u ovovivíparo normalmente la transmisión antenatal es de tipo germinal.

Las transmisiones perinatal y postnatal ofrecen una fuente más de variabilidad dentro de los mecanismos posibles de transmisión vertical de un agente parasitario. La transmisión perinatal ocurre principalmente en infecciones localizadas en el canal de parto. La transmisión postnatal, favorecida en los sistemas con huéspedes mamíferos y en general en los que los cuidados de

las crías posibilitan un contacto estrecho entre progenie y padres, depende de la eliminación del patógeno en orina, heces, saliva o leche materna, o de su circulación en sangre. Ambos tipos de transmisión requieren que los organismos parentales experimenten alguna de las siguientes condiciones para asegurar el pasaje de la infección a sus crías (Mims, 1981): (1) una infección primaria durante el parto, (2) una reactivación de una infección latente o (3) una eliminación contínua del patógeno en el curso de una infección persistente.

Dado el carácter familiar de la transmisión vertical ésta puede subdividirse, para poblaciones de reproducción sexual, en transmisión vertical paterna y transmisión vertical materna (Tabla 1). Ambas líneas de transmisión pueden operar separadas o conjuntamente, de modo tal que la transmisión puede ser de tipo monoclinal cuando el agente infeccioso se transmite sólo a través de la línea materna o paterna, o biclinal cuando se realiza por ambas líneas. En los sistemas que involucran huéspedes mamíferos, la transmisión vertical suele estar restringida a la línea materna, asociada al mayor contacto de la progenie con la madre durante la gestación y lactancia.

- CLASIFICACION DE LOS SISTEMAS DE TRANSMISION

A pesar de la gran variabilidad de mecanismos mediante los cuales puede transferirse un patógeno entre los individuos de una especie huésped, para analizar el mantenimiento temporal y espacial de un parásito en su huésped interesa, básicamente, la interrelación transmisión vertical-transmisión horizontal. Ambos mecanismos pueden por sí mismos mantener con eficiencia la infección a través de generaciones sucesivas del huésped, dependiendo de las características propias del huésped y del parásito, aunque en la mayoría de los casos operan conjuntamente. En la Figura 2 se ilustra esquemáticamente esta interrelación. Los cuadrados representan dos generaciones sucesivas (G_1 y G_2)del huésped (B). El área rayada en cada uno de ellos indica la proporción de individuos infectados con un agente parasitario (A), a través del tiempo. La línea llena que une a ambos cuadrados representa la transmisión vertical del patógeno A, desde la generación parental (G_1) a la filial (G_2). La transmisión horizontal, intrageneracional e intergeneracional, se indica mediante líneas punteadas. Sobre este esquema básico es posible clasificar a los sistemas de transmisión en nueve tipos generales o patrones que cu-

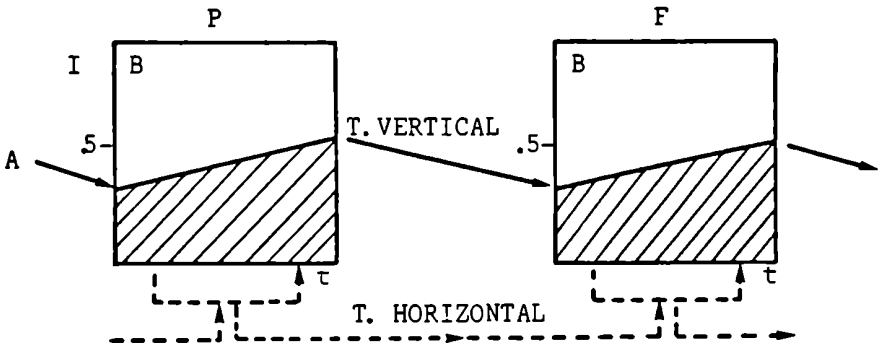

Figura 2.--Diagrama general de transmisión horizontal y vertical de un patógeno (A) en dos generaciones sucesivas de su huésped (B). P: generación parental, F: generación filial. En cada población se grafica la tasa de prevalencia de infección (I) en función del tiempo.

bren la totalidad de sistemas conocidos (Fine, 1975). Esta clasificación (Tabla 2) se basa en la ocurrencia individual o combinada de la transmisión horizontal y vertical y en el número de especies huéspedes que el sistema involucra.

Los sistemas Tipo I corresponden a sistemas biológicos en los que el huésped es un organismo unicelular. Los patrones Tipo II y Tipo III incluyen a todas las asociaciones cuyos huéspedes son organismos metazoos (o metafitas en el caso de huéspedes vegetales). El Tipo II cubre los sistemas simples en los que un agente infeccioso se asocia a un sólo huésped; el Tipo III comprende situaciones más complejas que incluyen una especie vectora y en algunos casos dos o más huéspedes.

SISTEMAS TIPO II

Tipo IIa. Su característica epidemiológica más saliente es la absoluta dependencia de la transmisión vertical debido a la ausencia de infección por contagio horizontal. Incluye a las asociaciones mutualistas de bacterias con artrópodos (Buchner, 1965), el virus Sigma de *Drosophila* (L'Héritier, 1971) y algunas infecciones con rickettsias en mosquitos (Yen y Barr, 1973).

TABLA 2

Clasificación de los sistemas de transmisión (Fine, 1975)

Tipo	Características	Ejemplo	Referencia
Ia	Sólo transmisión vertical	Cuerpo bipolar en *Crithidia oncopelti*	Guttridge y McAdam, 1971
Ib	Transmisión vertical y horizontal	Factor kappa en *Paramecium aurelia*	Sonneborn, 1959
IIa	Sólo transmisión vertical	Virus Sigma en *Drosophila*	L'Héritier, 1971
IIb	Transmisión vertical y horizontal intergeneracional	*Nosema bombycis* en *Bombyx mori*	Pasteur, 1870
IIc	Transmisión vertical y horizontal intra e intergeneracional	Virus de la polihedrosis en artrópodos	Aizawa, 1963

TABLA 2 (continuación)

Tipo	Características	Ejemplo	Referencia
IIIa	Un vector/un huésped Sin transmisión entre huéspedes	*Rickettsia tsutsugamushi* (a)* en *Leptotrombidium akamushi* (b) + vertebrados (c)	Rapmund et al., 1969
IIIb	Un vector/un huésped Transmisión horizontal entre huéspedes	Virus de la influenza porcina (a) en *Metastrongilus* (b) + porcinos (c)	Shope, 1941
IIIc	Un vector/varios huéspedes. Sin transmisión horizontal entre huéspedes	*Rickettsia rickettsi* *Dermacentor andersoni* (b) + huéspedes vertebrados (c)	Burgdorfer, 1963
IIId	Un vector/varios huéspedes, con contagio horizontal entre huéspedes.	*Brucella melitensis* (a) en *Haemaphysalis warburtoni* (b) + cabras (c)	Volkova et al., 1960

* (a): patógeno; (b): huésped vector; (c) huésped reservorio

Tipo IIb. Tales asociaciones se mantienen por transmisión vertical y horizontal intrageneracional. Este patrón se aplica estrictamente a los casos en que no existe superposición de generaciones del huésped, impidiendo la transmisión horizontal intergeneracional. Obviamente, la transmisión vertical es absolutamente necesaria para asegurar al momento de eclosión de una nueva generación, la prevalencia del patógeno.

Tipo IIc. Representa la situación más común en que la transmisión horizontal ocurre entre individuos de la misma y distintas generaciones. La transmisión vertical no es cualitativamente necesaria dada la opción de transferencia horizontal intergeneracional, y su importancia cuantitativa dependerá de la eficiencia con que el patógeno logre transmitirse horizontalmente.

SISTEMAS TIPO III

Tipo IIIa. En este patrón el patógeno es transmitido al reservorio sólamente a través del vector y éste, a su vez, se alimenta sobre un sólo individuo huésped. Así, la transmisión vertical resulta obligatoria dado que el único modo en que el vector puede infectar al huésped es recibiendo la infección verticalmente.

Tipo IIIb. Como en el caso anterior, se incluyen aquí los sistemas en que el vector toma contacto con un sólo individuo huésped. La diferencia radica en la posibilidad de transmisión horizontal del patógeno en la población huésped. Así, la transmisión vertical del patógeno en el vector no resulta estrictamente necesaria dado que puede adquirir la infección a través del contacto con el huésped.

Tipos IIIc y IIId. En ambos el vector se asocia con varios individuos huéspedes. Este hecho hace que la transmisión vertical no sea esencial, debido a la oportunidad de transmisión horizontal indirecta. Ambos patrones incluyen a los sistemas más complejos que pueden abarcar más de una especie huésped.

Esta tipificación de los sistemas de transmisión no es teórica sino que responde a ejemplos conocidos de asociación huésped-parásito, algunos de los cuales se presentan en la Tabla 2.

- ESTRATEGIAS DE TRANSMISION DE LOS VIRUS

Los virus han mostrado ser uno de los agentes in-

fecciosos con mayor facilidad para transmitirse horizontal y verticalmente en sus huéspedes. Una de las razones de tal eficiencia es que, a diferencia de la mayoría de los microparásitos en general que suelen inducir infecciones de corta duración (Anderson y May, 1979), muchos virus desarrollan una asociación persistente con el huésped que se mantiene durante períodos muy largos, a veces durante todo el ciclo de vida, sin provocar serios disturbios funcionales o inducir respuestas inmunológicas capaces de eliminarlos totalmente (Mims, 1981).

La transmisión horizontal es un fenómeno habitual en la propagación de las infecciones virales, que ocurre de modo directo como consecuencia de la eliminación de partículas infecciosas en las heces, orina, saliva y otras secreciones del huésped; o de modo indirecto mediante especies vectoras que transportan la infección de individuos infectados a huéspedes susceptibles.

La mayor variación de estrategias de transmisión en virus se presenta en la propagación vertical de la infección donde es posible hallar ejemplos para toda la gama de posibilidades de este tipo de transmisión.

La transmisión viral a través de las gametas es la vía más directa y efectiva para asegurar el pasaje de la

infección desde los organismos parentales a la progenie aunque, no necesariamente, es la más simple. La transmisión a través de las células germinales requiere que el virus no sea citopatogénico en las células infectadas que no altere los complejos procesos de fertilización y desarrollo embriológico, que logre mantenerse en el acelerado proceso de división celular del embrión y que permanezca protegido de respuestas inmunes que puedan inactivarlo o dañar las células huéspedes infectadas (Mims, 1981). A pesar de estas restricciones, distintos grupos de virus se han adaptado a sus huéspedes de tal modo que la transmisión germinal representa un mecanismo de importancia epidemiológica en el mantenimiento de la asociación huésped-virus.

Los retrovirus oncogénicos muestran una estrategia extrema de transmisión germinal a través de la incorporación estable de su material genético al genoma del huésped. La capacidad de estos virus de transcribir su ARN en ADN e incorporarlo de manera estable al genoma huésped, les permite transferirse a toda la progenie celular. Cuando esta transferencia alcanza a las células germinales, el genoma viral pasa a la descendencia desde el momento mismo de la fertilización. La transmisión

es, entonces, factible tanto a través del óvulo como del espermatozoide. La evidencia directa de tal transmisión fue obtenida, hace ya varios años, para distintas cepas de los virus de la leucemia y del tumor de mamas murinos, a través de la transferencia de embriones tempranos de animales infectados a vientres sanos, con el consecuente nacimiento de progenie infectada (Fekete y Otis, 1954; Bentzelven et al.,1970).

La incorporación al genoma es una expresión extrema del parasitismo que puede asegurar la propagación contínua del material genético del virus en el huésped, sin requerir siquiera la producción de partículas virales y la diseminación de virus infeccioso entre las células o individuos huéspedes (Mims, 1981). Muchos otros grupos de virus que no poseen este mecanismo de incorporación genómica, han logrado, no obstante, desarrollar modalidades de transmisión germinal que garantizan el mantenimiento del virus en la especie huésped. En particular, muchos virus que realizan sus ciclos en huéspedes artrópodos, se mantienen en los mismos transmitiéndose en los huevos fecundados, sin incorporarse al genoma (Burgdorfer y Varma, 1967). Esta transmisión es de especial impor-

tancia en aquellos virus asociados a artrópodos que presentan generaciones no superpuestas, separadas por un período de diapausa en que la población se mantiene en estado de huevos fecundados o larvas. La incorporación al huevo fecundado permite que, al final del período de latencia, la infección viral reaparezca en la población emergente. Esta transmisión denominada transovárica ha sido demostrada para distintos virus transmitidos por artrópodos, incluyendo los virus de La Crosse, dengue, encefalitis japonesa, fiebre amarilla, entre otros (Watts et al., 1973; Rosen et al., 1978).

No siempre la transmisión germinal implica la infección de las gametas; en muchos casos, éstas actúan como vehículos para transportar mecánicamente el virus a la cigota. Un ejemplo interesante lo constituyen los rabdovirus de los salmónidos. El virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHN) se transmite en su huésped natural, *Salmo gairdneri*, tanto horizontal como verticalmente. El IHN suele encontrarse en grandes concentraciones en el fluído de la cavidad en las hembras, y es eliminado conjuntamente con los huevos

en el momento de la deposición. Si bien el virus es incapaz de infectar los huevos, se adsorbe fácilmente a la membrana de los espermatozoides en el momento en que el esperma es descargado sobre la masa de huevos depuesta por la hembra (Mulcahy y Pascho, 1984). La adsorción viral a la membrana del espermatozoide no sólo garantiza el transporte del virus al embrión en el momento de la fertilización sino que, tratándose de un proceso altamente especie-específico, se garantiza la unión a los espermatozoides capacitados para la fecundación.

La localización de infecciones virales en los tejidos gonadales no implica necesariamente la existencia de una transmisión germinal en el momento de la fertilización. Una vez formada la cigota, la transmisión viral al embrión dependerá de la capacidad del virus para atravesar la zona pelúcida que rodea a los embriones tempranos en los mamíferos y actúa como barrera entre el virus y el embrión. Algunos virus muestran la capacidad de transgredir esta barrera, probablemente a través de los canales generados por el pasaje del espermatozoide durante la fertilización (Bowen, 1979).

El reconocimiento de este tipo de transferencia vertical proviene de los estudios de infección viral induci-

TABLA 3

Virus de transmisión transplacentaria.

Familia	Virus	Especie
Arenaviridae	LCM[1]	Ratón
Herpetoviridae	CMV[2]	Humano, cobayo
	Varicela-Zoster	Humano
	Herpesvirus felino	Gato
	Rinoneumonitis equina	Caballo
Papovaviridae	Polyoma	Ratón
Parvoviridae	Panleucopenia felina	Gato
	Parvovirus porcino	Cerdo
	Parvovirus bovino	Bovinos
	Kilhams	Rata
	"Minute"	Ratón
Reoviridae	Reovirus tipos 1 y 2	Ratón
Retroviridae	Anemia infecciosa equina	Caballo
Togaviridae	Rubeola	Humano
	LDH[3]	Ratón
	Akabane	Oveja
	Arteritis infecciosa equina	Caballo

[1] LCM: virus de la coriomeningitis linfocitaria
[2] CMV: citomegalovirus
[3] LDH: láctico-dehidrogenasa

da experimentalmente. Gwatkin (1963) reporta el primer caso de infección viral en embriones no implantados de ratón, encontrando que el virus de la Mengo encefalitis (MEV) es capaz de atravesar la zona pelúcida e infectar embriones de dos células. Posteriormente, la capacidad de infectar embriones no implantados es reconocida para otros virus como el de la leucemia felina, Coxsackie B_3 y el virus de la encefalomielitis equina del oeste (Singh et al., 1982). Sin embargo, mucho mayor fue el número de virus detectados en tales estudios incapaces de atravesar la zona pelúcida e infectar las células embrionarias. La mayor parte de la infecciones antenatales ocurren en el ambiente uterino, luego de la implantación del embrión, una vez establecida la conexión materno-fetal que facilita la transmisión transplacentaria. A pesar de la frecuencia de este tipo de transmisión (Tabla 3) no es, desde el punto de vista epidemiológico, una de las vías más eficientes para resolver el mantenimiento de una asociación viral con su huésped, dado que en la mayoría de los casos el pasaje transplacentario provoca alteraciones fetales irreversibles.

La transmisión postnatal se encuentra muy generalizada en las asociaciones virus-huésped, en especial

TABLA 4

Virus de transmisión postnatal

Vehículo	Grupo viral	Virus	Especie
Leche	Retrovirus	Leucemia murina[1]	Ratón
		MTV[2]	Ratón
		Anemia infecciosa	Equinos
	Herpesvirus	CMV[3]	Humano
	Togavirus	LDH[4]	Ratón
	Paramyxovirus	Paperas	Humano
Heces	Togavirus	LDH	Ratón
Orina	Arenavirus	Machupo; Junín	*Calomys*
	Herpesvirus	CMV	Humano
	Papovavirus	Polyoma	Ratón
Saliva	Paramyxovirus	Paperas	Humano
	Herpesvirus	CMV	Humano, ratón
	Togavirus	LDH	Ratón
	Arenavirus	Machupo; Junín	*Calomys*

[1] Cepa Friend
[2] MTV: virus del tumor de mamas murino
[3] CMV: citomegalovirus
[4] LDH: láctico-dehidrogenasa

porque en el desarrollo de la infección los virus acceden con bastante facilidad a las secreciones del huésped, permitiendo la transferencia de la infección a las crías durante el período de proximidad a sus progenitores (Tabla 4).

Finalmente, la transmisión a través del semen en mamíferos, agrega una posibilidad más para el pasaje de la infección por vía vertical. La presencia de virus en el semen es común para muchas infecciones virales (Tabla 5); sin embargo, en la mayoría de los casos su efecto es la transmisión horizontal de la infección a la hembra (transmisión venérea) antes que un efectivo pasaje vertical de la infección seminal al embrión.

- SIGNIFICADO EPIDEMIOLOGICO DE LOS MECANISMOS DE TRANSMISION.

Como ha sido presentado, los virus han desarrollado estrategias de transmisión vertical en toda la gama de posibilidades, desde la transmisión por incorporación al genoma del huésped hasta la transmisión postnatal. Aunque la descripción cualitativa de infecciones virales asocia-

TABLA 5

Virus presentes en semen

Familia	Virus	Especie
Herpesviridae	Herpes Simplex	Humano
	CMV[1]	Humano
	Rinotraqueitis infecciosa	Bovinos
Retroviridae	MTV[2]	Ratón
	Leucosis enzoótica	Bovinos
	Anemia infecciosa	Equinos
Picornaviridae	Aftosa	Bovinos
Togaviridae	Diarrea bovina	Bovinos
	LDH[3]	Ratón
Filoviridae[4]	Marburg	Humano
	Ebola	Humano
Hepadnaviridae	Hepatitis B	Humano

[1] CMV: citomegalovirus
[2] MTV: virus del tumor de mamas murino
[3] LDH: láctico-dehidrogenasa
[4] Filoviridae (Kiley et al., 1982)

das a las células germinales, embriones no implantados e implantados es abundante, son pocos los casos en que estas infecciones localizadas son indicadores reales de una eficiente transmisión vertical. El ejemplo más llamativo es, probablemente, el de los retrovirus oncogénicos. Estos virus clasificados como tipos A, B, C y D en base a caracteres morfológicos (microscopía electrónica) están asociados a mamíferos, aves y reptiles. Existe una extensa bibliografía acerca de la localización de partículas virales de los diferentes tipos en gonadas, células germinales, embriones y fetos de ratones (Calarco y Szollosi, 1973; Chase y Piko, 1973), ratas (Gross et al., 1975), cobayos (Kerzel y Jeppeser., 1972; Black, 1974), primates (Schlidovsky y Ahmed, 1973 Benveniste et al., 1974; Kalter et al., 1974) y aves (diStephano y Dougherty, 1966), pero son muy pocos los ejemplos en que está claramente establecido que la infección en gametas y embriones es el paso inicial hacia una transmisión vertical efectiva (Fekete y Otis, 1954 Bentvelzen et al., 1970). La mera presencia de la infección en estos tejidos no es suficiente para suponer un mecanismo de transmisión de importancia epidemiológica.

Muchos virus logran acceder al embrión a través del pasaje transplacentario durante la gestación. Ya en 1949, Burnet y Fenner predijeron que los antígenos presentados al feto antes del desarrollo del sistema inmunológico podrían comportarse como propios y la respuesta inmune ante estos antígenos particulares sería mínima. De este modo, cualquier virus capaz de acceder transplacentariamente al embrión podría perpetuarse indefinidamente por transmisión vertical. Si bien en algunos casos, como en el virus de la coriomeningitis linfociataria del ratón (LCM) esto puede ser así, la mayoría de los virus que se transmiten por esta vía producen daño fetal o muerte del embrión, malformaciones congénitas y retrasos de crecimiento o enfermedades nerviosas clínicas, transformando tal transmisión en un mecanismo de escasa o nula importancia epidemiológica (Mims, 1981).

La importancia epidemiológica de las vías de transmisión radica en las capacidades del parásito y el huésped para establecer un equilibrio de asociación que sustente el mantenimiento temporal y espacial de la relación.

La función desempeñada por los mecanismos de trans-

misión vertical y horizontal en el mantenimiento de las asociaciones huésped-parásito es un problema cuantitativo cuya solución depende de las cantidades absolutas y relativas en que se presentan las distintas modalidades de transmisión (Fine, 1975).

La gran variabilidad de mecanismos de transferencia de los parásitos en sus huéspedes no es, necesariamente, un reflejo de la eficiencia para sostener una asociación estable en el tiempo. Por lógica, podría suponerse que un patógeno bien adaptado no debería tener efectos adversos significativos en su huésped. Sin embargo, existe una amplia documentación sobre parásitos que interfieren con la sobrevida, reproducción y movimientos de sus huéspedes. Esta interferencia no es obligatoriamente un factor negativo en el mantenimiento de la asociación; por el contrario, puede representar un factor de estabilización del sistema (Yuill, 1987).

Los agentes infecciosos suelen ser una causa común de mortalidad en las poblaciones naturales, que puede formar parte del equilibrio establecido entre el patógeno y el huésped cuando: (1) la muerte del huésped facilita la transmisión del patógeno, (2) el patógeno es ge-

neralista en cuanto a sus huéspedes y puede establecer ciclos de transmisión que involucren a varias especies y (3) el patógeno es capaz de moverse a través de poblaciones huéspedes en una amplia área geográfica, y durante un período largo de tiempo, de tal modo que las poblaciones huéspedes no son, en ningún momento, afectadas seriamente (Yuill, 1987).

El efecto negativo de la mortalidad causada por un patógeno será tal dependiendo directamente de su acción cuantitativa sobre el huésped. Las tasas elevadas de mortalidad se asocian normalmente a introducciones recientes de un patógeno en una población natural. El ejemplo clásico lo constituye la deliberada introducción del virus de la myxomatosis en las poblaciones de conejos europeos, *Orictolagus cuniculus*, en Australia y en Europa, que condujo a tasas de mortalidad iniciales de hasta el 99% de los animales infectados (Fenner y Ratcliffe, 1965; Yuill, 1981), estabilizándose luego en valores intermedios (70-90%) (Ross y Sanders, 1984). Podría esperarse, entonces, una tendencia evolutiva hacia la disminución de la mortalidad y una consecuente enfermedad más benigna. No obstante, las cepas atenuadas del virus de la myxomatosis no logran persistir

en la naturaleza porque no replican bien y no alcanzan nunca las cantidades requeridas para una transmisión efectiva mediante artrópodos vectores (Yuill, 1987).

En el extremo opuesto a la myxomatosis, el virus de la rabia desarrolla en las poblaciones naturales de cánidos una enfermedad uniformemente fatal, a pesar de tratarse de una asociación de larga data (Baer, 1975). El comportamiento agresivo inducido por la replicación viral en cerebro constituye un fenómeno esencial en la transmisión del virus (Yuill, 1987).

No existe, pues, una generalización simple que permita establecer unívocamente una relación entre la mortalidad, el tiempo de asociación y la capacidad de transmisión del patógeno. La solución de equilibrio entre estas variables dependerá de su cuantificación.

El punto central en la determinación de la importancia epidemiológica de la transmisión es poder asegurar si un mecanismo dado es suficiente en sí mismo para sostener la infección a través de generaciones sucesivas del huésped. A este respecto, la transferencia vertical de una infección puede considerarse análoga a la transmisión hereditaria, y en tal sentido, su cuantificación puede basarse en los modelos genéticos que

estudian la prevalencia de un determinado alelo en una población. Bajo esta óptica, se han desarrollado modelos matemáticos que permiten el análisis de la eficiencia de la transmisión vertical para sostener una relación huésped-patógeno (L'Héritier, 1970; Fine, 1975; Fine y Sylvester, 1978) (ver Apéndice I). Estos modelos requieren la medición o estimación de ciertos parámetros que hacen a la eficacia de la transmisión:

β: tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección

α: fertilidad relativa dependiente de la infección

Estos dos parámetros fundamentales permiten definir, a su vez, la "eficacia simbiótica" de una asociación huésped-patógeno como:

$\alpha\beta(d+v)$ (Fine, 1975)

El producto $\alpha\beta$ mide el efecto neto de la infección sobre la fertilidad y sobrevida del huésped y permite clasificar una asociación dada como: mutualismo ($\alpha\beta>1$), comensalismo ($\alpha\beta=1$) o parasitismo ($\alpha\beta<1$).

El término $(d+v)$ mide la capacidad del patógeno para transmitirse en su huésped. De este modo la eficacia simbiótica nos indica la capacidad de un sistema para mantener una relación equilibrada en el tiempo. (La definición matemática de la eficacia simbiótica y otros aspectos relacionados a la misma se presentan en detalle en el Apéndice I).

II. FIEBRE HEMORRAGICA ARGENTINA

- ARENAVIRUS

El término arenavirus fue propuesto para designar a un conjunto de virus animales que comparten características morfológicas y morfogenéticas (Rowe et al., 1970) presentan estrechas relaciones antigénicas (Mettler et al. 1963; Johnson et al., 1967; Casals et al., 1975; Wulff et al., 1978) y están naturalmente asociados a roedores muroideos (Arata y Gratz, 1975; Howard, 1986). Estas características distintivas, en especial las referidas a morfología y morfogénesis viral, han justificado la recomendación del Comité Internacional de Taxonomía Viral (Fenner, 1976) de otorgar estatus taxonómico familiar a este conjunto, bajo la designación de Arenaviridae cuyo prototipo es el virus de la coriomeningitis linfocitaria del ratón (LCM) y constituye el primer miembro reconocido de esta familia (Armstrong y Lillie, 1934; Traub, 1935 Rivers y Scott, 1935).

Las partículas virales son en todos los casos esféricas, ovoides o pleomórficas con un diámetro que oscila

entre los 50 y 300 nm, poseen una membrana electrón densa con proyecciones y espículas y un número variable de gránulos internos que confieren al virión un característico aspecto de "grano de arena" (Murphy et al., 1970, 1973; Murphy y Whitfield, 1975).

El genoma está compuesto por ARN de simple cadena organizado en dos segmentos designados como "L" (large) y "S" (small), acompañado de especies menores con coeficientes 4-6S y ARN ribosomal 28 y 18 S, probablemente de origen celular (Carter et al., 1973; Pedersen, 1973; Rawls et al., 1973; Anon et al., 1976; Vezza et al., 1978; Buchmeier et al., 1980, Giménez y Compans, 1980).

La característica más notoria del genoma de los arenavirus es su doble polaridad ("ambisense")(Bishop, 1986). La mitad 3' del segmento ARN-S es complementaria en composición a uno de los ARN mensajeros (ARNm-N) que se traduce en la proteína N, pero el extremo 5' es idéntico al ARNm de la proteína GPC; es decir, la estrategia de codificación del ARN-S es de doble polaridad. De este modo, el ARNm-GPC no puede ser transcripto sino luego de comenzada la replicación del

ARN-S precedida de la transcripción del ARNm-N a partir del extremo 3' (Fig. 3) (Compans y Bishop, 1985). La escasa abundancia del ARNm-GPC en relación con el ARNm-N en las infecciones líticas concuerda con la regulación independiente de ambos productos génicos (Compans y Bishop, 1985).

Los arenavirus presentan, en general, tres polipéptidos mayores denominados N, GP-1 y GP-2 (Ramos et al., 1972; Martínez Segovia y De Mitri, 1977; Vezza et al., 1977; Buchmeier et al., 1978; Gangemi et al., 1978). El polipéptido N o NP es el de mayor abundancia (55-66% de las proteínas totales), constituye la proteína estructural de la nucleocápside y está firmemente asociada al ARN viral. Los polipéptidos GP-1 y GP-2 son glicoproteínas con diferentes secuencias de aminoácidos (Buchmeier y Oldstone, 1979; Harnish et al., 1981a, 1981b) que pueden ser removidas de los viriones por digestión proteolítica. Ambas glicoproteínas han sido descriptas para los virus LCM, Lassa, Machupo y Pichinde (Kiley, 1981); en cambio los virus Junín, Tacaribe y Tamiami presentan una sóla glicoproteína mayor (Gard et al., 1977; Grau et al., 1981). Estas proteínas se localizan en la superficie externa del

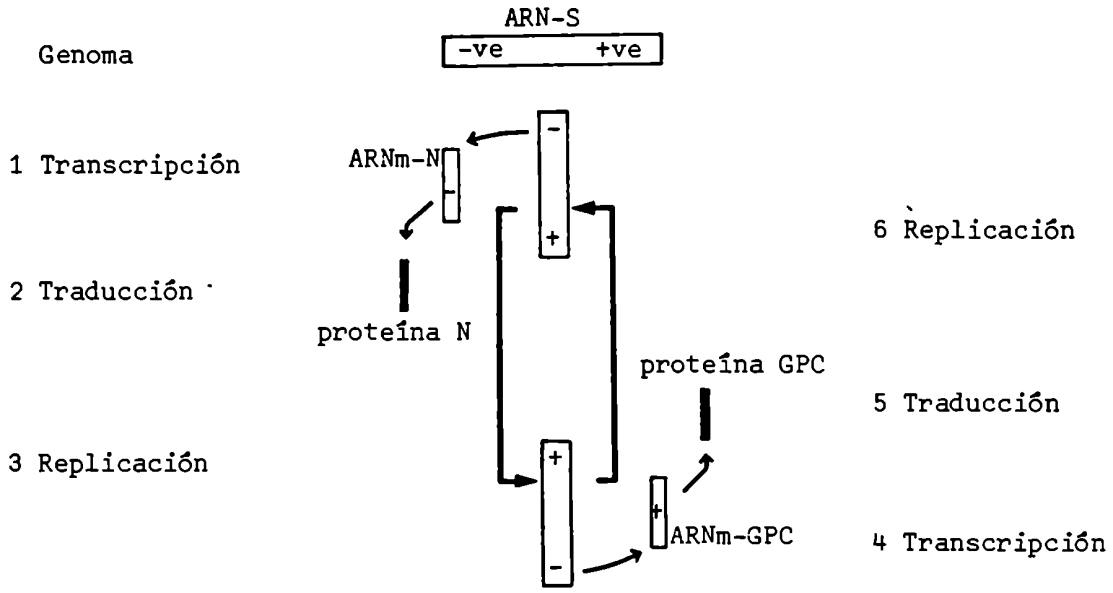

Figura 3.--Estrategia de codificación, replicación, transcripción y traducción en el segmento ARN-S de los arenavirus. Adaptado de Compans y Bishop (1985).

virión formando proyecciones a modo de espículas. Además de las proteínas principales se han descripto diferentes péptidos menores asociados a los distintos arenavirus (Compans y Bishop, 1985).

- ARENAVIRUS DEL VIEJO Y NUEVO MUNDO

Desde el reconocimiento del virus LCM en 1934, prototipo de los Arenaviridae, pasaron más de 30 años hasta que el aislamiento de nuevos virus permitió establecer una cohesión taxonómica para este grupo. Desde 1958 hasta la actualidad se han descripto 14 arenavirus diferentes, distribuídos en Europa, Africa y América (Tabla 6) y subdivididos en dos grandes grupos: arenavirus del Viejo Mundo y arenavirus del Nuevo Mundo.

Los arenavirus del Viejo Mundo incluyen al virus LCM, de distribución mundial, el virus Lassa distribuído en Africa y los virus relacionados a este último, Ippy, Mobala, Mopeia y Skukusa, también del continente africano.

Los arenavirus del Nuevo Mundo están restringidos a Sudamérica (Tabla 6) con excepción del virus Tamiami

localizado en la península de Florida, América del Norte, y comprenden, además de éste, los virus Amapari, Flexal, Junín, Latino, Machupo, Paraná, Pichinde y Tacaribe.

La división de los arenavirus en estos dos grandes grupos está sustentada por las relaciones antigénicas que los miembros de cada uno de ellos guardan entre sí. Todos los miembros de la familia cruzan serológicamente por inmunofluorescencia pero son antigénicamente diferentes por fijación de complemento o neutralización. De este modo, los arenavirus del Nuevo Mundo que conforman el denominado complejo Tacaribe están cercanamente relacionados entre sí por fijación de complemento y antigénicamente alejados de los virus LCM y Lassa (Wulff et al., 1978; Casals, 1982).

La asociación de los arenavirus con sus reservorios naturales permite también distinguir la separación de grupos propuesta. Con la excepción del virus Tacaribe, originalmente aislado de murciélagos del género *Artibeus*, en la isla de Trinidad (Downs et al., 1963), los arenavirus están invariablemente asociados en la naturaleza a roedores muroideos (Tabla 6). El complejo Tacaribe está asociado a roedores pertenecientes a la familia

TABLA 6
Arenavirus y su distribución

Virus	Distribución	Huésped natural	Referencia
Especies del Viejo Mundo			
LCM	Mundial	*Mus musculus*	Armstrong y Lillie (1934)
Lassa	Africa Occidental	*Mastomys natalensis*	Frame et al. (1970)
Mobala	Africa Central	*Praomys jacksonii*	González et al. (1983)
Mopeia	Mozambique	*Mastomys natalensis*	Wulff et al. (1977)
Especies del Nuevo Mundo			
Amapari	Brasil	*Oryzomys goeldi*	Pinheiro et al. (1966)
Flexal	Brasil	*Oryzomys* sp.	Pinheiro et el. (1977)
Junín	Argentina	*Calomys musculinus* *Calomys laucha* *Akodon azarae*	Parodi et al. (1958)
Latino	Bolivia	*Calomys callosus*	Johnson et al. (1973)
Machupo	Bolivia	*Calomys callosus*	Johnson et al. (1966)
Paraná	Paraguay	*Oryzomys buccinatus*	Webb et al. (1970)
Pichinde	Colombia	*Oryzomys albigularis*	Trapido y Sanmartín (1971)
Tacaribe	Trinidad	*Artibeus jamaicensis*	Downs et al. (1963)
Tamiami	Florida, EEUU	*Sigmodon hispidus*	Calisher et al. (1970)

Cricetidae y dentro de ésta únicamente a los miembros de la subfamilia Sigmodontinae distribuída en América del Sur (Reig, 1980). Si bien en América del Norte la familia Cricetidae está representada mayormente por la subfamilia Neotominae, el único arenavirus del complejo Tacaribe distribuído en esta área del continente -el virus Tamiami- está asociado al género *Sigmodon* que es un representante de los Sigmodontinae que ha alcanzado tal localización geográfica, por reinvasión, proveniente de Sudamérica.

Los arenavirus del Viejo Mundo están vinculados a roedores de la familia Muridae y, particularmente , a los géneros *Mus* (LCM) y *Mastomys o Praomys* (complejo Lassa) (Tabla 6).

De la totalidad de los arenavirus, tanto del Nuevo y del Viejo Mundo, sólamente cuatro de ellos han sido reconocidos como patógenos para el hombre: LCM, Lassa, Junín y Machupo. Para los restantes arenavirus, especialmente los del complejo Tacaribe, no se ha detectado patogenicidad para el hombre. Sin embargo, a través de infecciones accidentales se ha encontrado que algunos de ellos pueden causar infecciones asintomáticas en el hombre (v.g. Pichinde)(Howard, 1986).

- VIRUS JUNIN: AGENTE ETIOLOGICO DE LA FIEBRE HEMORRAGICA ARGENTINA (FHA)

La Fiebre Hemorrágica Argentina es una enfermedad endemoepidémica distribuída en la región agrícola-ganadera de mayor importancia en el país. Desconocida antes de 1950, fue discripta en detalle por primera vez en 1955 (Arribalzaga, 1955).

El agente etiológico de esta nueva entidad nosológica, el virus Junín (VJ), fue aislado en 1958 de sangre y muestras de tejidos de un paciente de la ciudad de Junín, provincia de Buenos Aires, que manifestaba los síntomas descriptos para la FHA (Parodi et al., 1958; Pirosky et al., 1959).

El área de actividad del VJ, originalmente de 16.000 km^2, fue extendiéndose progresivamente hasta cubrir en la actualidad una región endemoepidémica de 120.000 km^2 (Maiztegui y Sabattini, 1977; Weissenbacher y Damonte, 1983) que abarca el noroeste de la provincia de Buenos Aires, el sur de las provincias de Santa Fe y Córdoba y el norte de la provincia de La Pampa. Además de esta área circunscripta de actividad, en 1983 fue hallada la existencia de infección en humanos y roedores en regiones centro-sur de la

provincia de Buenos Aires que indican el riesgo potencial de aparición de FHA en zonas alejadas de la región endémica (Weissenbacher et al., 1985).

La enfermedad es claramente estacional, con brotes epidémicos que se inician a fines del verano (febrero) y alcanzan su máximo pico en otoño (mayo) finalizando a comienzos del invierno. Esta distribución estacional de la FHA coincide con la época de intensificación de las tareas agrícolas de la región, particularmente la cosecha del maíz, y concomitantemente, se registra en la misma época del año un incremento poblacional de las especies de roedores consideradas como reservorios del VJ.

La infección en humanos se realiza principalmente a través de vías cutáneas o mucosas, por abrasiones de la piel o por las mucosas oral y/o respiratoria durante el trabajo mecanizado en las cosechas (Weissenbacher et al., 1987). Estas vías de infección han sido confirmadas por infecciones accidentales de laboratorio (Weissenbacher et al., 1976, 1978).

Luego de penetrar a través de la piel o mucosas, el virus desarrolla un período de incubación de 1 a 2 semanas y los síntomas iniciales de la enfermedad son poco específicos e incluyen astenia, dolor muscular, vértigo, in-

flamación de ganglios linfáticos, petequias cutáneas y dolor retrocular. Entre los 6 y 10 días posteriores a su inicio, la sintomatología tiende a agravarse involucrando, de modo más severo, alteraciones cardiovasculares, digestivas, renales, neurológicas, hematológicas y de coagulación (Maiztegui, 1975; Cintora, 1977). En la mayoría de los casos la enfermedad es esencialmente hemorrágica y neurológica. A los 10-15 días el 80% de los pacientes se recuperan notablemente en tanto que el resto empeora, alcanzando un 16% de mortalidad en ausencia de tratamiento con plasma inmune (Ruggiero et al., 1977). El tratamiento con plasma reduce la mortalidad a niveles del 1-2% (Maiztegui et al., 1979).

La sintomatología clínica de la FHA se asemeja cercanamente a la producida por otros arenavirus patógenos para el hombre, como Machupo y Lassa, y puede cursar como una infección inaparente, como formas más o menos severas o como una enfermedad letal (Weissenbacher et al., 1987).

- RESERVORIOS NATURALES DEL VIRUS JUNIN

La posible conexión entre la FHA y los roedores sil-

vestres del área endémica fue sugerida tempranamente por Aribalzaga (1955) al describir la enfermedad. Luego de identificado el virus Junín se acumularon suficientes observaciones que permitieron establecer con claridad la asociación natural del virus con los roedores cricétidos de la región. De este modo se identificó como principales huéspedes naturales a las especies *Calomys musculinus* y *Calomys laucha*. El virus ha sido también aislado de *Akodon azarae* y, ocasionalmente, de *Mus musculus*. Entre estas especies, *C. musculinus* presenta la capacidad de establecer infecciones persistentes de larga duración (Sabattini et al., 1977); este hecho sumado a que ésta es la especie que detenta los mayores porcentajes de infección natural ha llevado a considerarla como el principal reservorio natural del VJ (Sabattini y Contigiani, 1982).

Si bien la asociación del VJ con los roedores cricétidos fue establecida rápidamente, la identificación clara de las especies involucradas demoró algunos años debido en gran parte a la confusa taxonomía del género *Calomys*. Si bien el panorama taxonómico del grupo dista aún de ser ordenado, la aplicación en los últimos años de técnicas citotaxonómicas ha permitido avanzar en la caracterización de la diversidad específica del género

(Pearson y Patton, 1976; Reig, 1984; Vitullo et al., 1989)(ver Apéndice II).

Los estudios de infección natural realizados en la década del 60 (Sabattini et al., 1967) hacían mención, como principal reservorio del VJ, a la forma nominal *Calomys laucha* subespecie. Cabe destacar que en aquel momento el género había sido revisado taxonómicamente por Hershkovitz (1962) quien demostraba la naturalidad del mismo y su relación con los cricétidos filotinos.

Hershkovitz reconoció sólo la existencia de cuatro especies: *C. laucha*, *C. sorellus*, *C. lepidus* y *C. callosus*. De este modo, agrupaba las distintas formas de *Calomys* pequeños existentes en Argentina bajo el nombre específico de *Calomys laucha*. Por el mismo tiempo, Cabrera (1961) reconoce para *C. laucha* dos subespecies: *Calomys laucha laucha* y *C. laucha musculinus*. Ambos autores sirvieron de referencia a los trabajos ecológicos y de muestreo de infección de las especies involucradas en el ciclo natural del VJ, y no es de extrañar que los estudios realizados en ese momento indiquen como principal reservorio a *C. laucha* sin una clara discriminación entre sus dos subespecies.

Si bien las contribuciones realizadas por Hershkovitz y Cabrera permitieron ordenar, en cierta medida, la compleja taxonomía del género representaban una aproximación insuficiente al conocimiento de la diversidad del grupo.

A fines de la década del 60, los estudios realizados por Massoia et al. (1968) permitieron establecer que ambas subespecies merecían su distinción específica en base a caracteres morfológicos y cariológicos. De este modo, quedaba claramente demostrada la existencia de dos especies de *Calomys* pequeños, *C. laucha* y *C. musculinus*, en el área endémica de FHA. Actualmente, tal distinción está firmemente sustentada a través de estudios de reproducción y cría (Hodara et al., 1984; Merani et al., 1988), citogenética (Gardenal et al., 1977; Forcone et al., 1980; Vitullo et al., 1983, 1984, 1989), biología reproductiva experimental (Roldán et al., 1984, 1985) y espermatología (Roldán et al., 1983; Vitullo y Roldán, 1986).

Los estudios de muestreo de infección natural realizados con posterioridad al aporte de Massoia, permitieron analizar la importancia de las especies del género *Calomys* en el ciclo natural del VJ e identificar a *C. musculinus* como reservorio principal (Sabattini et al. 1976, 1977; Sabattini y Contigiani, 1982).

INFECCION EXPERIMENTAL CON VIRUS JUNIN EN CALOMYS MUSCULINUS

La mayor parte de los estudios de infección experimental con VJ en *Calomys musculinus* fueron desarrollados empleando la cepa viral XJ-Clon 3, atenuada para el hombre, y derivada de la cepa prototipo XJ, de origen humano. A pesar de tratarse de una cepa viral de laboratorio, estos estudios han permitido aclarar en gran medida muchos aspectos de la infección.

C. musculinus es susceptible a la infección neonatal con la cepa XJ-Clon 3, por vía intraperitoneal, mostrando un 50% de mortalidad entre los 14 y 28 días postinfección, precedida de un período de enfermedad con marcados signos de compromiso neurológico (Lampuri et al., 1982; Laguens et al., 1982a). Esta cepa es esencialmente neurotrópica y, ocasionalmente, causa viremia o se disemina a otros órganos.

La susceptibilidad disminuye con la edad y los animales de más de 20 días son resistentes a la infección intraperitoneal (Laguens et al., 1982b). Sin embargo, al emplear la vía de infección intranasal, los animales adultos desarrollan una enfermedad neurológica que produce un 50% de mortalidad (Laguens et al., 1982b).

El desarrollo de la infección con XJ-Clon 3 tanto en animales adultos como lactantes muestra tres respuestas: (1) los animales desarrollan enfermedad neurológica y mueren, (2) desarrollan la enfermedad y se recuperan, o (3) desarrollan síntomas neurológicos persistentes con retraso de crecimiento, asociados a una marcada meningoencefalitis con altos títulos de virus en cerebro.

La patogénesis de la infección con XJ-Clon 3 en *C. musculinus* es probablemente de origen inmunológico dado que la administración de suero antitimocito en los animales recién nacidos reduce significativamente la mortalidad y la incidencia de la enfermedad (Coulombié et al., 1986).

Los mecanismos que conducen a la persistencia viral son poco conocidos. La infección persistente ha sido correlacionada con altos títulos de anticuerpos neutralizantes; sin embargo, la administración de ciclofosfamida en concentraciones suficientes para interferir con la síntesis de anticuerpos, no modifica el curso de la infección tanto en *C. musculinus* adultos como lactantes (Coulombié y Coto, 1985).

Uno de los mecanismos que más probablemente permi-

te sostener las infecciones persistentes es la presencia de variantes serológicas en el curso de la infección, ya que el virus recuperado del cerebro de animales crónicamente infectados es sólo parcialmente neutralizado por el suero del mismo animal (Lampuri et al. 1985). Estas variantes serológicas del VJ han sido observadas en sangre de *C. musculinus* crónicamente infectados (Alché y Coto, 1986).

Con respecto a la infección con cepas salvajes de virus Junín, la información es menos abundante. Los estudios realizados por Sabattini et al. (1977) han demostrado que la infección neonatal con la cepa Cba An 9446, aislada originalmente de *C. musculinus*, induce en el huésped una infección asintomática y persistente durante toda la vida del animal. Esta infección está acompañada de eliminación de virus en orina y saliva, como así también de viremia permanente. Los animales adultos infectados con la cepa Cba An 9446 desarrollan en algunos casos persistencia viral acompañada de eliminación de virus infeccioso en orina y saliva, y en otros logran limpiar el virus (Sabattini et al., 1977 Martínez-Peralta et al., 1979); no obstante, esta respuesta no ha sido estudiada en profundidad.

- MECANISMOS DE TRANSMISION DEL VIRUS JUNIN

Para los arenavirus en general, los mecanismos de transmisión han sido poco investigados. El sistema más conocido es el del virus LCM-*Mus musculus* para el que ha sido claramente establecido que, además de la transmisión por contacto directo entre individuos, el virus se transfiere por vía vertical germinal, logrando acceder a las gametas femeninas por infecciones localizadas en ovario (Mims, 1966, 1968, 1969). La transmisión vertical representa, en este sistema, un mecanismo de suma importancia epidemiológica dado que son los animales congénitamente infectados los que desarrollan infecciones persistentes (Mims, 1981).

El virus Machupo, agente etiológico de la Fiebre Hemorrágica Boliviana, muestra una transmisión esencialmente horizontal y vertical postnatal. Contrariamente al virus LCM, la transmisión antenatal del virus Machupo afecta de modo importante el desarrollo embriológico e induce abortos (Webb et al., 1975).

En el caso particular del virus Junín, ha sido establecido que el contacto estrecho y prolongado entre animales susceptibles y persistentemente infectados po-

sibilita la transmisión horizontal de la infección (Sabattini et al., 1977). Esta observación asociada a la detección de virus en orina y saliva en animales capturados infectados, y la demostración experimental de que las glándulas salivales muestran la máxima concentración de virus en los animales persistentes (Martínez-Peralta et al., 1979) han llevado a proponer la transmisión horizontal como el principal mecanismo para mantener la infección en las poblaciones naturales del huésped (Sabattini y Contigiani, 1982).

La transmisión vertical ha sido investigada infectando hembras gestantes y se ha hallado que durante la lactancia es factible detectar infección en las crías (Sabattini et al., 1977). No obstante, la posibilidad de transmisión vertical antenatal y la importancia de la transmisión vertical postnatal para mantener la asociación VJ-*C. musculinus*, se desconocen.

Asimismo, los parámetros fundamentales que hacen a la epidemiología de los mecanismos de transmisión y los efectos de la infección sobre la gestación y dinámica reproductiva del huésped no han sido analizados.

OBJETIVOS

Desde el reconocimiento del virus Junín y su asociación con los roedores del género *Calomys*, el área endémica de la Fiebre Hemorrágica Argentina se ha extendido progresivamente en los últimos 20 años (Weissenbacher y Damonte, 1983). Este hecho es un claro indicador de la existencia de mecanismos de transmisión ajustados de tal modo que la relación virus Junín-*C. musculinus* logra perpetuarse temporal y espacialmente. Este mantenimiento ha sido explicado, en gran medida, a través del manejo del hábitat que las actividades agrícolas del hombre han generado en el área endémica. No obstante, los mecanismos de transmisión que posibilitan la persistencia del virus Junín en las poblaciones de su huésped natural han sido escasamente estudiados.

La presente investigación tuvo como objetivos principales:

1- Determinar los efectos de la infección con virus Junín sobre la fertilidad y sobrevida del huésped, delimitando si estos efectos son independientes o no de la edad al momento de contraer la infección, a fin de establecer las características esenciales de la relación de

asociación entre el patógeno y su huésped.

2- Analizar la ocurrencia de la transmisión vertical del virus Junín, deslindando si la misma tiene lugar antes o después del nacimiento, y caracterizar los efectos que tal transmisión pueda tener sobre la gestación y/o desarrollo postnatal del huésped.

3- Cuantificar la capacidad de transmisión vertical de la infección, tanto por vía materna como paterna, y estimar experimentalmente la capacidad de transmisión horizontal por contacto estrecho entre huéspedes infectados y susceptibles, en función del tiempo.

Partiendo de la hipótesis de que las asociaciones virus-mamíferos son, por lo general, del Tipo IIc (ver Clasificación de los sistemas de transmisión) y se mantienen por transmisión vertical y horizontal, y que la capacidad del virus Junín para transmitirse por ambas modalidades ha sido previamente esbozada (Sabattini et al., 1977) se desarrolló el análisis cuantitativo de los puntos enunciados arriba, con el objeto de contestar las siguientes preguntas que delimitan el significado epidemiológico de los mecanismos de transmisión:

1- De existir algún mecanismo de transmisión vertical capaz de contribuir cuantitativamente en la prevalencia de la infección con virus Junín en *C. musculinus* ¿es éste suficiente para sostener la infección en generaciones sucesivas del huésped sin requerir de la transmisión horizontal?

2- De ser la transmisión vertical suficiente para sostener la infección a través del tiempo, ¿cuál es el papel que desempeña la transmisión horizontal en el sistema?; o, siendo insuficiente en sí misma la transmisión vertical, ¿en qué medida es necesaria la transmisión horizontal para lograr una infección prevalente equilibrada? y ¿con qué magnitud habrá de transmitirse la infección por contagio horizontal dentro de cada generación y entre generaciones sucesivas?

3- Finalmente, ¿cuál es el balance cuantitativo necesario entre la transmisión horizontal y vertical que permite un mantenimiento estable de la asociación virus Junín-*C. musculinus* a través de sucesivas generaciones?

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES Y METODOS

- ANIMALES

Se emplearon *Calomys musculinus* obtenidos de una colonia de laboratorio, libre de virus Junín, establecida en 1981 (Hodara et al., 1984; Hodara, 1987; Merani et al., 1988). Esta colonia fue derivada a partir de animales previamente adaptados a condiciones de bioterio, en 1967, provenientes originalmente de la localidad de Laguna Larga, provincia de Córdoba (de Villafañe, 1981). La línea utilizada en este estudio se inició con ejemplares de la F_{40} de la colonia original. El análisis de la variabilidad genética entre ambas colonias permitió establecer la diferenciación de la colonia derivada como sublínea; no obstante, ambas colonias mantienen un patrón de similitud fenética entre sí y con la población natural de donde derivaron (Corti et al., 1987).

- VIRUS

Se utilizó la cepa Cba An 9446 del virus Junín. Esta cepa fue originalmente aislada de sangre entera

de un ejemplar de *C. musculinus* capturado en el área endémica de Fiebre Hemorrágica Argentina, en la provincia de Córdoba. La cepa, cedida gentilmente por la Dra. M. Sabattini, fue recibida como semilla en su 5to pasaje por cerebro de ratón albino. El stock de uso se obtuvo realizando un nuevo pasaje (6to) en ratones albinos de 24-48 horas de edad, inoculados con 0.02 ml de la dilución 10^{-3} de la semilla, por vía intracerebral. A los 9 días postinfección (pi), los animales infectados fueron sacrificados; se extrajeron los cerebros de modo aséptico y se maceraron al 10% (P/V) en solución salina balanceada de Hanks suplementada con 5% de suero de ternera inactivado más 1% de antibióticos (Hanks+ST). El macerado se centrifugó a 10.000 rpm durante 60 min a 4°C y la fracción sobrenadante se fraccionó y conservó a -70°C. El stock de uso presentó un título, en células Vero, de $5 \times 10^{7.3}$ $DICT_{50}$/ml.

- TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción del seno retroorbital, con pipeta pasteur estéril, en animales previamente anestesiados con éter, y se diluye-

ron 1:6 en Hanks + ST. Las muestras de orina se obtuvieron por la micción espontánea de los animales al ser manipuleados, se recogieron con pipeta pasteur estéril y se diluyeron 1:6 en Hanks + ST. El hisopado oral se realizó con un pequeño hisopo de algodón estéril frotado en ambos carrillos y en el piso de la boca del animal y se agitó inmediatamente en 0.5 ml de Hanks + ST frío. Generalmente, las muestras de sangre, orina e hisopado oral obtenidas del modo indicado, fueron utilizadas inmediatamente después de extraídas para los ensayos virológicos.

Las muestras de órganos se extrajeron de modo aséptico, luego de sacrificados los animales por dislocación cervical y se conservaron a -70°C hasta su uso. Para la obtención de muestras en el período de gestación, las hembras gestantes fueron disecadas ventralmente, luego de sacrificadas por dislocación cervical, y los cuernos uterinos expuestos intactos. El líquido amniótico se recogió por punción de la cavidad amniótica con jeringas de 0.25 ml, antes de proceder a la ruptura de la pared uterina; normalmente, se logró extraer volúmenes de 0.05 a 0.10 ml. Luego de extraído el líquido amniótico se conservaron las placentas y fetos individualmente a -70°C, hasta su uso.

- ENSAYOS VIROLOGICOS

- Aislamiento viral en ratón lactante: se empleó con las muestras de sangre, orina e hisopado oral. Las muestras se inocularon por vía intracerebral (0.02 ml/animal) en camadas de ratones lactantes (cepa Rockland) de 48-72 horas de edad. El resultado se consideró positivo cuando los animales murieron entre los 10 y 18 días pi con signos neurológicos típicos (Boxaca et al., 1973).

- Titulación en cultivo de células por acción citopatogénica (ACP): los órganos conservados a -70°C se maceraron al 10% (P/V) en medio esencial y mínimo de Eagle (MEM) suplementado con 3% de suero de ternera inactivado y 1% de antibióticos y se centrifugaron durante 60 min a 10.000 rpm a 4°C. La fracción sobrenadante se diluyó al décimo, en serie, y se cultivaron 0.2 ml de cada dilución por cuadruplicado en monocapas confluentes de células Vero. Luego de una incubación a 37°C durante 60 min, se completó con MEM hasta un volumen final de 1 ml. El medio de cultivo se cambió dos veces por semana y las células se observaron durante un período de 11 días para detectar el desarrollo de ACP. El título se determinó por el método de Reed y Muench y se expresó en $DICT_{50}$/ml de macerado (valor límite de detección: 1,2 $\log_{10}$ $DICT_{50}$/ml).

- Titulación en cultivo de células por unidades formadoras de placas (UFP): este método se empleó para líquido amniótico, placenta y embriones. Estos materiales se procesaron como en el caso anterior. De las fracciones sobrenadantes, diluídas al décimo en serie, se sembraron alícuotas de 0.1 ml sobre monocapas confluentes de células Vero, crecidas en botellas de 25ml por duplicado. Luego de 60 min de adsorción a 37°C, las monocapas se cubrieron con 5 ml de una mezcla 1:1 de agarosa al 1% y MEM 2x con 4% de suero de ternera inactivado y antibióticos. Las botellas se incubaron invertidas, a 37°C, durante 6 días. Al 6to día se añadieron 3 ml de la mezcla 1:1 (agarosa:MEM) suplementada con solución de rojo neutro al 4%. Al día 7mo se leyeron las placas. El título se calculó como:

$$\frac{\text{número promedio de UFP}}{\text{dilución x volumen del inóculo}}$$

utilizándose la dilución que contenía entre 50 y 100 placas, y se expresó como UFP/ml (valor límite: negativo $\leq$ 5 UFP/ml).

- INMUNOFLUORESCENCIA

De los animales sacrificados a los 480 días pi

(ver Procedimiento Experimental) se obtuvieron improntas de cerebro, bazo y riñón y se fijaron en acetona fría durante 10 min. Para detectar antígeno viral, las improntas se incubaron con suero hiperinmune anti-VJ de rata durante 30 min, se lavaron con solución de buffer fosfato (PBS) (15 min), se incubaron otros 30 min con antiinmunoglobulinas (anti-Ig) totales de ratón marcadas con fluoresceína y, finalmente, se lavaron nuevamente en PBS. Para cada impronta ensayada se realizó un control incubado con suero normal de rata en lugar del suero inmune. Todas las incubaciones se llevaron a cabo en cámara húmeda a temperatura ambiente. La lectura se realizó con epimicroscopio de fluorescencia con lámpara HBO 50.

- SEROLOGIA

La presencia de anticuerpos séricos se determinó por inmunofluorescencia indirecta, empleando spots de células BHK/21 persistentemente infectadas con VJ (Carballal et al., 1980). Los sueros prueba, diluídos desde 1:2 a 1:16, se incubaron sobre los spots durante 30 min. Luego de lavados en PBS (15 min) se incubaron durante 30 min con anti-Ig totales de ratón marcadas con

fluoresceína. Finalmente, se lavaron nuevamente en PBS y se leyeron en epimicroscopio de fluorescencia con lámpara HBO 50. Todas las incubaciones se realizaron a temperatura ambiente en cámara húmeda. En cada prueba realizada se incluyó como control negativo un suero de C. *musculinus* libre de infección y como control positivo un suero inmune de ratón.

- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

a)- INFECCION NEONATAL

El diseño experimental utilizado se presenta en la Figura 4. Un total de 85 C. *musculinus* se infectó entre las 24 y 48 horas de nacidos por instilación nasal de 0.01 ml de stock viral que contenían 100 $DICT_{50}$ de la cepa Cba An 9446 del VJ. Los animales se revisaron a diario registrándose signos de enfermedad y muerte. El grupo control se instiló por vía nasal con 0.01 ml de un homogeneizado al 10% de cerebro de ratón albino libre de VJ, preparado de igual modo que el stock viral, y se controló del mismo modo que el grupo experimental. El desarrollo postnatal se siguió a través de la apertura de párpados, erupción de incisivos, desa-

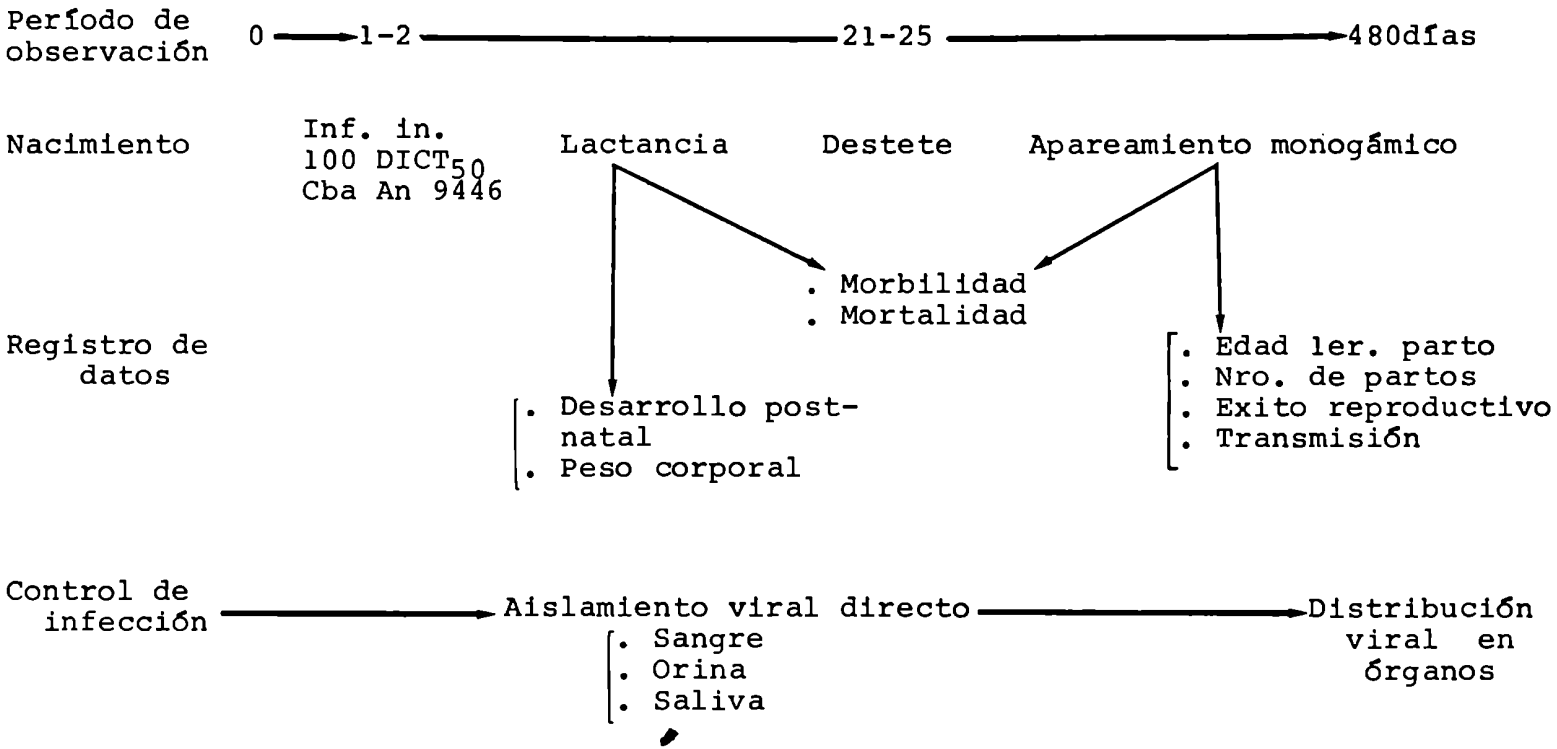

Figura 4.--Esquema experimental utilizado para analizar el desarrollo de la infección neonatal en *Calomys musculinus*.

b)- INFECCION EN ADULTOS

El estudio de la infección con VJ en C. *musculinus* adultos se realizó mediante el esquema presentado en la Figura 5, empleándose animales de 90 a 120 días de edad machos y hembras. Un total de 95 animales se infectó por instilación nasal con 100 $DICT_{50}$ de la cepa Cba An 9446. Diariamente se revisaron los animales para registrar morbilidad y mortalidad, y se pesaron semanalmente, durante un período de observación de 150 días pi. A los 15, 21, 30, 40, 90 y 150 días pi se tomaron muestras de orina, sangre, hisopado oral, órganos y suero para ensayos virológicos y serológicos.

La dinámica reproductiva de los animales infectados se analizó a través de apareamientos poligámicos. Para esto, grupos de 4-6 hembras infectadas se aparearon con un macho no infectado. Las hembras que se detectaban preñadas se separaban en cajas individuales hasta el momento del parto, o bien se sacrificaban a los 15-18 días de preñez para estudios de transmisión vertical antenatal. Los apareamientos se mantuvieron durante 30 días luego de establecidos, momento en que se retiraron los machos; las hembras restantes se obser-

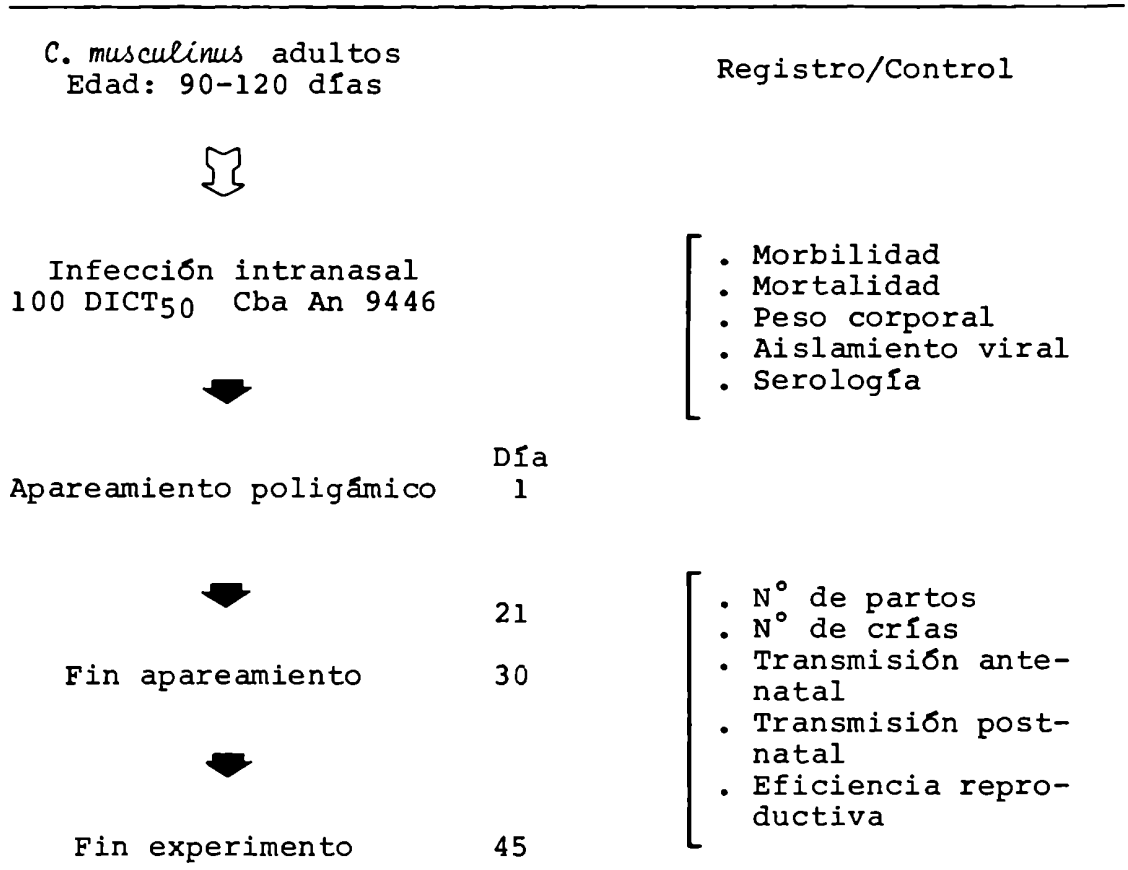

Figura 5.--Esquema experimental empleado para analizar el el desarrollo de la infección con virus Junín en *Calomys musculinus* adultos.

varon durante los 15 días posteriores al momento de retirados los machos. Finalizado este período (45 días luego de iniciados los apareamientos) las hembras que no resultaron preñadas se sacrificaron para estudios virológicos. Mediante este esquema se analizó la distribución de frecuencias de partos y el número de progenie obtenida en animales infectados y no infectados, y se calculó el éxito reproductivo y la capacidad reproductiva relativa como se indicara anteriormente.

La transmisión vertical de la infección se estudió a través del esquema de apareamientos poligámicos. La transmisión antenatal materna se estimó a través de la infección en embriones, líquido amniótico y placenta, en las hembras infectadas sacrificadas entre los 15 y 19 días de gestación. La transmisión postnatal se estimó analizando la infección en crías, sacrificadas al momento del destete, nacidas de hembras infectadas, aisladas individualmente antes del parto. Para estimar la transmisión vertical postnatal paterna, se utilizaron apareamientos monogámicos entre hembras no infectadas y machos persistentemente infectados. De los apareamientos exitosos, se sacrificaron al destete las crías mantenidas durante la lactancia con ambos progenitores y se realizaron estudios virológicos.

c)- TRANSMISION HORIZONTAL

La transmisión horizontal experimental, por contacto directo entre animales infectados y susceptibles, se analizó en dos períodos: lactancia y postdestete.

La transmisión horizontal durante la lactancia se investigó infectando parte de las camadas nacidas de hembras no infectadas, con 100 $DICT_{50}$ de la cepa Cba An 9446 a las 24-48 horas de edad por vía intranasal. Las crías infectadas y no infectadas se mantuvieron juntas durante todo el período de lactancia al final del cual se sacrificaron todas para ensayos virológicos.

La transmisión horizontal postdestete se realizó manteniendo animales persistentemente infectados con animales susceptibles durante tiempos de contacto variables. La relación de animales infectados a susceptibles fue en todos los casos de 1:4-5, respectivamente. Para tiempos variables que cubrieron un período total de contacto de 180 días, se sacrificaron animales para verificar la infección horizontal a través del ensayo de aislamiento viral en sangre y cerebro y anticuerpos en suero.

La tasa de transmisión horizontal para distintos tiempos de contacto se estimó como la razón entre el número de animales infectados y el número de animales estu-

diados. En los casos en que fue necesario se deslindó la tasa de transmisión conducente a persistencia viral o seroconversión sin persistencia.

- ESTADISTICA

Los datos de peso corporal se evaluaron estadísticamente mediante el test "t" de Student. Se consideraron diferencias significativas para valores de $P < 0.05$

- CUANTIFICACION DE LA TRANSMISION VERTICAL

La tasa de prevalencia de infección con VJ por transmisión vertical, en ausencia de transmisión horizontal, se evaluó, para *C. musculinus* infectados al nacimiento o de adultos, a través del modelo matemático de Fine (1975) (ver Apéndice I). Este modelo permite cuantificar la prevalencia de infección a través de generaciones sucesivas del huésped considerando como único mecanismo operante a la transmisión vertical. Para esto se consideran los siguientes parámetros:

v: tasa de transmisión vertical paterna; cantidad de progenie nacida infectada de apareamientos entre hembras no infectadas y machos infectados.

d: tasa de transmisión vertical materna;cantidad de pro-

genie nacida infectada de apareamientos entre hembras infectadas y machos no infectados.

β: tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección; estimada para todo t como:

$$\beta = \ell_x^+ / \ell_x^- \qquad \text{(Fine y Sylvester, 1978)}$$

donde, ℓ_x representa la probabilidad de sobrevida hasta la edad t, obtenida del registro diario de mortalidad de los animales infectados y no infectados; los índices (+) y (-) se refieren a animales infectados y no infectados, respectivamente.

α: fertilidad relativa dependiente de la infección; obtenida como:

$$\alpha = \frac{\Sigma(\ell_x^+ / \ell_m^+)\ \delta_x^+}{\Sigma(\ell_x^- / \ell_m^-)\cdot \delta_x^-} \qquad \text{(Fine y Sylvester, 1978)}$$

donde, m representa la edad en que se alcanza la madurez sexual (por tanto, ℓ_m = probabilidad de sobrevida hasta la edad reproductiva); los cocientes ℓ_x/ℓ_m cuantifican la mortalidad posterior a haber alcanzado la madurez sexual y δ_x se estima experimentalmente como éxito reproductivo (ER) (x = edad en días).

Para un determinado conjunto de valores de v, d, β y α, y considerando una tasa de prevalencia de infección en la generación parental, B_a (=proporción de individuos in-

fectados), la tasa de prevalencia de infección en la generación filial (B'_a) como consecuencia de la transmisión vertical, se obtiene a través de la "ecuación fundamental de la transmisión vertical" (la derivación de la ecuación puede verse en el Apéndice I):

$$B'_a = \frac{\beta\{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha)+B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\}}{\beta\{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha)+B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\}+ +(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha v)}$$

Manteniendo constantes los valores de v, d, α y β el valor de B'_a puede ser utilizado como tasa de infección parental para hallar la tasa de prevalencia de infección en la generación siguiente. Empleando sucesivamente los valores hallados, como tasas de prevalencia de infección parental, pueden obtenerse las tasas para n generaciones subsecuentes y medir la capacidad de la transmisión vertical para sostener la infección a través del tiempo, en ausencia de transmisión horizontal.

Otros detalles del desarrollo matemático se presentan en el capítulo IV de la sección Resultados y en el Apéndice I.

- CUANTIFICACION DE LA TRANSMISION HORIZONTAL

Mediante el modelo matemático de Fine (1975), la transmisión horizontal puede estimarse como la diferen-

cia entre las tasas de prevalencia de infección por transmisión vertical, entre dos generaciones sucesivas. Es decir, partiendo de una tasa de prevalencia de infección parental (B_a) obtenemos, a través de la ecuación fundamental, la tasa de prevalencia de infección en la siguiente generación (B'_a); la diferencia entre ambas, $B_a - B'_a$, mide el déficit de prevalencia de infección que deberá cubrir la transmisión horizontal para mantener una tasa de infección estabilizada a través de generaciones consecutivas. La tasa neta de incidencia de la transmisión horizontal (H*) puede estimarse como:

$$H^* = B_a - B'_a / 1 - B'_a$$

donde el denominador indica la proporción de animales susceptibles.

El desarrollo matemático empleado para cuantificar la transmisión horizontal y su interrelación con la transmisión vertical, de acuerdo a las características del sistema de estudio, se presenta en el capítulo V de la sección Resultados.

RESULTADO

I. INFECCION NEONATAL CON VIRUS JUNIN EN CALOMYS MUSCULINUS.

Un total de 85 C. *musculinus* se infectó entre las 24 y 48 horas de nacidos por instilación nasal de 0.01 ml de stock viral que contenían 100 $DICT_{50}$ de la cepa Cba An 9446 del virus Junín. Sobre este grupo experimental se analizó el desarrollo de la infección y su efecto sobre el crecimiento y la reproducción del huésped, durante un período de 480 días, de acuerdo al diseño experimental 1 (ver Materiales y Métodos, Procedimiento Experimental, Infección perinatal).

- MORBILIDAD Y MORTALIDAD

Durante el período de observación no se registraron signos de enfermedad en los animales infectados, con la excepción de una disminución en el peso corporal que se discutirá luego. La infección con la cepa Cba An 9446 no provocó alteraciones neurológicas evidentes como ocurre en los casos de infección con cepas atenuadas de origen humano (Lampuri et al., 1982).

No obstante la ausencia de un período de morbilidad, entre los 13 y 40 días postinfección (pi.), se registró una mortali-

dad acumulada que alcanzó al 67% (57/85) de los animales infectados (Fig. 6).

Durante el período de lactancia (21 días) no se observaron discrepancias entre las tasas de mortalidad de los grupos infectado y no infectado, a los que correspondieron valores del 15% y 17%, respectivamente. Luego del destete, la mortalidad del grupo infectado aumentó aceleradamente con una tasa diaria del 2.7%, duplicando a los 40 días pi. los valores registrados en el grupo control (Fig. 6). A partir del día 40 pi, ambos grupos mostraron tasas semejantes de mortalidad diaria: 0.05% en infectados y 0.07% en no infectados.

La mortalidad del grupo infectado (M^+) puede expresarse como:

$$M^+ = M^- + a$$

donde, M^- representa la mortalidad de los animales libres de infección (mortalidad natural) y a indica la mortalidad causada por la infección o tasa de mortalidad dependiente de la infección que puede expresarse para cualquier tiempo t_i como:

$$a_i = M_i^+ - M_i^-$$

Si bien la mortalidad del grupo infectado es superior al control para todo $t_i > 24$ días pi (Fig. 6), un análisis más detallado permite observar que la mortalidad dependiente de la infección se restringe a un período particular y acotado.

Las curvas ilustradas en la Figura 7 representan los per-

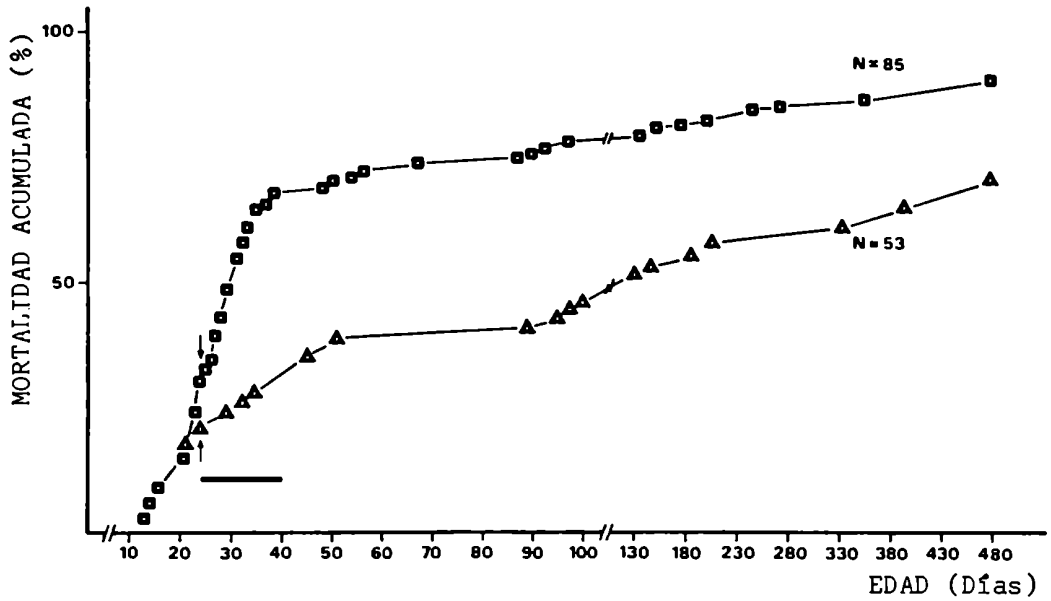

Figura 6.--Curvas de mortalidad en C. *musculinus* mantenidos en condiciones de laboratorio. (■——■): animales infectados al nacimiento con 100 $DICT_{50}$ de la cepa Cba An 9446 del virus Junín; (▲——▲): animales no infectados. Las flechas marcan el inicio del período de mortalidad selectiva del grupo infectado y la barra horizontal indica su extensión.

files generalizados de mortalidad acumulada en ambos grupos. La comparación de éstos permite diferenciar tres períodos característicos:

- período I (<24 días pi) en el que los dos grupos muestran un incremento lineal de la mortalidad semejante, de tal modo que:

$$M_I^+ \simeq M_I^- \qquad y \qquad a_I \to 0$$

- período II (24-40 días pi)donde la mortalidad del grupo infectado aumenta exponencialmente en tanto que el grupo control mantiene un incremento lineal, aunque de mayor magnitud que el observado en el período anterior; así:

$$M_{II}^+ > M_{II}^- \qquad y \qquad a_{II} > 0$$

- período III (>40 días pi), nuevamente en ambos casos el aumento de la mortalidad es de tipo lineal y de magnitud semejante:

$$M_{III}^+ \simeq M_{III}^- \quad y \qquad a_{III} \to 0$$

De este modo, la mortalidad dependiente de la infección queda restringida al período 24-40 días pi, para el cual:

$$a_{II} = \Delta M_{24,40}^+ - \Delta M_{24,40}^-$$

$$a_{II} = 0.5176 - 0.1511 = 0.3665$$

Si bien la mortalidad neta de los animales infectados es del 67% a los 40 días pi, sólo el 37% es causado por la infección y se manifiesta, principalmente, luego de la lac-

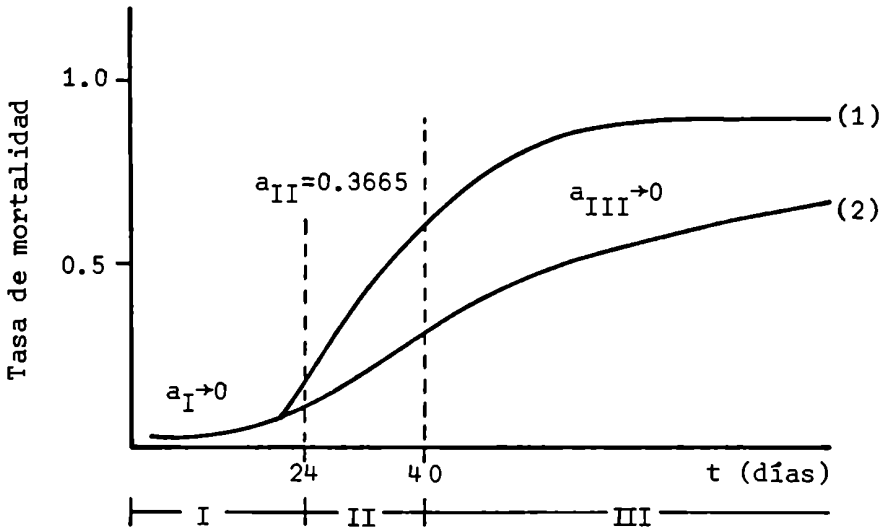

Figura 7.--Perfil generalizado de las tasas de mortalidad acumulada en *C. musculinus* (1) infectados al nacimiento con virus Junín, (2) libres de infección, mantenidos en condiciones experimentales de cría. Se diferencian tres períodos: I: <24 días, II: 24-40 días, III: >40 días. a_i: tasa de mortalidad dependiente de la infección.

tancia y antes de que los animales alcancen la madurez sexual (50 días). Fuera de este período, la infección no provoca una mortalidad diferencial respecto de la mortalidad natural, para las condiciones de cría empleadas.

- CRECIMIENTO Y DESARROLLO POSTNATAL

El crecimiento de los animales infectados, medido a través de la ganancia de peso corporal, se mostró fuertemente alterado especialmente durante la lactancia. En la Figura 8 se presenta la distribución de frecuencias de peso corporal para intervalos de tres días durante la lactancia. A partir de los 4-7 días la distribución de pesos en los animales infectados se observó desplazada hacia valores menores que en el grupo control, tanto en hembras como en machos. No obstante, para este intervalo las medias de peso corporal no arrojaron diferencias significativas ($p<0.1$). En los siguientes intervalos, las diferencias de peso promedio se hicieron altamente significativas tanto en machos como en hembras ($p<0.005$), manteniéndose durante toda la lactancia. A su vez, los animales infectados presentaron diferencias significativas ($p<0.025$) en los valores medios de peso corporal entre sexos, encontrándose un ma-

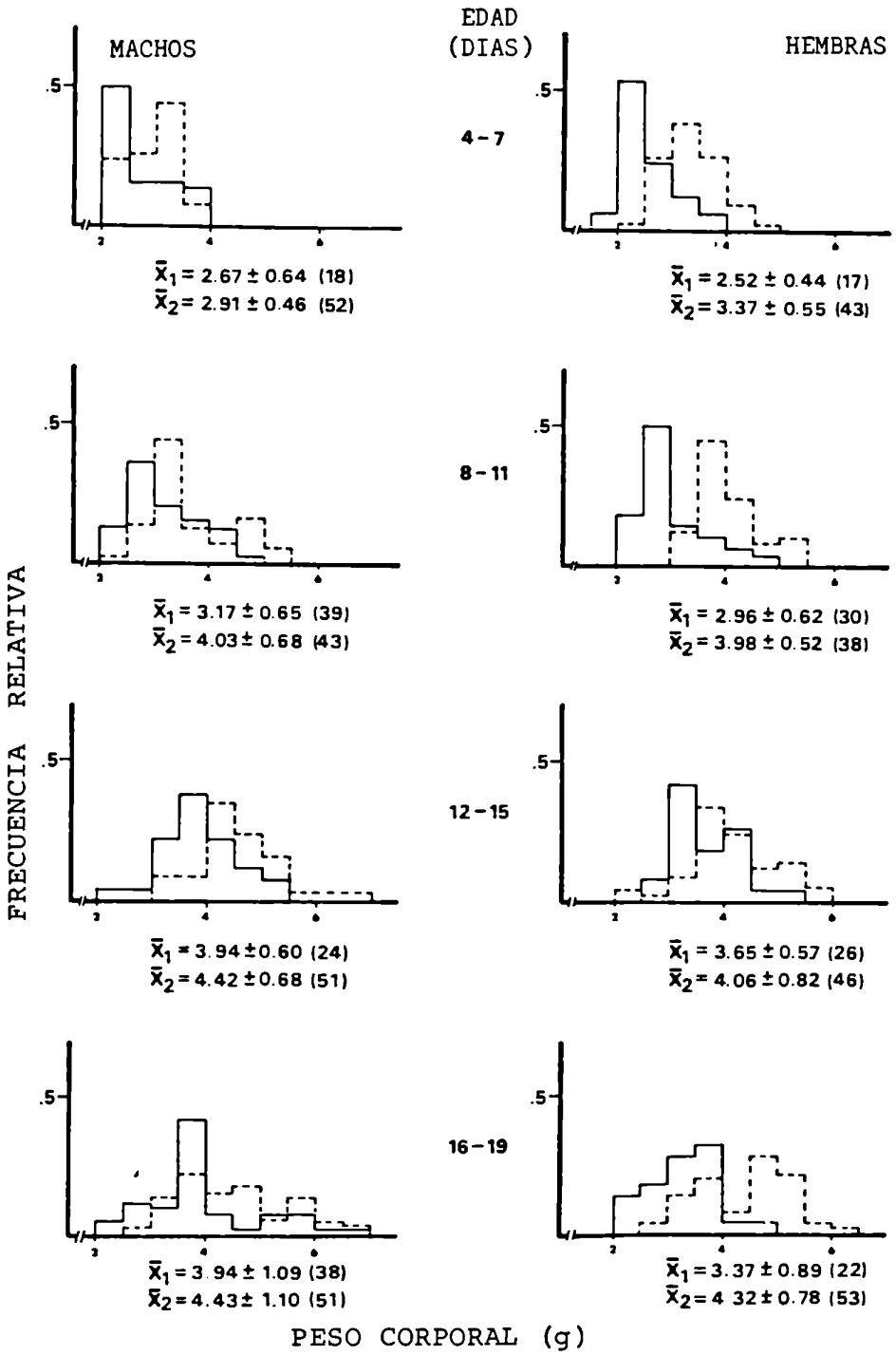

Figura 8.--Distribución de frecuencias de peso corporal en intervalos de 4 días durante la lactancia en *C. musculinus* infectados al nacimiento con 100 $DICT_{50}$ de virus Junín, cepa Cba An 9446. Barras completas: grupo infectado, barras punteadas: grupo no infectado. x: media de peso corporal y error estándar. Los números entre paréntesis indican el tamaño muestral; los subíndices 1 y 2 se refieren a animales infectados y no infectados, respectivamente.

yor retraso en el crecimiento corporal de las hembras. Sin embargo, tales diferencias no incidieron en una mayor mortalidad de las hembras dado que la proporción de sexos no se alteró al final del período de mortalidad dependiente de la infección.

Luego del destete, y hasta los 60 días pi, el peso corporal se mantuvo significativamente inferior en el grupo infectado (Fig. 9). A partir de los 60 días no se observaron diferencias respecto del control, no como consecuencia de una recuperación de peso en el grupo infectado, sino porque a esta edad los animales más afectados en su crecimiento habían muerto.

El desarrollo postnatal seguido a través de la apertura de párpados, desarrollo de manto y erupción de incisivos no mostró alteraciones dependientes de la infección (Tabla 7).

- PERSISTENCIA VIRAL

A partir de los 14 días pi y hasta los 480 días pi, se logró aislar virus infectivo en todos los animales estudiados en cada punto (Tabla 8). A los 7 días pi no se detectó virus en saliva y orina, e incluso a los 14 días pi, el aislamiento viral en orina fue escaso.

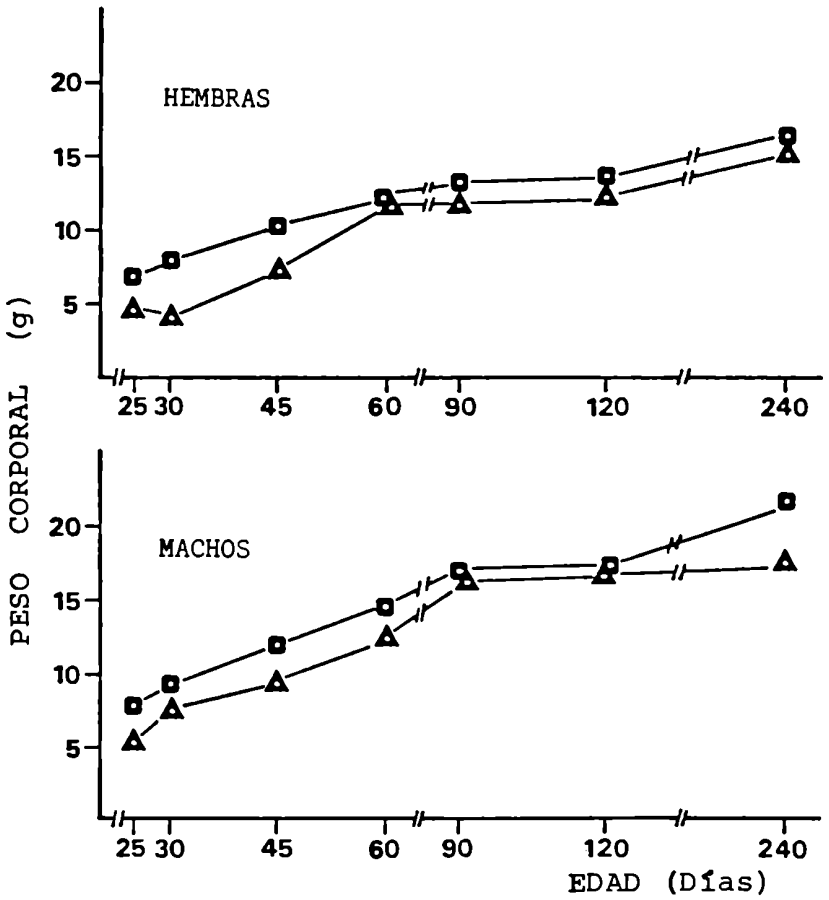

Figura 9.--Curvas de peso corporal en *C. musculinus* luego del destete. (▲——▲) animales infectados al nacimiento con 100 $DICT_{50}$ de virus Junín cepa Cba An 9446; (■——■) grupo control.

TABLA 7

Parámetros de desarrollo postnatal en C. *musculinus* infectados al nacimiento con 100 $DICT_{50}$ del virus Junín, cepa Cba An 9446.

Parámetro	infectados media	(rango)*	N	no infectados media	(rango)	N
Manto completo	7.5	(7-8)	20	7.4	(7-8)	15
Apertura de párpados	7.6	(6-9)	78	7.7	(6-9)	58
Erupción de incisivos	5.9	(5-9)	53	6.0	(5-8)	36

* Valor medio y rango en días

Durante el período de mortalidad selectiva de los animales infectados (24-40 días pi) se tomaron muestras post-mortem (N=8), sobre las que fue posible, en todos los casos, aislar virus en cultivo de tejidos con títulos entre $10^{2.7}$ y $10^{5.6}$ $DICT_{50}$/ml.

Al final del período de observación se sacrificaron los animales sobrevivientes (N=8). La detección de antígenos del VJ por inmunofluorescencia indirecta resultó positiva en cerebro, bazo y riñón. Los resultados del aislamiento viral directo sobre cultivos celulares se presentan en la Tabla 9.

La persistencia viral en tejidos y secreciones fue suficientemente prolongada como para superar la expectativa de vida de estos animales en la naturaleza. En ningún caso el aislamiento viral resultó negativo para los animales estudiados al azar en los distintos tiempos pi.

- CAPACIDAD REPRODUCTIVA DEPENDIENTE DE LA INFECCION

Sobre un total de 33 apareamientos monogámicos, establecidos al destete, entre animales infectados y no infectados, el 50% fue dado de baja antes de que los animales alcanzaran la madurez sexual, por la muerte de uno o ambos

TABLA 8

Aislamiento viral en orina, saliva y sangre a diferentes días postinfección (dpi) en *C. musculinus* infectados al nacimiento con 100 $DICT_{50}$ del virus Junín, cepa Cba An 9446.

dpi	muestras positivas/total			tamaño * muestral (%)
	orina	saliva	sangre	
7	0/10	0/10	NR¶	11.76
14	1/6	10/10	NR	12.19
35	NR	12/12	12/12	40.00
45	10/10	10/10	10/10	35.71
60	7/8	17/17	17/17	73.91
90	15/15	15/15	15/15	75.00
150	NR	NR	11/11	68.75
480	8/8	8/8	8/8	100.00

* Tamaño muestral(%): % de animales tomados al azar entre los sobrevientes, para ensayos virales, para cada dpi.

¶ NR: no realizado

TABLA 9

Aislamiento viral en C. *musculinus* infectados al nacimiento con virus Junín, cepa Cba An 9446, determinado a los 480 días postinfección.

Animal N°	log $DICT_{50}$/ml				Ac* séricos
	cerebro	bazo	riñón	gl. sal.	
1	3.4	3.2	2.9	2.7	1/8
2	NR¶	3.4	2.4	2.4	1/8
3	3.9	3.9	2.4	NR	1/2
4	3.0	3.4	3.1	NR	1/4
5	3.7	3.0	3.0	3.4	1/8
6	3.4	3.0	3.4	3.4	1/4
7	3.4	3.0	3.1	2.9	1/8
8	2.7	3.7	2.9	2.7	1/8

* Anticuerpos séricos determinados por inmunofluorescencia indirecta y expresados como la menor dilución positiva.
¶ NR: no realizado

componentes (Tabla 10). Sólamente 15 apareamientos lograron mantenerse por más de 4 meses, de los cuales 2 tuvieron su primera camada a los 90 días de edad, sin mostrar preñez por celo postparto.

El éxito reproductivo (ER) se estimó como la razón entre el número de apareamientos que tuvieron por lo menos una camada y el número total de apareamientos realizados, sin considerar aquéllos que se dieron de baja antes de alcanzar la madurez sexual. Los animales infectados mostraron un ER^+ de 13.34%, en tanto que en el grupo control se registró un ER^- del 60% (Tabla 10).

La capacidad reproductiva relativa (CRR) de los animales infectados puede medirse como:

CRR = Pariciones observadas/Pariciones esperadas

$CRR = ER^+/ER^-$

de este modo, la capacidad reproductiva dependiente de la infección queda expresada contemplando la falla reproductiva inherente a la especie en las condiciones de cría empleadas.

Los animales infectados mostraron un CRR = 0.1334/0.60= 0.2223. Este valor manifiesta una reducción del orden del 80% en la capacidad de producir descendencia, como consecuencia de la infección. Un valor semejante se obtiene al estimar la tasa de fertilidad relativa (α) de los animales infectados, que contempla conjuntamente con el éxito reproduc-

TABLA 10

Exito reproductivo en *Calomys musculinus* infectados al nacimiento con virus Junín y apareados al destete con animales infectados (I) o no infectados (NI).

♂ x ♀	N° apareamientos		ER¶ (%)
	total	>4*	
I x I	5	3	0.00
I x NI	19	8	12.50
NI x I	9	4	25.00
total	33	15	13.34
NI x NI	12	10	60.00

* Apareamientos mantenidos por más de 4 meses
¶ ER = éxito reproductivo obtenido como: N°apareamientos exitosos/total x 100

tivo, la mortalidad posterior a alcanzar la madurez sexual (ver Resultados, cap. IV).

Por otra parte, de los apareamientos exitosos entre animales infectados, se obtuvieron 5 crías a la primera parición; si se tiene en cuenta que la media de camada a la primera parición es de 5 crías en *C. musculinus* no infectados (Merani et al., 1988), el número de crías esperadas (D) resulta ser:

D = media de camada x N° de pariciones esperadas (P_e)

donde, P_e representa el número de pariciones que se espera obtener si CRR = 1; es decir, si la infección no altera la capacidad de reproducción de la especie, y puede obtenerse como:

P_e = N° apareamientos realizados x ER^-

Para los 15 apareamientos realizados entre animales infectados P_e = 9, de tal modo que la descendencia esperada es D = 5 x 9 = 45 crías. El número de crías obtenidas (5) representa tan sólo el 11.12% del valor esperado, indicando que la persistencia viral no sólo altera cualitativamente la capacidad de dejar descendencia, sino también la cantidad de descendencia.

II. INFECCION CON VIRUS JUNIN EN CALOMYS MUSCULINUS ADULTOS

A diferencia de lo encontrado en los animales lactantes, la infección con virus Junín en *C. musculinus* adultos mostró una respuesta distinta en cuanto a persistencia viral y efectos de ésta sobre la reproducción y sobrevida del huésped.

- DESARROLLO DE LA INFECCION: PERSISTENCIA Y SEROCONVERSION

Los animales infectados de adultos (90-120 días de edad) por vía intranasal con VJ, cepa Cba An 9446, no presentaron signos de enfermedad en ningún momento, a lo largo de un período de observación de 150 días. La mortalidad de estos animales acumuló al final de tal período un valor del 15.55% (N=45) que no difirió del valor encontrado en el grupo control durante el mismo período (15.78%; N=38). El peso corporal tampoco registró alteraciones, manteniéndose en un valor promedio de 22.05 ± 2.25 g semejante al del control, 23.50 ± 4.34 g.

Entre los 15 y 150 días pi se siguió el desarrollo de la infección analizando la presencia de virus en sangre y cerebro, anticuerpos en suero y la eliminación de virus a tra-

TABLA 11

Aislamiento viral en C. *musculinus* adultos infectados por vía nasal con virus Junín (Cba An 9446)

	muestras positivas/total			
dpi*	saliva	orina	sangre	cerebro
15	4/5	NR¶	4/5	4/5
21	5/9	3/9	5/9	4/9
30/40	6/11	4/11	6/11	6/11
90	6/12	NR	6/12	6/12
150	6/13	2/13	7/13	7/13

¶ NR: no realizado
* dpi: días postinfección

TABLA 12

Desarrollo de persistencia viral y seroconversión en *C. musculinus* adultos infectados con virus Junín.

dpi*	muestras positivas/total			%S§	%P†
	virus¶	Ac	virus+Ac		
15	4/5	1/5	0/5	20.00	80.00
21	5/9	4/9	0/9	44.45	55.54
30/40	6/11	5/11	0/11	45.45	54.55
90	5/12	6/12	1/12	50.00	50.00
150	5/13	6/13	2/13	46.15	53.84

* dpi: días postinfección
¶ Datos tomados de TABLA 11
§ %S: porcentaje de animales con anticuerpos séricos
† %P: porcentaje de animales persistentes, incluye a los individuos con virus+anticuerpos (virus+Ac)

vés de orina y saliva (Tablas 11 y 12).

Contrariamente a lo observado en la infección neonatal, sólamente un 50% de los animales desarrollaron una infección persistente (Tabla 12). Se observó una neta separación en la respuesta a la infección que condujo a la seroconversión o a la persistencia de modo mutuamente excluyente. No obstante, a los 90 y 150 días pi algunos animales persistentes desarrollaron también anticuerpos séricos (Tabla 12). Este tipo de respuesta no fue detectada antes de los 90 días pi.

La tasa de adquisición de inmunidad (r) se estimó como 0.5 de acuerdo al porcentaje de seroconversión en función del tiempo (Tabla 12). El porcentaje de seroconversión se obtuvo excluyendo los animales que mostraron persistencia viral y anticuerpos, de modo tal que r exprese específicamente la tasa de recuperación de la infección (Anderson y May, 1979).

- EFECTOS SOBRE LA REPRODUCCION Y GESTACION

No se hallaron alteraciones en el comportamiento reproductivo dependientes de la infección. La distribución de frecuencias de partos en apareamientos poligámicos no se

TABLA 13

Distribución de partos y número de crías en hembras adultas de *C. musculinus*, infectadas con virus Junín y apareadas poligámicamente con machos no infectados.

Grupo	dpa*	24	25	26	27	28	29	30	31	32	total	(ER)¶
No infectado	N° partos	1	1	1	4	-	1	1	1	-	10/20	(50.0%)
	N° crías	6	6	7	18	-	7	5	7	-	56	($\bar{x}$=5.6)§
Infectado	N° partos	1	-	2	3	2	1	1	-	1	11/26	(42.31%)
	N° crías	6	-	12	15	11	5	6	-	4	59	($\bar{x}$=5.4)

* dpa: días postapareamiento
¶ ER: éxito reproductivo = N° de partos/total de hembras apareadas x 100
§ $\bar{x}$: número promedio de crías por hembra preñada

modificó a consecuencia de la infección y la cantidad de progenie obtenida no varió entre los grupos infectado y no infectado, registrando un valor medio de 5 crías por parto (Tabla 13).

El éxito reproductivo resultó de igual magnitud para animales infectados (ER^+=0.4615) y no infectados (ER^- = 0.50) (Tabla 13). De este modo, la capacidad reproductiva dependiente de la infección mostró un valor cercano a la unidad:

$$CRR = ER^+/ER^- = 0.4615/0.50 = 0.9230$$

que indica la ausencia de reducción en la fertilidad de los animales infectados de adultos.

Algunas de las hembras infectadas se sacrificaron entre los 15 y 19 días de gestación. En ningún caso se observaron evidencias de alteraciones en el tamaño o desarrollo de los fetos. Sobre un total de 35 fetos examinados se halló un sólo aborto.

- TRANSMISION VERTICAL DE LA INFECCION

(a) Transmisión vertical antenatal

El análisis de la distribución de infección viral en embriones y anexos embrionarios obtenidos de hembras ges-

TABLA 14

Distribución de la infección con virus Junín en embriones y anexos embrionarios de hembras de *C.musculinus* gestantes infectadas

N° hembra	infección materna (viremia)	positivos/total		
		Em.	LA	PL*
1	(+)	0/6	0/4	2/6
2	(+)	0/7	0/5	4/7
3	(-)	0/5	0/3	0/5
4	(-)	0/5	0/2	0/4
5	(+)	0/5	0/4	0/5
6	(+)	0/3	0/3	0/3
7	(+)	0/3	0/3	0/2
Totales		0/34	0/24	6/32

* Em: embriones, LA: líquido amniótico, PL: placenta

tantes infectadas, sacrificadas en la etapa final de la gestación (15-19 días) arrojó resultados negativos. El aislamiento de virus en líquido amniótico (N=24) y embriones (N=34) resultó negativo en todos los casos. Sobre un total de 32 placentas estudiadas, se detectó virus en 6 casos, siendo el resto negativo. Las placentas en las que se detectó infección viral correpondieron a hembras que presentaban viremia en el momento de sacrificadas. No obstante, la presencia de virus en placenta no mostró correlación directa con la presencia de viremia materna (Tabla 14).

Estos resultados muestran la incapacidad del virus para transmitirse in utero. Si bien es factible que la infección se localice en la placenta, no logra transgredir esta barrera e infectar al embrión.

(b) Transmisión vertical postnatal.

Algunas de las hembras infectadas preñadas, fueron aisladas antes del parto y mantenidas con sus crías hasta el momento del destete (21-25 días). Las crías se sacrificaron al destete para determinar la presencia de virus en cerebro y sangre.

TABLA 15

Transmisión vertical postnatal del virus Junín en crías de *C. musculinus* destetadas de hembras infectadas.

Camada		1	2	3	4	5	total
Infección materna	viremia	+			+	+	
	antic.	NR	+	+			
N° crías destetadas		5	5	3	5	4	22
N° crías infectadas		2	0	0	3	2	7/22

Sobre un total de 22 crías se hallaron 7 infectadas al momento de destetarlas (Tabla 15). La presencia de infección en las crías se correlacionó directamente al estado de infección de las hembras durante la lactancia (Tabla 15).

La tasa de transmisión vertical postnatal materna neta (d^+) medida como la proporción de progenie nacida de hembras persistentes que recibe la infección durante la lactancia, fue: $d^+ = 7/14 = 0.5$

Esta tasa mide la capacidad de transmisión de la infección durante la lactancia sólamente para aquellas hembras que en tal período presentan persistencia viral. No obstante, la respuesta a la infección de los animales adultos no sólo conduce a la persistencia sino también a la seroconversión. En este último caso, la transmisión vertical queda impedida (Tabla 15). Para los fines de cuantificar los efectos de la transmisión vertical sobre la prevalencia de la infección a través de generaciones sucesivas (ver Resultados, cap. IV) es conveniente definir la tasa efectiva de transmisión vertical postnatal materna (d), considerando la transferencia global de la infección a la progenie de las hembras infectadas, ya sea que éstas muestren persistencia viral o seropositividad en el momento de la lactancia. Así, según los resultados presentados en la Tabla 15, $d = 7/22 = 0.3182$.

Para analizar la transmisión vertical paterna se utilizaron apareamientos monogámicos entre machos infectados y hembras no infectadas. Sobre 3 apareamientos exitosos en que los machos se hallaban persistentemente infectados, se obtuvieron 19 crías de las cuales se destetaron 15. Ninguna de las crías destetadas presentó infección. Si bien el número de animales estudiados no permite asegurar la ausencia de la transmisión vertical paterna, si consideramos la equiprobabilidad de transmisión vertical entre machos y hembras durante la lactancia, se esperaría encontrar por lo menos 4 crías infectadas entre las 15 analizadas. El número de crías infectadas esperadas se estima como:

N° crías estudiadas x d = 15 x 0.3182 = 4.7

si la probabilidad de que un macho infectado transmita la infección a su progenie es igual a la de las hembras infectadas.

Es obvio que la relación madre-crías ofrece mayores posibilidades para el pasaje de la infección durante la lactancia de las que ofrece la relación padre-cría. Aunque la transmisión vertical paterna pueda ocurrir, no es de esperar según los resultados obtenidos, que incida significativamente sobre la prevalencia de infección.

III. TRANSMISION HORIZONTAL EXPERIMENTAL

El análisis de la transmisión horizontal en condiciones experimentales de laboratorio plantea algunas restricciones propias del sistema. En primer lugar, se emplea un contacto estrecho y obligatorio entre el animal infectado y los animales susceptibles. En segundo lugar, se establece un tiempo de contacto 'a priori' y contínuo. De este modo, el sistema permite estimar la capacidad de transferencia de la infección por contacto directo y obligado, en función de la duración del contacto.

Por definición convencional (Anderson y May, 1979), la transmisión horizontal es una variable proporcionalmente directa al número de encuentros entre animales infectados y susceptibles, y a un determinado coeficiente de transmisión de la infección en tales encuentros (h). Si definimos X e Y como el número de animales susceptibles e infectados, respectivamente, la transmisión horizontal estará dada por el producto hXY (Anderson y May, 1979).

Para el sistema experimental empleado, el producto X·Y que mide la probabilidad de encuentro puede considerarse semejante a la unidad, de modo tal que al analizar la infec-

ción adquirida luego de un tiempo de contacto t entre animales infectados y susceptibles, se estimará directamente el coeficiente de transmisión h_t.

- TRANSMISION HORIZONTAL PREDESTETE

Sobre un total de 48 crías distribuídas en 9 camadas se inoculó parte de cada camada con 100 $DICT_{50}$ de la cepa Cba An 9446, por vía intranasal. El porcentaje de infección en cada camada correspondió a la tasa de infección esperada por transmisión vertical postnatal (d = 0.3182, ver Cap. II) (Tabla 16) La mortalidad registrada en todo el lote, al final de la lactancia, fue del 18.75% (9/48).

De 26 crías no infectadas experimentalmente, destetadas, sólamente se aisló virus en 2 de ellas. De este modo, h_{21} = 2/26 = 0.0769. Este valor relativamente bajo de coeficiente de transmisión horizontal durante la lactancia, manifiesta una escasa transmisibilidad del virus entre crías, a pesar del contacto estrecho que éstas mantienen durante este período. No obstante, tal resultado no es sorprendente si se considera que la eliminación de virus en orina y saliva de las crías infectadas al nacimiento no comienza hasta los 14 días pi (ver Tabla 8, Cap. I), reduciendo en un 66% el tiempo de contacto efectivo entre crías infectadas y suscepti-

TABLA 16

Distribución de *C. musculínus* infectados al nacimiento con 100 $DICT_{50}$ de virus Junín, por camadas, para medición de contagio entre crías.

Camada	I*	NI*	%I¶
1	2	4	33.34
2	1	2	33.34
3	1	2	33.34
4	2	3	40.00
5	2	5	28.57
6	2	5	28.57
7	2	4	33.34
8	2	5	28.57
9	2	2	50.00
Total	16	32	33.34

* I: infectados; NI: no infectados

¶ %I: infección porcentual por camada obtenida como: (I/I + NI) x 100

bles; es decir, sólamente durante la tercera semana de lactancia (14 a 21 días) existe la posibilidad de contagio horizontal directo entre crías.

- TRANSMISION HORIZONTAL POSTDESTETE

En la Tabla 17 se presentan los resultados de infección por contagio horizontal en animales adultos susceptibles, mantenidos durante distintos tiempos en contacto con animales persistentemente infectados. Como en el caso de los animales infectados experimentalmente, la infección provocó dos respuestas: persistencia viral prolongada o seroconversión. Los porcentajes absolutos de persistencia y seroconversión oscilan entre el 36-40% y 40-50%, respectivamente, entre los 60 y 180 días de contacto. Estos porcentajes son inferiores a los observados en la infección experimental (ver Cap. II); no obstante, para cada tiempo estudiado, aproximadamente un 25% de los animales no se infectó (Tabla 17, columna 3); si descontamos estos animales, sobre el total de animales infectados, la relación entre persistentes (25) y seropositivos (26) es de 1:1, semejante a la relación hallada en la infección experimental.

La presencia de estas dos respuestas permite diferen-

TABLA 17

Desarrollo de infección por transmisión horizontal en *C. musculinus* susceptibles mantenidos en contacto durante tiempos variables con animales persistentemente infectados.

t*	animales infectados/total				%I§
	virus positivo (%)¶		seropositivos (%)		
21	1/13	(7.7)			
35	4/11	(36.4)			
60	9/25	(36.0)	10/25	(40.0)	76.0
90	6/15	(40.0)	5/15	(33.4)	73.4
150	5/12	(41.6)	6/12	(50.0)	91.6
180	5/13	(38.5)	5/13	(38.5)	76.9
480	5/9	(55.5)	4/9	(44.4)	100.0

* t: tiempo de contacto en días

¶ Animales con viremia positiva

§ %I, porcentaje de infección, con respuesta persistente o seroconversión, obtenido como:
%I = (virus positivo + seropositivos/total) × 100

TABLA 18

Coeficientes de transmisión horizontal entre *Calomys musculinus* adultos

t*	h_t^+¶	h_t§
21	0.0769	
35	0.3636	
60	0.3600	0.7600
90	0.4000	0.7334
150	0.4167	0.9167
180	0.3846	0.7692
480	0.5556	1.0

* t: tiempo de contacto en días

¶ h_t^+: coeficiente de transmisión horizontal efectiva, con establecimiento de infección persistente

§ h_t: coeficiente de transmisión horizontal neta, con establecimiento de infección persistente o seroconversión

ciar dos coeficientes de transmisión horizontal: coeficiente de transmisión horizontal neta (h_t) y coeficiente de transmisión horizontal persistente (h_t^+) (Tabla 18). El primero, h_t, mide la transmisibilidad del virus por contagio horizontal, independientemente de la respuesta individual de los animales infectados. El segundo, h_t^+, mide únicamente la tasa de animales que desarrollan infección persistente como consecuencia del contagio horizontal y tiene valor epidemiológico dado que contempla los animales que se agregan al ciclo de transmisión, quedando capacitados para transferir la infección de modo horizontal y/o vertical.

En la Tabla 17, se ha incluído también el pasaje horizontal medido en apareamientos monogámicos entre un animal susceptible y uno infectado. En este caso, $h_t = 1$ con una relación persistencia:seroconversión también de 1:1. Este pasaje total de la infección se logra sólamente a través de un contacto muy prolongado (480 días).

IV. TRANSMISION VERTICAL: EFECTOS SOBRE LA PREVALENCIA DE INFECCION

En los capítulos precedentes se presentaron los resultados de la infección experimental con virus Junín en *C. musculinus* lactantes y adultos, y la capacidad de transmisión horizontal y vertical de la infección. En el presente capítulo se analizará la capacidad de la transmisión vertical para sostener una prevalencia de infección estable a través de generaciones sucesivas del huésped, en ausencia de transmisión horizontal. En el siguiente capítulo se analizarán conjuntamente los efectos de ambas modalidades de transmisión.

- CAPACIDAD DE TRANSMISION VERTICAL EN CALOMYS MUSCULINUS INFECTADOS AL NACIMIENTO

Los datos primarios utilizados para estudiar la capacidad de transmisión vertical del VJ, fueron tomados del registro diario de mortalidad y fertilidad de los animales

infectados y no infectados (ver Cap. I). Estos datos, para tiempos seleccionados, se resumen en la Tabla 19, organizada a modo de una tabla de vida estándar, donde: x, edad en días; ℓ_x, probabilidad de sobrevida hasta la edad x y δ_x, fertilidad. Los índices + y - se refieren a animales infectados y no infectados, respectivamente. La fertilidad δ_x equivale al éxito reproductivo (ER) calculado en el capítulo I. La edad en que se alcanza la madurez sexual (m) se consideró de 50 días, a partir de estudios previos en *C. musculinus* adaptados a condiciones de bioterio (Merani et al., 1988); por lo tanto, ℓ_m indica la probabilidad de sobrevida hasta la edad reproductiva.

Con los datos presentados en la Tabla 19 es posible estimar la tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección (β) hasta alcanzar la madurez sexual, como:

$$\beta = \ell_m^+ / \ell_m^- \qquad \text{(Fine y Sylvester, 1978)} \qquad (1)$$

Comparando las columnas (1) y (2) de la Tabla 19 se observa una marcada disparidad en la sobrevida hasta la edad reproductiva, en ausencia o presencia de infección; por lo tanto: $\beta = 0.2942/0.6067 = 0.4849$

La fertilidad relativa dependiente de la infección (α) se estima como:

$$\alpha = \frac{\Sigma(\ell_x^+ / \ell_m^+)\delta_x^+}{\Sigma(\ell_x^- / \ell_m^-)\delta_x^-} \qquad \text{(Fine y Sylvester, 1978)} \qquad (2)$$

TABLA 19

Probabilidad de sobrevida y tasa de fertilidad relativa en *Calomys musculinus* infectados al nacimiento con virus Junín*

x ¶	ℓ_x^+ §	ℓ_x^-	ℓ_x^+/ℓ_x^+	ℓ_x^-/ℓ_x^-	$\mathfrak{b}_x^+$ †	$\mathfrak{b}_x^-$
1	1.0	1.0				
13	0.9765	0.9731				
21	0.8471	0.8144				
25	0.6706	0.7765				
30	0.5059	0.7576				
35	0.3530	0.7199				
40	0.3295	0.6633				
50 ϕ	0.2942	0.6067	1.0	1.0	0.0	0.0
60	0.2706	0.6067	0.9198	1.0	0.0	0.0
90	0.2553	0.5878	0.7998	0.9688	0.1334	0.4840
150	0.1883	0.4557	0.6400	0.7511	0.1334	0.6000
180	0.1765	0.4369	0.5999	0.7201	0.0	0.0

* Datos tomados de animales infectados (N=85) y no infectados (N=53), al mismo tiempo

¶ x: edad en días // §ℓ_x: probabilidad de sobrevida hasta el día x. Los índices (+) y (-) se refieren a animales infectados y no infectados, respectivamente // †$\mathfrak{b}_x$: fertilidad, número de apareamientos que paren al menos una vez/total de apareamientos (=ER)

ϕ Edad en que se alcanza la madurez sexual

donde los cocientes ℓ_x/ℓ_m tienen en cuenta la mortalidad sólamente luego de la madurez sexual.

Reemplazando por los valores correspondientes presentados en la Tabla 19 obtenemos $\alpha = 0.2088$. Este valor es semejante a la capacidad reproductiva relativa (CRR) calculada en el capítulo I (CRR = 0.2223) que representa una estimación aproximada de α. La diferencia radica en que en la ecuación (2) los términos ℓ_x/ℓ_m agregan el efecto de la mortalidad sobre la fertilidad, que no es tenido en cuenta en el cálculo de CRR.

A partir de estos parámetros (α y β) es posible predecir la contribución cuantitativa de la transmisión vertical sobre la tasa de prevalencia de la infección, en generaciones sucesivas y en ausencia de transmisión horizontal, mediante la ecuación fundamental de la transmisión vertical (Fine, 1975):

$$B'_a = \frac{\beta\{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha)+B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\}}{\beta\{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha)+B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\}+ +(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha v)} \quad (3)$$

donde, B_a y B'_a representan las tasas de prevalencia de infección en las generaciones parental y filial, respectivamente, y d y v las tasas de transmisión vertical materna y paterna. Consideremos dos casos:

(a) la infección es transmitida al 100% de la progenie nacida de machos y hembras infectadas. Es decir, transmisión vertical biclinal total, d = v = 1. Siendo: $\alpha \neq 0$ y $\beta \neq 0$, la ecuación (3) toma la forma:

$$B'_a = \frac{\beta B_a \alpha (2-2B_a+B_a\alpha)}{\beta B_a \alpha (2-2B_a+B_a\alpha) + (1-B_a)^2} \qquad (4)$$

(b) la infección se transmite al 100% de la progenie a través de una sóla línea, materna o paterna. Es decir, transmisión vertical monoclinal total, d = 1 y v = 0 ó d = 0 y v = 1. Siendo, $\alpha \neq 0$ y $\beta \neq 0$, la ecuación (3) toma la forma:

$$B'_a = \frac{\beta B_a \alpha}{\beta B_a \alpha + 1 - B_a} \qquad (5)$$

Considerando distintos valores iniciales de tasa de prevalencia de infección en la generación parental (B_a=0.95, 0.90, 0.50 y 0.25) podemos, entonces, predecir la prevalencia de infección en generaciones sucesivas para los casos (a) y (b) a través de la iteración de las ecuaciones (4) y (5), respectivamente. Por ejemplo, partiendo de B_a=0.50 y con α = 0.2088, β = 0.4849, d = 1, v = 0, se calcula la prevalencia de infección en la primera generación filial (B'_{a_1}). Este valor B'_{a_1} servirá de tasa parental para hallar la prevalencia de infección en la segunda generación filial (B'_{a_2}), y así sucesivamente se puede estimar $B'_{a_3}, B'_{a_4} \ldots B'_{a_n}$

TABLA 20

Tasas de prevalencia de infección con virus Junín en generaciones sucesivas de *Calomys musculinus*, a partir de diferentes valores de tasa de infección en la generación parental (B_a), obtenidas a través de la "ecuación fundamental de la transmisión vertical" G: generaciones; B_{ai}: tasa de prevalencia de la infección en las generaciones filiales.

G	B_a				valores constantes de iteración
	0.95	0.90	0.50	0.25	
B_{a1}	0.9198	0.7794	0.1827	0.0652	
B_{a2}	0.8361	0.4947	0.0442	0.0140	
B_{a3}	0.6128	0.1793	0.0093	0.0028	
B_{a4}	0.2718	0.0432	0.0018	0.0005	$\alpha = 0.2088$
B_{a5}	0.0728	0.0091	0.0003	<0.0001	$\beta = 0.4849$
B_{a6}	0.0157	0.0018	<0.0001		$d = v = 1$
B_{a7}	0.0032	0.0002			
B_{a8}	0.0006	<0.0001			
B_{a9}	<0.0001				
B_{a1}	0.6579	0.4767	0.0919	0.0326	
B_{a2}	0.1629	0.0844	0.0101	0.0034	$\alpha = 0.2088$
B_{a3}	0.0193	0.0092	0.0010	0.0003	$\beta = 0.4849$
B_{a4}	0.0019	0.0009	<0.0001	<0.0001	$d = 1 / v = 0$ ó
B_{a5}	0.0002	<0.0001			$d = 0 / v = 1$
B_{a6}	<0.0001				

manteniendo α, β, d y v constantes. Las tasas de prevalencia de la infección con VJ en sucesivas generaciones de *C. musculinus* obtenidas mediante esta simulación matemática, para los casos (a) y (b), se presentan en la Tabla 20. En todos los casos, las tasas de prevalencia de la infección disminuyen abruptamente en unas pocas generaciones, aun si se parte de tasas iniciales de infección tan altas como 0.95 o 0.90 (Fig. 10). Si se considera una tasa inicial de 0.25, un valor muy próximo a los porcentajes de infección natural (Sabattini et al., 1967), la transmisión vertical por sí sóla no es suficiente para sostener la infección por más de una generación (Fig. 10). La transmisión vertical de la infección a toda la progenie nacida de animales infectados (d=v=1) resulta insuficiente para estabilizar la tasa de prevalencia de infección y superar la fuerte disminución en la fertilidad y sobrevida de los animales infectados.

Cabe considerar que en este cálculo se empleó una transmisión óptima de la infección (d=v=1). Si tomamos como tasa de transmisión vertical el valor hallado en adultos infectados (ver Cap. II), d=0.3182, y calculamos las tasas de prevalencia de infección para el conjunto de valores: B_a=0.25, α=0.2088, β=0.4849, d=0.3182 y v=0, obtenemos: B'_{a_1}=0.0101 y B'_{a_2}=0.0003. Se observa, entonces, que la

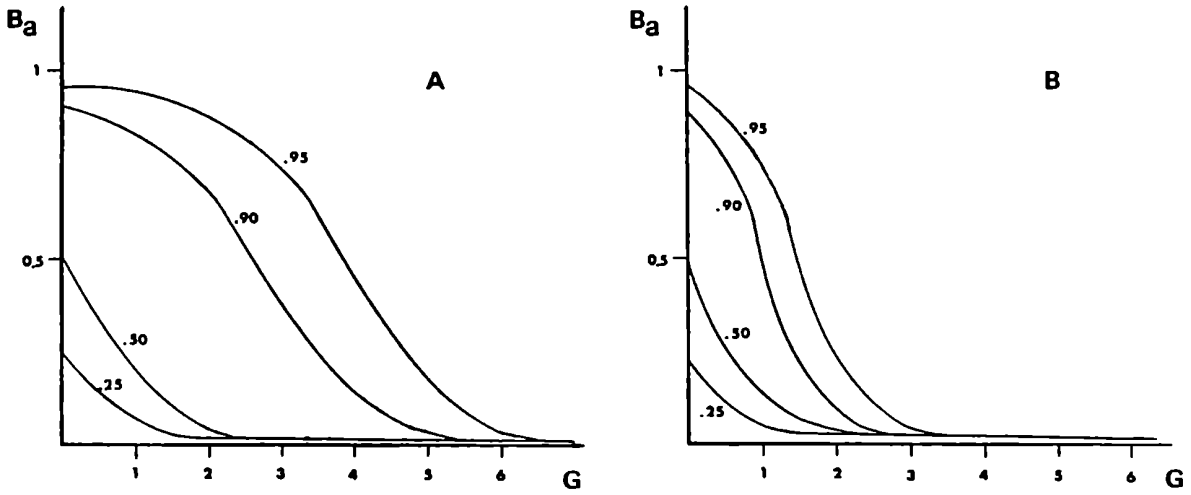

Figura 10.--Tasas de prevalencia de infección con virus Junín (B'_a) en generaciones sucesivas de *Calomys musculinus*, obtenidas por iteración de la ecuación fundamental de la transmisión vertical (ver texto), en ausencia de transmisión horizontal. Para cada caso, la tasa de prevalencia en la generación inicial (B_a) se indica sobre la curva, $\alpha = 0.2088$ y $\beta = 0.4849$. (A): Transmisión vertical biclinal a toda la progenie de ambos progenitores $d = v = 1$; (B): Transmisión vertical monoclinal a toda la progenie nacida de padres o madres infectados, $d = 1$ y $v = 0$, o $d = 0$ y $v = 1$.

disminución en la prevalencia de infección se acelera en una generación (compárese estos valores con los indicados en la columna 4 de la Tabla 20).

Es obvio que bajo estas condiciones, la transmisión horizontal resulta necesaria para sostener una prevalencia de infección equilibrada. No obstante, antes de proceder a cuantificar la transmisión horizontal que se tratará en el capítulo siguiente, es necesario determinar la capacidad de transmisión vertical de los animales infectados de adultos que no presentan alteraciones de sobrevida y reproducción respecto de sus pares no infectados.

- CAPACIDAD DE TRANSMISION VERTICAL EN CALOMYS MUSCULINUS INFECTADOS DE ADULTOS

Contrariamente a los efectos adversos que la infección neonatal con VJ produce en la reproducción y sobrevida del huésped, cuando la infección se establece en los animales adultos no se observan tales alteraciones, aunque tan sólo el 50% de los animales desarrolla una infección persistente. Estas características permiten suponer cierta capacidad en estos animales para transmitir la

infección verticalmente.

De acuerdo a los resultados presentados en el capítulo II, podemos considerar:

(1)- Tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección $\beta=1$, dado que no hay diferencias en la mortalidad de los animales infectados y no infectados.

(2)- Fertilidad relativa dependiente de la infección $\alpha = 0.9230$. Se utiliza en este caso la capacidad reproductiva relativa (CRR) que es un buen estimador de α, como se indicara anteriormente.

(3)- Tasas de transmisión vertical materna, $d=0.3182$ y paterna, $v=0$.

Para este conjunto de valores, siendo $\beta=1$ y $v=0$, la ecuación fundamental (3) toma la forma abreviada:

$$B'_a = \frac{B_a \alpha d}{1-B_a+B_a\alpha} \qquad (6)$$

En la Tabla 21 se presentan los valores de prevalencia de infección en la generación filial (B'_a) para distintas prevalencias entre los adultos de la generación parental (B_a), obtenidas a través de la ecuación (6). Se han considerado dos casos : $d^+ = 0.5$, tasa neta de transmisión vertical, y $d=0.3182$, tasa efectiva de transmisión vertical. En el primer caso, B_a mide la proporción de adultos infectados persistentes e inmunes, en el segundo, B_a contempla única-

TABLA 21

Tasas esperadas de prevalencia de infección con virus Junín, por transmisión vertical, para distintos valores de infección entre los individuos de la generación parental (B_a), infectados de adultos.

B_a	B_a'*	
	d=0.3182 ¶	d^+=0.50 §
0.1	0.0295	0.0465
0.2	0.0596	0.0958
0.3	0.0901	0.1417
0.4	0.1212	0.2166
0.5	0.1527	0.2400
0.7	0.2173	0.3414
1.0	0.3182	0.50

* Tasas de prevalencia de infección en la generación filial (B_a') obtenidas a través de la ecuación (6) (ver texto)

§ d^+: tasa neta de transmisión vertical

¶ d: tasa efectiva de transmisión vertical

mente los adultos persistentes (=infecciosos). Debe notarse que en el segundo caso los valores de $B_a>0.5$ son netamente teóricos dado que existiendo un 50% de seroconversión es imposible obtener valores de prevalencia de infección persistente superiores a 0.5. En ambos casos las prevalencias de infección en la progenie son superiores a las calculadas a partir de animales infectados al nacimiento (compárese con Tabla 20). Sin embargo, para obtener una prevalencia de infección en la generación filial $B'_a=0.24$ es necesaria una prevalencia parental de infección persistente de 0.5 (Tabla 21); esta situación es altamente improbable ya que requeriría que la población entera se infectara de tal modo que el 50% de los animales mantenga una infección persistente. Aún más, si bien la fertilidad y sobrevida de los animales infectados no influyen negativamente sobre la transmisión vertical, la tasa de transmisión en sí misma se transforma en limitante al ser distinta de la unidad. Es decir, aún cuando toda la generación parental esté infectada, el valor límite que tomará la prevalencia de infección en la generación filial será d (Tabla 21) puesto que para $B_a=1$, la ecuación (6) resulta $B'_a=d$.

Este análisis demuestra que los animales infectados de adultos pueden transmitir una cierta prevalencia de infección a la siguiente generación, aunque ésta resulta

insuficiente para mantener la infección a lo largo del tiempo, indicando nuevamente la necesidad de la transmisión horizontal para estabilizar el sistema.

Es de notar, además, que los animales infectados de adultos no pueden surgir en la población sino por transmisión horizontal. Interesa, entonces, analizar si la transmisión horizontal es por sí sóla suficiente para estabilizar la prevalencia de infección o requiere de la transmisión vertical.

V. INTERRELACION TRANSMISION HORIZONTAL--TRANSMISION VERTICAL

En el capítulo precedente se analizó el significado de la transmisión vertical en el mantenimiento de una prevalencia de infección estable a través del tiempo, en ausencia de transmisión horizontal. Se demostró que debido a los efectos que la infección persistente con virus Junín provoca en *C. musculinus*, la transmisión vertical es insuficiente para sostener por sí misma una infección prevalente estable. Analizaremos, aquí, el balance necesario entre la transmisión horizontal y vertical que permita mantener la infección con virus Junín estabilizada a través de generaciones sucesivas de *C. musculinus*.

- TRANSMISION HORIZONTAL TEORICA

Para un determinado valor de prevalencia de infección parental (B_a) es posible obtener mediante la ecuación fundamental, la tasa de prevalencia de infección en la generación filial (B'_a) transmitida verticalmente. La diferencia entre ambas tasas, $B_a - B'_a$, es una medida del déficit en la prevalencia de infección que debe cubrir

la transmisión horizontal para mantener una prevalencia estable. La tasa de incidencia neta de transmisión horizontal (H*) puede, entonces, medirse como:

$$H^* = B_a - B'_a \,/\, 1 - B'_a$$

donde el denominador indica la proporción de animales susceptibles.

Tomemos por caso la tasa de transmisión vertical obtenida para una prevalencia inicial $B_a = 0.25$. Según los datos presentados en la Tabla 20(Cap. IV), $B'_a=0.0326$ si $\alpha = 0.2088$, $\beta = 0.4849$, $d = 1$ y $v = 0$. De este modo:

$$H^* = (0.25 - 0.0326)/(1 - 0.0326) = 0.2247$$

Esta tasa teórica habrá de ser cubierta por transmisión horizontal intrageneracional o intergeneracional. De ser intrageneracional deberá alcanzar una prevalencia de 0.25 antes de que la población llegue a la etapa reproductiva; en caso contrario, la prevalencia de infección por transmisión vertical iría disminuyendo de generación en generación obligando a un incremento sostenido de la transmisión vertical.

La necesidad de transmisión horizontal intergeneracional dependerá de la capacidad de los animales infectados de adultos para transmitir verticalmente la infección.

- PREVALENCIA DE INFECCION INTRAGENERACIONAL

En ausencia de transmisión horizontal intrageneracional, la prevalencia de infección variará a partir de una tasa inicial B_a, en función de la tasa de mortalidad relativa dependiente de la infección.

Definiendo X como la proporción de animales libres de infección e Y como la proporción de animales infectados (= infecciosos o persistentes), y considerando que para todo t:

$$N = X + Y = 1$$

la variación en el tiempo de X e Y estará dada por:

$$X_t = \frac{X_o \ell_t^-}{X_o \ell_t^- + Y_o \ell_t^+} \qquad (1)$$

$$Y_t = \frac{Y_o \ell_t^+}{X_o \ell_t^- + Y_o \ell_t^+} \qquad (2)$$

donde ℓ_t representa la probabilidad de sobrevida a la edad t. Si consideramos una tasa inicial de infección $Y_o = 0.25$ entonces $X_o = 0.75$. Reemplazando para distintos valores de t en las ecuaciones (1) y (2) obtendremos la variación de prevalencia de infección intrageneracional. Para tal cálculo, los valores de ℓ_t están tomados de la Tabla 19, Cap. IV. En ausencia de transmisión horizontal, la tasa de prevalencia de infección tiende a estabilizarse en un valor

cercano al 50% de su valor inicial (Fig. 11; Tabla 22) desde los 50 días, dado que luego de este tiempo no existe mortalidad diferencial dependiente de la infección como se presentó en el Capítulo I. La misma tasa de mortalidad se aplica, entonces, para animales infectados y no infectados manteniéndose la proporción de ambos grupos, constante.

Ahora bien, esta situación puede revertirse por la presencia de transmisión horizontal. Se hace necesario definir, entonces, una tercera variable, Z, que mide la proporción de individuos inmunes en la población, dado que la infección en adultos conduce a un 50% de seroconversión. Para todo t la población quedará definida por:

$$N = X + Y + Z = 1$$

La variación de X, Y y Z en el tiempo dependerá de la proporción de animales susceptibles que adquieran la infección por contagio horizontal. Esta proporción de infección horizontal (H) será función directa del número de encuentros entre animales susceptibles e infecciosos y del coeficiente de transmisión (h), de tal modo que:

$$H_t = h_t X_t Y_t \qquad \text{(Anderson y May, 1979)}$$

La proporción H_t está formada por dos componentes, H_t^+ que mide la proporción de infección horizontal persistente y H_t^i que mide la proporción de animales infectados horizontalmente que se hacen inmunes. Respectivamente, a

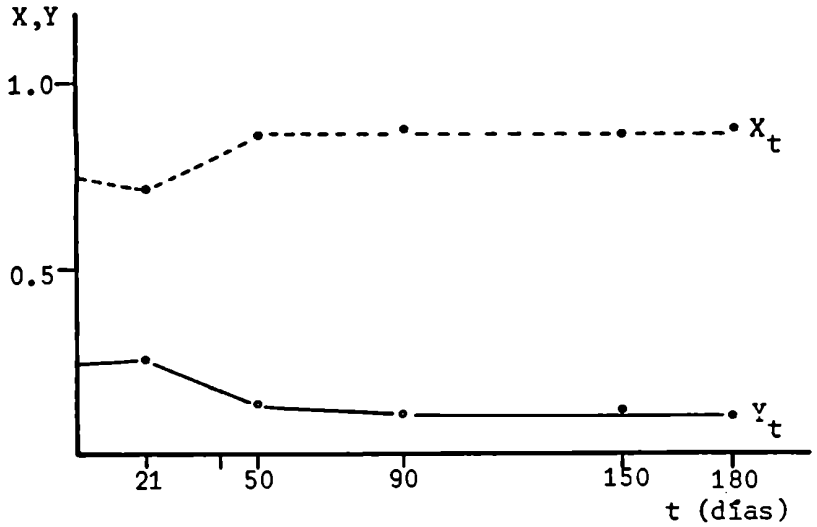

Figura 11.--Variación intrageneracional en las proporciones de animales libres de infección (X_t) e infectados (Y_t) obtenida mediante las ecuaciones (1) y (2), respectivamente (ver texto), en ausencia de transmisión horizontal, partiendo de una tasa de prevalencia de infección inicial de 0.25

H_t^+ y H_t^i corresponderán los coeficientes h_t^+ y h_t^i.

Considerando la incidencia de la transmisión horizontal, para cualquier intervalo $[t-1, t]$, X, Y y Z variarán según las siguientes expresiones:

$$X_t = \frac{X_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^-}{X_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^- + Y_{t-1}\,\ell_t^+/\ell_{t-1}^+ + Z_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^-} - H_t \qquad (3)$$

$$Y_t = \frac{Y_{t-1}\,\ell_t^+/\ell_{t-1}^+}{X_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^- + Y_{t-1}\,\ell_t^+/\ell_{t-1}^+ + Z_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^-} + H_t^+ \qquad (4)$$

$$Z_t = \frac{Z_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^+}{X_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^- + Y_{t-1}\,\ell_t^+/\ell_{t-1}^+ + Z_{t-1}\,\ell_t^-/\ell_{t-1}^-} + H_t^i \qquad (5)$$

En este caso, las proporciones X, Y y Z no dependerán de los valores iniciales X_o, Y_o y Z_o dado que para todo intervalo considerado, el valor inicial de cada variable se habrá modificado como consecuencia de la transmisión horizontal. De este modo, en cada intervalo habrá de considerarse la mortalidad para dicho período, medida por los cocientes ℓ_t/ℓ_{t-1}. A su vez, en X_t se resta la transformación de animales susceptibles en infectados (H_t) que se sumarán a Y_t o Z_t según respondan con infección persistente (H_t^+) o seroconversión (H_t^i).

De acuerdo a los resultados obtenidos al analizar la transmisión horizontal experimental (Cap. III), existen di-

ferentes coeficientes de transmisión para los períodos de lactancia y postdestete. Durante la lactancia se halló un coeficiente de transmisión cría-cría, $h_{21} = 0.0769$. Luego del destete, de manera relativamente independiente del tiempo de contacto, el coeficiente de transmisión horizontal tomó un valor de 0.76 (ver Tabla 18, Cap. III). Este coeficiente que consideraremos constante para todo $t > 21$ días, determinará la aparición de animales adultos infectados que responderán estableciendo una infección persistente o adquiriendo inmunidad. Ambas respuestas se desarrollan en un 50% de los animales infectados experimentalmente (ver Cap. II) de tal modo que podemos considerar:

$h^+ = h^i = h/2 = 0.38 = cte$ para todo $t>21$ días

Analicemos, entonces, como varía la prevalencia de infección intrageneracional en presencia de transmisión horizontal, para los valores iniciales $X_o = 0.75$, $Y_o = 0.25$, $Z_o = 0$. Para esto aplicaremos los siguientes supuestos:

(1)- $h = 0.0769$ para el período de lactancia

(2)- la transmisión durante la lactancia no promueve la seroconversión; los animales infectados en este período desarrollan una infección persistente de por vida. De este modo: $H_{21} = H^+_{21}$ y $H^i_{21} = 0$

(3)- $h = 0.76$ para todo tiempo de contacto posterior al destete, y $h^+_{>21} = h^i_{>21} = 1/2\ h_{>21} = 0.38$

TABLA 22

Tasas de prevalencia de infección intrageneracional con virus Junín en C. *musculinus*, en ausencia o presencia de transmisión horizontal, a partir de una prevalencia de infección inicial Y_0=0.25.

t*	Sin t. horizontal¶		Con t. horizontal§		
	X†	Y	X	Y	Z
0	0.75	0.25	0.75	0.25	0.0
21	0.7425	0.2574	0.7362	0.2673	0.0
50	0.8608	0.1391	0.8161	0.1674	0.0192
90	0.8822	0.1178	0.7610	0.1785	0.0593
150	0.8789	0.1211	0.6922	0.2164	0.0911
180	0.8813	0.1186	0.5934	0.2779	0.1466

* t: tiempo en días.

¶ Valores de X e Y obtenidos mediante las ecuaciones (1) y (2), respectivamente (ver texto).

§ Valores de X, Y y Z obtenidos a través de las ecuaciones (3), (4) y (5), respectivamente (ver texto).

† X: proporción de individuos no infectados
Y: proporción de individuos infectados (=persistentes o infecciosos)
Z: proporción de individuos inmunes

Reemplazando por los valores respectivos en las ecuaciones (3), (4) y (5) obtenemos la variación en las proporciones X, Y, Z indicadas en la Tabla 22. A diferencia de lo ocurrido en ausencia de transmisión horizontal, la prevalencia de animales infectados se incrementa a partir de los 50 días como consecuencia de la infección horizontal (Fig. 12), superando en el intervalo 150-180 días a la tasa inicial de infección. Es de notar, sin embargo, que el efecto de la mortalidad diferencial de los animales infectados antes de alcanzar la madurez sexual, es escasamente neutralizado por la transmisión horizontal que no evita la marcada disminución de la prevalencia de infección de un valor de 0.2673 al destete, hasta 0.1647 a los 50 días.

- TRANSMISION HORIZONTAL INTRAGENERACIONAL Y TRANSMISION VERTICAL

La transmisión horizontal de la infección es suficiente para superar los efectos de la mortalidad de los animales infectados al nacimiento, sobre la prevalencia de infección. Si bien por transmisión horizontal no logra suprimirse la disminución de la prevalencia de infección en el período comprendido entre el destete y la madurez sexual (21-

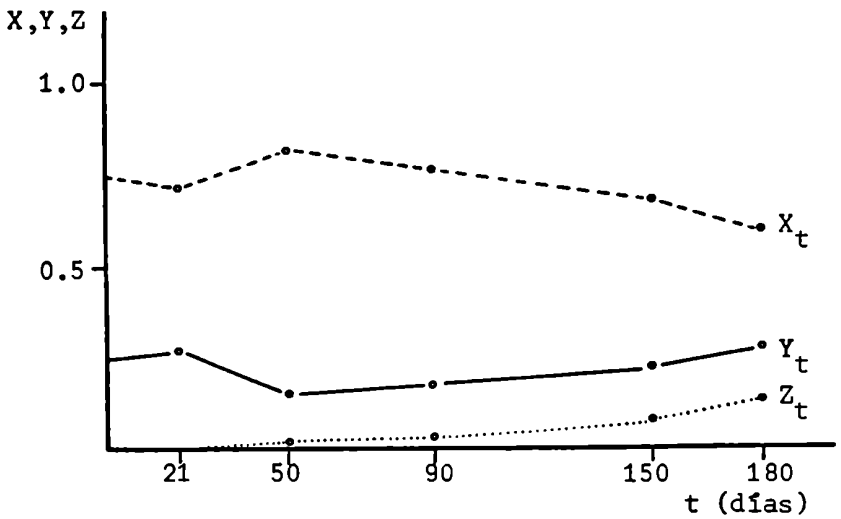

Figura 12.--Variación intrageneracional de las proporciones de animales susceptibles (X_t), infectados (Y_t) e inmunes (Z_t) obtenidas mediante las ecuaciones (3), (4) y (5) (ver texto), en presencia de transmisión horizontal intrageneracional.

50 días) (Fig. 12); luego del mismo, la transmisión horizontal posibilita la recuperación de la tasa de prevalencia de la infección hasta sus niveles iniciales, capacitando a la población para transferir la infección a la siguiente generación mediante transmisión vertical.

En la variable Y, proporción de individuos infectados, deben distinguirse tres componentes:

(a)- Y_t^1: proporción de individuos infectados en ausencia de transmisión horizontal. Esta componente considera a los individuos nacidos infectados o infectados durante la lactancia que constituyen la tasa inicial de infección, y variará en el tiempo en relación a la mortalidad de tales individuos. La variación en el tiempo de Y_t^1 ha sido calculada mediante la ecuación (2).

(b)- Y_t^2: proporción de animales infectados en presencia de transmisión horizontal. Esta componente incluye a Y_t^1 y le agrega en todo momento, los individuos que adquieren la infección por contagio; su variación en el tiempo ha sido hallada mediante la ecuación (4).

(c)- Y_t^3: proporción de individuos infectados por transmisión horizontal. Mide la porción de individuos que se ha infectado por contagio, sólamente.

La componente Y_t^2 representa la prevalencia de infección en todo momento y es, en rigor, la variable Y como ha

sido definida hasta ahora. Las componentes de Y guardan entre sí la siguiente relación:

$$Y_t^3 = Y_t^2 - Y_t^1 \qquad (6)$$

Como ha sido expresado anteriormente, la capacidad de transmisión vertical es diferente para los individuos infectados al nacimiento (Y_t^1) y para los que reciben la infección de adultos (Y_t^3) dado que la infección no provoca en ellos los mismos efectos sobre la reproducción y sobrevida. Por ello, resulta conveniente distinguir las componentes de Y indicadas arriba. En la Figura 13 se grafica la variación temporal de las componentes de Y, obtenida a través de las ecuaciones (2), (4) y (6) para Y_t^1, Y_t^2 e Y_t^3, respectivamente.

Para medir la capacidad de la población para transmitir verticalmente la infección en presencia de transmisión horizontal intrageneracional, debemos distinguir:

(1)- Transmisión vertical a partir de individuos nacidos infectados o infectados durante la lactancia (Y_t^1). Estos individuos aportarán a la siguiente generación una fracción constante en la prevalencia de infección. Esta fracción que denominaremos B'_{a_0}, corresponde a la tasa de infección hallada en el Capítulo IV para individuos con infección neonatal. Consideraremos, como hasta ahora, una infección parental $B_a = 0.25$. Siendo $\alpha = 0.2088$, $\beta = 0.4849$, $d = 1$ y

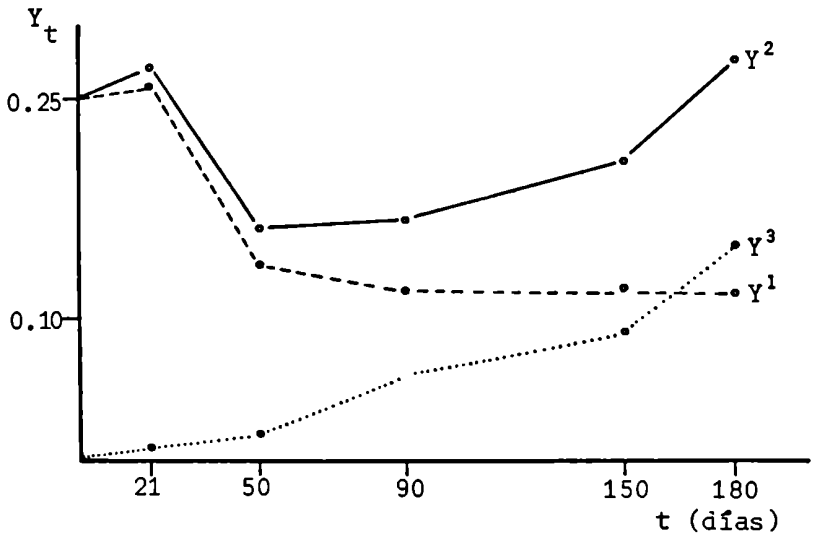

Figura 13.--Variación temporal de las componentes de la proporción de animales infectados (Y_t^i): Y_t^1, individuos infectados en ausencia de transmisión horizontal, Y_t^2, variación de individuos infectados en presencia de transmisión horizontal intrageneracional, Y_t^3, proporción de individuos infectados sólo por transmisión horizontal.

v = 0, el valor constante de B_{a_0} corresponde al presentado en la Tabla 19 (Cap. IV): $B_{a_0} = 0.0326$.

(2)- Transmisión vertical a partir de individuos infectados por transmisión horizontal intrageneracional (Y_t^3). El aporte de estos individuos a la prevalencia de infección en la siguiente generación no será, como en el caso anterior, constante sino que variará a medida que aumente la proporción de individuos infectados por contagio. El aporte de estos individuos lo denominaremos B'_{a_h} y la progenie infectada nacida de ellos será:

$$\sum_{i=50}^{n} B'_{a_{h_i}}$$

Deslindados ambos aportes, la tasa de prevalencia de infección en la generación filial en presencia de transmisión horizontal intrageneracional (en la generación parental) se medirá como:

$$B'_a = \left(\sum_{i=50}^{n} B'_{a_{h_i}} \right) + B'_{a_0} \qquad (7)$$

Los distintos términos de esta ecuación se obtienen mediante la 'ecuación fundamental'.

El cálculo de los B'_{a_h} plantea una complicación adicional: los animales que se incorporen al ciclo de transmisión por infección horizontal tendrán una capacidad reproductiva diferente según su incorporación tenga lugar cercana o lejanamente a haber alcanzado la madurez sexual.

TABLA 23

Variación de la capacidad reproductiva en *C.musculinus*, medida a través de la probabilidad de producir descendencia en partos consecutivos.

Edad *	Partos consecutivos ¶	N ¶	Disminución (%)	α§
50	1	27	0.0	0.9230
71	2	27	0.0	0.9230
92	3	27	0.0	0.9230
113	4	27	0.0	0.9230
134	5	27	0.0	0.9230
155	6	26	3.70	0.8888
176	7	20	25.92	0.6837
197	8	15	44.45	0.5127

* Edad en días a partir de la madurez sexual (50 días) obtenidas sumando sucesivamente el tiempo de gestación (21 días)

¶ Columnas 2 y 3, número de partos consecutivos y cantidad de hembras estudiadas, tomados de Hodara (1987)

§ El coeficiente α inicial, 0.9230, corresponde al valor de CRR de los animales infectados de adultos (ver texto cap. II); la variación de α se obtiene aplicando la disminución porcentual presentada en la columna 4

Para medir esta variación en la capacidad reproductiva consideraremos la frecuencia de partos consecutivos en *Calomys musculinus* (Hodara, 1987). En la Tabla 23 se indica la capacidad de producción de partos consecutivos; las columnas (2) y (3) han sido tomadas de Hodara (1987). Partiendo de la edad en que se alcanza la madurez sexual (50 días), la edad en cada parto consecutivo ha sido estimada sumando sucesivamente el tiempo de gestación de la especie (21 días) (columna 1), sin contemplar la posibilidad de implantación diferida en preñeces consecutivas que puede variar este tiempo en 4 o 5 días. En la columna 4 se mide la disminución en la probabilidad de tener otro parto consecutivo; este valor se utiliza para estimar la variación de α para distintos tiempos (columna 5). Como puede observarse, la disminución de α comienza a hacerse notoria a partir de los 200 días.

Resolviendo la ecuación (7) para i = 50 hasta 180 días considerando α constante o variable, obtenemos los valores presentados en la Tabla 24. La utilización de valores variables de α no modifica de manera importante la tasa de prevalencia calculada con α = constante. En ambos casos, la proporción de progenie nacida infectada (B'_a) no llega a recuperar el valor inicial de la población parental (B_a=0.25) (Tabla 24).

TABLA 24

Prevalencia de infección en la generación filial (B'_a) obtenida por transmisión vertical a partir de una prevalencia de infección parental variable (B_a) como consecuencia de la transmisión horizontal intrageneracional.

t*	Y^3_t ¶	B'_{a_h}	
		α = cte	α no cte§
50	0.0256	0.0076	0.0076
90	0.0617	0.0189	0.0189
150	0.0953	0.0300	0.0289
180	0.1593	0.0527	0.0396
	Σ	0.1092	0.0950
	B'_a†	0.1418	0.1276

* t: tiempo en días

¶ Y^3_t: proporción de individuos infectados por transmisión horizontal; valores tomados de Figura 13. Y^3_t se utiliza como B_a (tasa de prevalencia de infección en la generación parental) para resolver la ecuación fundamental, para obtener los valores de B'_{ah}.

§ α = cte = 0.9230; α no cte = variable para cada t según los valores indicados en la Tabla 23 .

† $B'_a = (\Sigma B_{ahi}) + B_{ao}$, con $B_{ao} = 0.0326$ = cte (ver texto)

Este cálculo puntualiza la necesidad de transmisión horizontal intergeneracional como mecanismo para estabilizar la prevalencia de infección en el tiempo. La medida en que este mecanismo será requerido, puede cuantificarse como la diferencia entre la infección en la generación parental (B_a) y la prevalencia de infección en la generación filial obtenida mediante la ecuación (7). De este modo, la transmisión horizontal intergeneracional (H') requerida, será:

$$H' \geqslant B_a - B'_a = 0.25 - 0.1418 \geqslant 0.1072$$

ISCUSI

- EFECTOS DE LA INFECCION CON LA CEPA CBA AN 9446 DEL VIRUS JUNIN EN CALOMYS MUSCULINUS

Estudios previos han demostrado que la infección neonatal, por vía intracerebral, en *C. musculinus* con la cepa salvaje Cba An 9446 del virus Junín conduce al establecimiento de una infección asintomática que no produce mortalidad diferencial y persiste durante toda la vida del animal (Sabattini et al., 1977). Al emplear una vía de infección natural como es la instilación de virus a través de la mucosa nasal, también se desarrolla una infección persistente del huésped acompañada de viremia permanente y eliminación de virus infeccioso a través de orina y saliva hasta tiempos tan largos como los 480 días pi. Sin embargo, aunque la infección puede considerarse asintomática, en tanto no existe ningún signo de enfermedad y los animales son aparentemente normales, no resulta totalmente inócua para la especie. Esta infección persistente e inmunotolerante afecta los parámetros esenciales que rigen a toda asociación huésped-parásito: la sobrevida y la capacidad reproductiva del huésped infectado.

Los efectos de la infección intranasal neonatal pueden encadenarse a través de distintos períodos caracterís-

ticos que incluyen sucesivamente: retraso de crecimiento corporal, mortalidad diferencial dependiente de la infección y alteración de la capacidad reproductiva del huésped infectado.

Durante la lactancia, la infección no provoca un incremento de mortalidad en el huésped y las tasas registradas son semejantes a las observadas en los animales libres de infección y cercanas en ambos casos al 17%. No obstante, durante este período se registra un importante retraso de crecimiento. El peso corporal de los animales infectados, machos y hembras, presenta una disminución del 25% respecto de los animales libres de infección a partir de los 4 días de edad, sin recuperación durante toda la lactancia y hasta los 60 días.

Luego del destete, la tasa de mortalidad acumulada crece rápidamente entre los 24 y 40 días pi, superando en un 37% la tasa de mortalidad "natural" de la especie para las condiciones de cría empleadas.

La infección neonatal con cepas del VJ de origen humano (vg. XJ-Clon 3) induce, tanto en *C. musculinus* como en otros cricétidos presuntamente involucrados en el ciclo natural del virus, tasas de mortalidad elevadas que alcanzan en algunos casos al 98% de los animales (Lampuri et al., 1982; Carballal et al., 1988). Estas tasas

están siempre asociadas a una enfermedad neurológica que provoca importantes alteraciones motrices y se registran durante la segunda mitad de la lactancia sin extenderse más allá de los 7 días posteriores al destete. Contrariamente, la mortalidad inducida por la cepa Cba An 9446 no está precedida por una etapa de enfermedad neurológica, es de menor magnitud y ocurre tardíamente comparada con la inducida por la cepa XJ-Clon 3. Muy probablemente, la mortalidad registrada entre los 24 y 40 días pi con la cepa Cba An 9446 sea una consecuencia directa del marcado retraso de crecimiento corporal observado en la lactancia, especialmente si se tiene en cuenta que luego de la madurez sexual (60 días) las diferencias de peso entre animales infectados y no infectados desaparecen debido a que son los animales más afectados en su crecimiento los que mueren, preferencialmente, durante este período.

Superada la etapa de mortalidad dependiente de la infección, los animales que alcanzan la madurez sexual muestran una capacidad reproductiva disminuída. El éxito reproductivo de los animales infectados, apareados monogámicamente al destete, es del 13% frente a un 60% registrado en los animales libres de infección apareados de igual modo, y el número de progenie observado alcanza tan sólo al 11% del valor esperado. Una situación similar

se presenta en *C. callosus* infectados al nacimiento con el arenavirus Machupo, agente etiológico de la Fiebre Hemorrágica boliviana, donde el virus persiste durante toda la vida del huésped, provoca un marcado retraso de crecimiento corporal, disminuye la sobrevida y altera la capacidad reproductiva de la especie que sólo produce un 5% de la progenie esperada (Justines y Johnson, 1969; Webb et al., 1975).

En condiciones de cría experimental, *C. musculinus* muestra su primera parición entre los 3 y 5 meses de edad (edad promedio: 118,3 ± 48,7 días) cuando los apareamientos se realizan al destete, con un porcentaje de preñez por celo postparto del 60% (Merani et al., 1988). En el caso de los animales infectados, si bien no se altera la edad al primer parto, el tamaño de camada es menor y no se registra preñez por celo postparto. Estas observaciones sugieren que la infección interfiere tempranamente con el desarrollo embrionario, produciendo pérdidas de embriones en estadios previos a la implantación. En ratones genéticamente atímicos, un modelo experimental para la infección persistente con VJ (Weissenbacher et al. 1983), se ha hallado que la infección altera la capacidad reproductiva de la cepa, incluyendo una disminución

del tamaño de la camada por pérdidas embrionarias previas a la implantación (Merani et al., 1983). Asímismo, la exposición de embriones tempranos de C. *musculinus* al virus Junín, bloquea en un 100% el desarrollo in vitro de blastocistos normales (Hodara, com. pers.) indicando la habilidad del virus para infectar al embrión no implantado y alterar drásticamente su desarrollo.

La situación de asociación entre el virus Junín y C. *musculinus* a través de la infección neonatal implica una marcada desventaja para el huésped persistentemente infectado frente a sus congéneres libres de infección. Si bien la infección persistente e inmunotolerante asegura la perdurabilidad del virus en cada individuo, el mantenimiento de la asociación en términos poblacionales se ve claramente afectado. Sin embargo, la situación es totalmente diferente cuando la infección tiene lugar en animales adultos.

La infección intranasal con la cepa Cba An 9446 en C. *musculinus* adultos conduce a una respuesta dividida: un 50% de los animales establece una infección persistente e inmunotolerante en tanto que el resto desarrolla una respuesta inmunocompetente, con producción de anticuerpos y clarificación del virus. La respuesta inmunotolerante se

caracteriza por la presencia de virus en sangre, orina y saliva, con una producción nula o escasa y tardía de anticuerpos inmunofluorescentes.

Tanto en los animales inmunotolerantes como en los inmunocompetentes, la infección no modifica la sobrevida ni induce alteraciones en el peso corporal, respecto de los animales no infectados.

La capacidad reproductiva, independientemente de la respuesta desarrollada por los animales, no muestra alteraciones. El éxito reproductivo conjunto de los animales inmunotolerantes e inmunocompetentes es cercano al 50% y semejante al grupo control. El número promedio de camada es de 5.6 crías, similar al determinado para la especie en ausencia de infección con VJ (Merani et al 1988). En ningún caso se observan alteraciones en el desarrollo fetal y la progenie de las hembras infectadas muestra un desarrollo postnatal de características semejantes a la descendencia de los animales libres de infección.

El comportamiento ante la infección hallado en los animales adultos, a diferencia de lo que ocurre en la infección neonatal, capacita al sistema para lograr una asociación estable a través de generaciones sucesivas,

tanto por mecanismos de transmisión horizontal como vertical. La existencia individual o combinada de estos mecanismos se resuelve en el balance cuantitativo entre la transmisión horizontal y vertical dado que la asociación del virus Junín a los animales adultos no causa alteraciones apreciables en la sobrevida y reproducción.

- EFICACIA SIMBIOTICA DE LA ASOCIACION CALOMYS-VIRUS JUNIN

La infección persistente del virus Junín en *C.musculinus* permite el mantenimiento temporal de la asociación durante toda la vida del huésped. Si bien de este modo se asegura la perdurabilidad del patógeno en cada individuo, su mantenimiento en la población huésped no resultará de la sumatoria de las respuestas individuales sino del efecto general que la infección persistente produce sobre la reproducción (α) y sobrevida (β) de la población infectada. En la Tabla 25 se resumen estos efectos para animales infectados al nacimiento y de adultos. Ambos parámetros, conjuntamente con la capacidad de transmisión vertical de la infección (**d y v**), permiten investigar la eficiencia de la asociación para mantenerse en el tiempo por mecanismos de transmisión vertical, mediante la expresión (ver Apéndice I):

$\alpha\beta \cdot (d + v)$

donde el producto $\alpha\beta$ mide el efecto neto de la infección sobre la fertilidad y sobrevida del huésped y el término (d+v), la capacidad de transmisión vertical global del patógeno.

La condición necesaria para que el sistema pueda perpetuarse sólo por transmisión vertical es que la eficacia simbiótica sea:

$\alpha\beta(d+v)>1$

Esta condición establece que aun cuando el patógeno pueda impartir cierta desventaja sobre su huésped, es decir que α y/o β tomen valores mucho menores a la unidad, la asociación podrá mantenerse si la tasa de transmisión conjunta, (d+v), es suficiente para hacer el producto de la eficacia simbiótica mayor a 1.

Transformando la inecuación de la eficacia simbiótica como:

$d+v > 1/\alpha\beta$

podemos averiguar, de modo teórico, si la transmisión vertical es compatible con el mantenimiento de la asociación para un determinado par de valores α y β. El término $\alpha\beta$ puede tomar valores entre 0 y 1, en tanto que d+v se mueve entre 0 (ausencia de transmisión vertical)

TABLA 25

Efectos de la infección con virus Junín en *C.musculinus*, al nacimiento y en adultos, sobre la fertilidad (α) y sobrevida (β).

	α	β	d*	v*	αβ	d+v
Infección neonatal	0.2088	0.4849			0.1012	
Infección adultos	0.9230	1.0	0.3182	0.0	0.9230	0.3182

*d: tasa de transmisión vertical materna
v: tasa de transmisión vertical paterna

y 2 (transmisión vertical biclinal total). De este modo, la transmisión vertical será suficiente para sostener la asociación cuando el valor d+v que satisfaga la inecuación sea menor o igual a 2.

Para el caso de la infección neonatal, la inecuación se satisface si $d+v \geq 9.88$. Este valor supera ampliamente el valor máximo que puede tomar la tasa conjunta de transmisión ($d+v=2$) indicando que en condiciones de infección neonatal la transmisión vertical es totalmente insuficiente para mantener la asociación. No obstante, en adultos la inecuación se resuelve para valores de $d+v \geq 1.08$, manteniéndose dentro de los límites que satisfacen la eficacia simbiótica.

Este hecho indica que la relación de asociación que establece el VJ al infectar al huésped adulto es compatible con los sistemas Tipo IIa (Fine, 1975) (ver Clasificación de los Sistemas de Transmisión) que se caracterizan por su dependencia de la transmisión vertical. Sin embargo, la tasa experimental de transmisión vertical $d+v=0.3182$ (Tabla 25), es inferior al valor mínimo requerido para satisfacer la inecuación. En tales condiciones, la transmisión vertical no logrará estabilizar la prevalencia de infección actuando como único mecanismo. No obstante, de modo teórico, el sistema está capacitado para sostenerse, exclusivamente, por vía vertical.

- MECANISMOS DE TRANSMISION DEL VIRUS JUNIN

La eliminación del VJ en orina y saliva en *C.musculinus* capturados infectados o infectados de modo experimental, en conjunto con la observación de que el contacto estrecho y prolongado entre animales susceptibles e infectados promueve el contagio directo de la infección, han llevado a considerar a la transmisión horizontal como el mecanismo de mayor importancia, sino el único, capaz de sostener la asociación del virus y su huésped (Sabattini et al., 1977; Sabattini y Contigiani, 1982). A pesar de haberse hallado que la infección puede también transmitirse de las hembras a sus crías durante la lactancia (Sabattini et al., 1977), se otorgó una escasa importancia a la transmisión vertical como mecanismo efectivo de transferencia de la infección, y no existen estudios previos sobre las diferentes modalidades de transmisión vertical o que relacionen a éstas con la transmisión horizontal.

Los resultados aquí presentados agregan nuevos elementos a la discusión del papel que desempeñan los mecanismos de transmisión horizontal y vertical en el mantenimiento de una asociación estable entre el virus Junín y *C. musculinus* a través de generaciones sucesivas.

a)- Transmisión horizontal

El análisis de la transmisión horizontal experimental (Cap. III) mostró una marcada facilidad de la transmisión viral mediante el contagio directo por contacto, relacionado a la eliminación de virus en orina y saliva de los animales infectados y cualitativamente semejante a las observaciones previas realizadas por otros autores (Sabattini et al., 1977).

Las tasas de transmisión horizontal predestete (h_{21} = 7.6%) y postdestete ($h_{>21}$ = 76%) resultaron altamente distintivas y pueden parecer indicar, a simple vista, cierta restricción en el pasaje durante la lactancia.

El pasaje de la infección en el diseño experimental empleado al estudiar la transmisión horizontal predestete (infección parcial de camadas), se restringe a la tercera semana de lactancia dado que los animales infectados no eliminan virus por saliva y orina antes de los 14 días pi (Tabla 8, Cap. I). La transmisión horizontal entre adultos alcanzó valores superiores en un orden de magnitud. Aunque tales valores puedan parecer muy elevados, se logran sólo después de los 60 días de contacto estrecho y obligatorio. Si se considera un tiempo de contacto de 21 días, la tasa de transmisión horizontal entre adultos resulta del 7.7%

(Tabla 17, Cap. III), semejante al valor de h_{21}. Más aún, teniendo en cuenta la restricción de la transmisión predestete debida al momento de inicio de la eliminación de virus en orina y saliva, la transmisión durante la lactancia resulta ser más efectiva en términos comparativos.

En condiciones naturales, donde la probabilidad de contacto entre individuos susceptibles e infectados dependerá de variables tales como la densidad poblacional, la vagilidad de los animales y las proporciones relativas de las tres categorías esenciales de individuos -residentes, semiresidentes y transeúntes- (de Villafañe y Bonaventura, 1987), es de esperar que las tasas de transmisión horizontal sean inferiores a las obtenidas experimentalmente. Esto mismo vale para la transmisión predestete; en particular, porque el pasaje vertical de la infección a una parte de la camada no habrá de ocurrir tan sólo durante las primeras 48 horas de vida de los animales y porque el tiempo de lactancia estimado a campo es de 15 días (de Villafañe y Bonaventura, 1987). Ambos factores disminuirán el tiempo de contacto entre los animales, reduciendo la transmisión horizontal.

Del 75% de los adultos que se infectan por transmisión horizontal, sólo la mitad establece una infección persistente ($h^+ = 0.38$) y se incorpora al ciclo de trans-

misión viral (ver Cap. III). Si se calcula la tasa global de transmisión horizontal como:

$$H = H^* + H'$$

donde H* y H' representan los valores teóricos de transmisión horizontal intrageneracional e intergeneracional, respectivamente (ver Cap V), entonces:

$$H = 0.2247 + 0.1072 = 0.3319$$

Este valor sería suficiente para mantener una prevalencia de infección de 0.25, pero con la participación de la transmisión vertical dado que tanto H* como H' se calculan como el déficit que promueve la transmisión vertical (ver Cap. V y Apéndice I) en la prevalencia de infección.

La tasa experimental de transmisión horizontal, $h^+ = 0.38$, es ligeramente superior al valor teórico. No obstante si se considera que este valor puede representar una sobrestimación de la capacidad de transmisión en condiciones naturales (ver arriba), la transmisión horizontal resulta insuficiente como mecanismo único para mantener de modo estable la asociación VJ-*C. musculinus*.

(b)- Transmisión vertical

La transmisión vertical del VJ en *C. musculinus* resulta efectiva durante la lactancia (transmisión vertical post-

natal) manifestándose, principalmente, de modo matroclinal y alcanzando al 50% de los animales nacidos de hembras infectadas. La participación de la línea paterna en el pasaje postnatal de la infección es escasa o nula.

Contrariamente, la transmisión antenatal está francamente impedida tanto en los períodos previos como posteriores a la implantación embrionaria. Como se ha discutido previamente, la infección de los embriones no implantados promueve la inviabilidad de los mismos en tanto que, en los embriones implantados, la placenta actúa como una barrera efectiva en la prevención de la infección de los tejidos del embrión. El virus se acumula en la placenta sin alcanzar al embrión ni alterar su desarrollo. Este mismo hecho ha sido observado en ratones genéticamente atímicos, persistentemente infectados con VJ (Meraní et al., 1983).

La importancia epidemiológica que la transmisión vertical pueda tener en una asociación patógeno-huésped está íntimamente supeditada a los efectos del patógeno sobre la capacidad reproductiva del huésped (Fine, 1975). Los resultados presentados en el Capítulo IV muestran que los efectos de la infección neonatal con VJ sobre la reproducción y sobrevida de C. *musculinus* hacen que, aun en condiciones ideales de transmisión (transmisión biclinal al

100% de la progenie), y partiendo de tasas de prevalencia en la generación parental tan elevadas como 0.95, la infección tienda a desaparecer abruptamente en unas pocas generaciones (Fig. 10a, Cap. IV). Cuando se considera una prevalencia de infección parental semejante a las tasas de infección natural, incluso con transmisión matroclinal total, la infección no logra sostenerse por más de una generación (Fig. 10b). En tales condiciones, la transmisión vertical resulta totalmente inoperante en el mantenimiento de la asociación.

Sin embargo, en los animales infectados de adultos que no muestran alteraciones apreciables de sobrevida y reproducción, la transmisión vertical es capaz de sostener cierta prevalencia de infección en generaciones sucesivas (Tabla 21, Cap. IV), si bien la infección tendería igualmente a desaparecer, aunque más lentamente que en el caso de los animales infectados al nacimiento.

La capacidad de los animales adultos para transmitir de modo eficiente la infección por vía vertical, tiene particular interés si se considera que la existencia de grupos familiares en las poblaciones naturales de *C. musculinus* sugiere la importancia del agrupamiento social

como factor determinante de la transmisión vertical (de Villafañe y Bonaventura, 1987).

El análisis desarrollado en el capítulo IV muestra claramente que, como ocurre con la transmisión horizontal, también la transmisión vertical es insuficiente como mecanismo único para mantener a través del tiempo la asociación del VJ con *C. musculinus*.

- MANTENIMIENTO DE LA ASOCIACION VIRUS JUNIN-C.MUSCULINUS

La inhabilidad encontrada tanto en la transmisión horizontal como vertical para sostener una prevalencia estable de la infección, operando como mecanismos únicos sugiere que el sistema logrará su punto de equilibrio a través de la combinación de ambos tipos de mecanismos. Esta combinación, analizada en el capítulo V, pone de manifiesto que partiendo de una tasa dada de infección inicial, y en ausencia de transmisión horizontal, la prevalencia de infección tiende a estabilizarse en la generación (en un valor cercano al 50% del inicial) desde los 50 días (Fig. 11, Cap. V), una vez superada la etapa de mortalidad diferencial de los animales infectados al nacimiento. La presencia de transmisión horizontal in-

trageneracional hace que a partir de los 50 días, la tasa de animales infectados comience a recuperarse paulatinamente (Fig. 12), a través de la incorporación de animales infectados de adultos. De este modo, la transmisión horizontal intrageneracional capacita a la población, en su etapa reproductiva, para transferir la infección a la siguiente generación, ya que los adultos incorporados al ciclo de transmisión por infección horizontal serán capaces de transmitir el virus por vía vertical, aunque sin alcanzar el valor de prevalencia inicial que, necesariamente, se cubrirá por transmisión horizontal intergeneracional.

En términos de una población infectada, el modelo de mantenimiento de la asociación virus Junín--*C. musculinus* surge del equilibrio entre la transmisión vertical y la transmisión horizontal intrageneracional e intergeneracional, en función del comportamiento diferencial de los animales infectados durante la lactancia o como adultos. Los animales verticalmente infectados (durante la lactancia), aunque incapaces de transferir satisfactoriamente la infección a la siguiente generación, contribuyen a la infección intrageneracional por medio de la transmisión horizontal.

Los adultos que de este modo reciben la infección quedan capacitados para asegurar el pasaje del virus tanto por vía horizontal (intergeneracional) como vertical. En tales circunstancias, el mantenimiento del VJ en *C. musculinus* sobreviene del equilibrio entre ambas modalidades de transmisión, sostenido principalmente por la transmisión horizontal como vía de incorporación de animales infectados capaces de transmitir verticalmente la infección y sostener el sistema incluso si el tamaño poblacional se reduce y la transmisión horizontal queda temporalmente impedida.

MARIA SUSANA MERANI
Directora

ALFREDO D. VITULLO
Tesista

Buenos Aires, abril de 1989

APENDICES

APENDICE I

CUANTIFICACION DE LA TRANSMISION VERTICAL

MODELO MATEMATICO DE FINE (1975)

La pregunta epidemiológica fundamental en un estudio de transmisión vertical se refiere a la contribución cuantitativa que este mecanismo puede otorgar al mantenimiento de un agente infeccioso en la población huésped. Un corolario importante de tal pregunta es si la transmisión vertical es capaz, por sí misma y en ausencia de transmisión horizontal, de sostener en forma continuada la infección, a través de sucesivas generaciones. La respuesta a esta pregunta no sólo permite calificar la importancia de la transmisión vertical en un determinado sistema huésped-parásito, sino también determinar la necesidad y magnitud en que la transmisión horizontal será requerida para estabilizar el sistema.

La cuantificación de la transmisión vertical es un problema análogo al encarado por la genética de poblaciones para predecir la tasa de prevalencia de un determinado alelo en una población. Basado en los modelos aplica-

dos a problemas genéticos y en los estudios realizados por L'Héritier (1958, 1970, 1971) sobre la transmisión del virus Sigma en *Drosophila melanogaster*, Fine (1975) ha desarrollado un modelo matemático que describe la contribución cuantitativa de la transmisión vertical en la prevalencia de una infección en su población huésped, analizando la situación en que tal transmisión es suficiente, en sí misma, para mantener la infección.

Las suposiciones y definiciones de este modelo se describen a continuación:

1)- La infección se mantiene sólo por transmisión vertical y persiste durante toda la vida de los individuos infectados.

2)- No existe transmisión horizontal.

3)- El apareamiento ocurre al azar en la población.

4)- La infección tiene efectos similares en machos y hembras.

Parámetros del sistema (ver Materiales y Métodos):

d: tasa de transmisión vertical materna

v: tasa de transmisión vertical paterna

α: fertilidad relativa dependiente de la infección

β: tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección

A través de este conjunto de parámetros que mide la

capacidad de la población de transmitir verticalmente la infección (d y v) y los efectos de ésta sobre la reproducción y sobrevida del huésped (α y β) es factible construir un algoritmo que nos permita establecer la capacidad de la transmisión vertical para sostener la prevalencia de la infección en la especie huésped a través del tiempo.

Se considera una infección (A) presente en una proporción B_a de los individuos adultos de una población de reproducción sexual (B). La proporción complementaria, $1-B_a$, mide la proporción de individuos libres de infección.

En la Figura I se indica en un diagrama de Venn las distintas probabilidades de transmisión vertical de la infección. El eje vertical izquierdo del diagrama representa la proporción de hembras no infectadas, $1-B_a$ e infectadas, $B_a\alpha$, capaces de dejar descendencia. Por lo tanto, el número de progenie nacida de hembras infectadas y no infectadas guardará la relación $B_a\alpha/1-B_a$. Del número de crías nacidas de hembras infectadas, sólamente una fracción recibirá la infección; la magnitud de la transmisión es medida por d, la proporción de progenie nacida infectada será, entonces, $B_a\alpha d$. Esta situación se indica sobre el eje

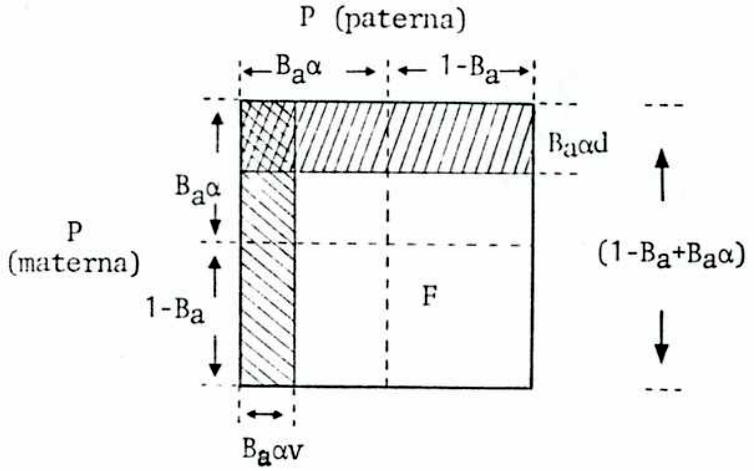

Figura I.--Diagrama de Venn que ilustra la relación entre las tasas de infección parental (P) y las de su progenie (F). La prevalencia de infección en la generación parental es B_a. El área del diagrama representa la progenie total nacida infectada (área rayada) y no infectada (área blanca). Símbolos: α = tasa de fertilidad relativa dependiente de la infección; β = tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección; d,v = tasas de transmisión vertical de la infección, materna y paterna, respectivamente.

vertical derecho de la Figura I. De modo semejante, sobre los ejes superior e inferior se indican las proporciones de machos no infectados, $1-B_a$ e infectados, $B_a\alpha$, capaces de dejar descendencia (eje superior) y la proporción de progenie nacida infectada, $B_a\alpha v$, a través de transmisión patroclinal (eje inferior).

Es importante notar que cada uno de los lados del diagrama de la Figura I es igual a $(1-B_a+B_a\alpha)$ y su área total, $(1-B_a+B_a\alpha)^2$, representa el número total de progenie nacida.

Las líneas punteadas dibujadas ortogonalmente en el diagrama dividen a la población filial de acuerdo a la infección de sus progenitores. Sólamente la progenie representada en el área por debajo y a la derecha de estas líneas descenderá de padres no infectados. El área restante representa la proporción de progenie nacida de por lo menos un padre infectado; sin embargo, no toda esta progenie recibirá la infección. La proporción de progenie nacida infectada corresponde al área delimitada por las líneas llenas. El área rayada representa, entonces, la proporción de progenie nacida infectada (P_i). Esta porporción puede expresarse como el cociente entre las áreas rayada y total:

$$P_i = \frac{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha) + B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)}{(1-B_a+B_a\alpha)^2} \qquad (1)$$

y la proporción de progenie no infectada, P_{ni}, será el complemento de P_i:

$$P_{ni} = \frac{(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\ (1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha v)}{(1-B_a+B_a\alpha)^2} \qquad (2)$$

Estas proporciones pueden no corresponder a las proporciones de adultos infectados y no infectados que alcancen la madurez sexual debido a la mortalidad diferencial entre ambas clases de individuos; es decir, la tasa de sobrevida relativa dependiente de la infección, β, puede ser distinta de la unidad. Si definimos B'_a como la tasa de prevalencia de infección entre los adultos de la generación filial, ésta puede expresarse como:

$$B'_a = \frac{\beta P_i}{\beta P_i + P_{ni}} \qquad (3)$$

Reemplazando en (3), por las expresiones (1) y(2):

$$B'_a = \frac{\beta\{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha)+B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\}}{\beta\{B_a\alpha d(1-B_a+B_a\alpha)+B_a\alpha v(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)\}+ +(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha d)(1-B_a+B_a\alpha-B_a\alpha v)}$$

Esta expresión constituye la "ecuación fundamental de la transmisión vertical" y permite para un conjunto

dado de valores de B_a, α, β, d y v estimar la posibilidad de que un patógeno pueda ser mantenido a través del tiempo sólo por transmisión vertical. Es decir, es posible predecir si una asociación huésped-patógeno es del Tipo IIa (ver Introducción: Clasificación de los sistemas de transmisión) en el cual sólo hay transmisión vertical. Si la persistencia del patógeno en el tiempo es factible sólo por este mecanismo, la iteración repetida de la ecuación fundamental convergerá en una asíntota superior a cero en la cual $B_a = B'_a$. Tal asíntota puede analizarse sustituyendo B'_a por B_a en la ecuación fundamental y resolviendo para B_a. De este modo, se obtiene una ecuación cuadrática:

$$B_a^2\{(\beta\alpha^2-\alpha^2)(d+v-dv)-(\beta\alpha-\alpha)(d+v)+(\alpha-1)^2\}+$$
$$+B_a\{(2\beta\alpha-\alpha)(d+v)-\beta\alpha^2(d+v-dv)+2\alpha-2\}+$$
$$+ 1-\beta\alpha d-\beta\alpha v = 0$$

Si un determinado conjunto de valores α, β, d y v fuera compatible con una transmisión Tipo IIa, por lo menos una raíz de la ecuación cuadrática estaría entre 0 y 1. De igual modo, si el término constante de la ecuación, $(1-\alpha\beta d-\alpha\beta v)$, fuera igual a cero, una de las raíces será igual a cero. Entonces:

si $1 - \alpha\beta d - \alpha\beta v = 0$

$\alpha\beta(d + v) = 1$

Cualquier incremento del producto $\alpha\beta(d+v)$ por encima de 1 equivale a mover una raíz de la ecuación cuadrática por encima de cero. Por lo tanto, este producto nos informa de la condición suficiente para mantener un sistema de transmisión del Tipo IIa y se define como " eficacia simbiótica " ("symbiote fitness") donde el término simbiótico se considera en sentido amplio e incluye el mutualismo, comensalismo y parasitismo. Un agente infeccioso podrá mantenerse sólo por transmisión vertical si:

$\alpha\beta(d + v) > 1$

Esta definición de eficacia simbiótica tiene una profunda implicancia dado que estipula que un agente infeccioso puede mantenerse por transmisión vertical sólamente, aun cuando pueda impartir cierta desventaja a su huésped (es decir, $\alpha<1$ y/o $\beta<1$), siempre que las tasas de transmisión sean suficientes para hacer el producto $\alpha\beta(d+v)$ mayor a la unidad.

En la Figura II se grafica el producto $\alpha\beta$ en función de la tasa de transmisión biclinal $(d + v)$. Esta última nunca excede de 2. El producto $\alpha\beta$ mide el efecto neto de la infección sobre la fertilidad y sobrevida del huésped,

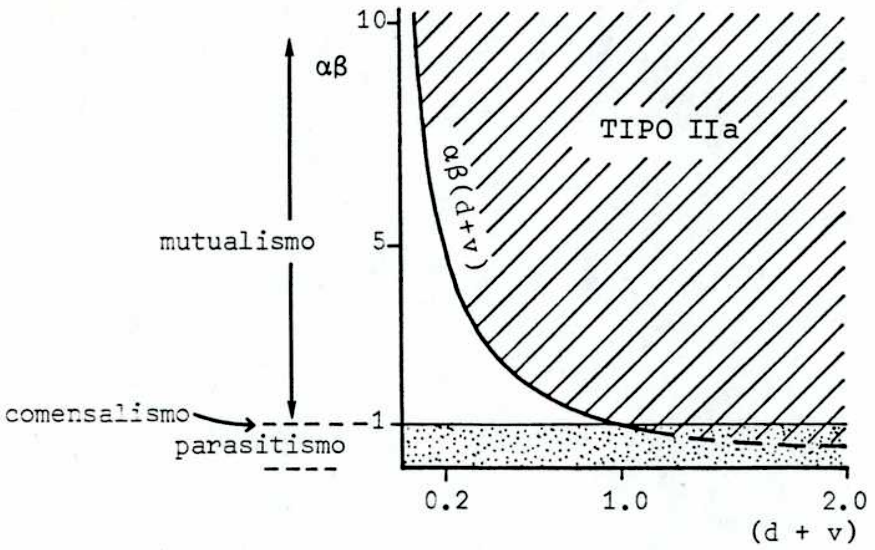

Figura II.--Representación gráfica de la eficacia simbiótica.

de tal modo que, si:

a)- $\alpha\beta > 1$, la infección provee cierta ventaja selectiva al huésped y la asociación puede definirse como mutualismo.

b)- $\alpha\beta = 1$, no hay efecto selectivo y la asociación puede denominarse comensalismo.

c)- $\alpha\beta < 1$, la infección provoca una desventaja selectiva y la asociación se denomina parasitismo.

El área rayada (Fig. II) que implica $\alpha\beta(d+v)>1$ cubre las combinaciones compatibles con el mantenimiento a través de transmisión vertical sólamente, y puede manifestarse en asociaciones mutualistas, comensalistas y parasitarias. El área por debajo de la curva, $\alpha\beta(d+v)<1$ cubre las situaciones en que la transmisión vertical por sí misma no es suficiente para sostener la asociación a través del tiempo y requiere de la transmsión horizontal.

Finalmente, el modelo permite cuantificar la medida en que la transmisión horizontal es necesaria cuando la transmisión vertical resulta insuficiente para estabilizar la tasa de prevalencia de la infección. La diferencia entre las tasas de prevalencia de infección de dos generaciones sucesivas, obtenidas mediante la ecua-

ción fundamental, es una medida del déficit de la transmisión vertical que deberá cubrir la transmisión horizontal para estabilizar la prevalencia de infección. Por lo tanto, se puede cuantificar la incidencia neta de la transmisión horizontal (H*) como:

$$H^* = B_a - B'_a / 1 - B'_a$$

donde el denominador indica la proporción de individuos susceptibles de la generación filial capaces de incrementar la tasa de prevalencia de infección, por contagio horizontal.

APENDICE II

CITOTAXONOMIA DEL GENERO *CALOMYS*

- Ubicación taxonómica del género *Calomys*

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Superfamilia: Muroidea

Familia: Cricetidae

Subfamilia: Sigmodontinae

El género *Calomys* ha sido revisado taxonómicamente por diferentes autores que han asignado al mismo distintos números de especies (Thomas, 1916; Tate, 1932; Ellerman, 1941 Cabrera, 1961; Hershkovitz, 1962; Honacki et al., 1982; Reig, 1984a). En los últimos años los estudios citogenéticos han mostrado ser una herramienta útil en la distinción de las especies de este género (Pearson y Patton, 1976; Reig, 1984; Vitullo et al., 1989). La identificación de las especies del género que actúan como reservorios naturales del virus Junín se enfrentó al inconveniente planteado por la clasificación realizada por Hershkovitz por esa época (ver Introducción). No obstante, en años posteriores se demostró a través de distintos estudios que la distinción de especies realizada por Thomas a principios de siglo era

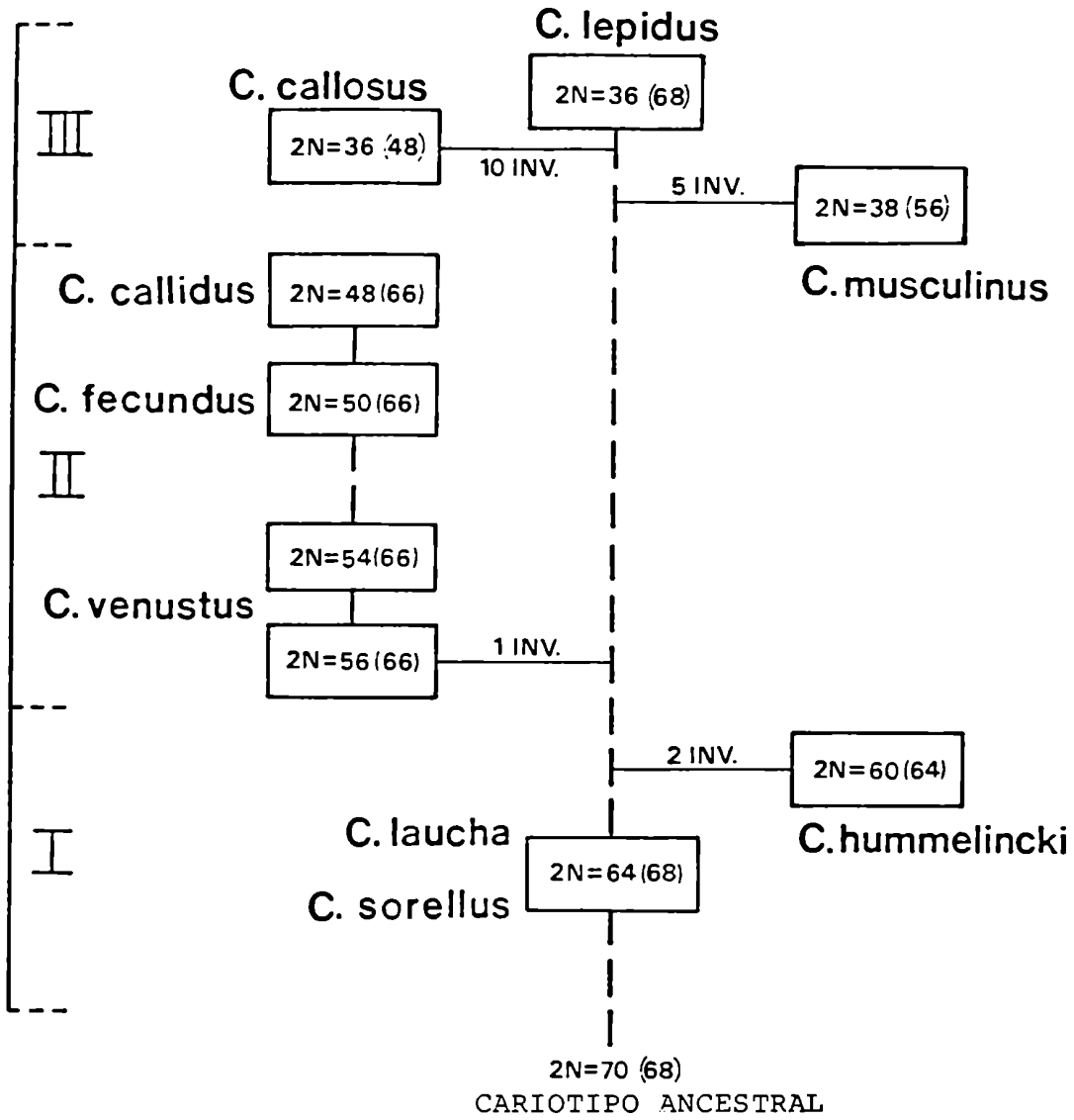

Figura A.--Evolución cromosómica en el género *Calomys* a partir de un cariotipo ancestral de 70 cromosomas telocéntricos, por medio de cambios robertsonianos. Cada línea verical indica una fusión robertsoniana, las líneas horizontales representan inversiones pericéntricas. Los números entre paréntesis indican el número fundamental autosómico, NF_a= número de brazos cromosómicos de todo el complemento excluyendo a los cromosomas sexuales. Los números romanos se refieren al agrupamiento de las especies de acuerdo a sus características cariológicas y al grado de transformación del cariotipo ancestral (ver texto). 2N = número diploide.

mucho más consistente y ajustada a la diversidad del género que muchas revisiones recientes (Reig, 1984; Vitullo et al., 1989).

Una revisión reciente de la citogenética del género ha llevado a distinguir tres grupos de especies según sus características cariológicas (número diploide, número fundamental, morfología cromosómica) (Vitullo et al. 1989). A partir de un cariotipo ancestral de 2n 70 cromosomas telocéntricos (Pearson y Patton, 1976) es factible derivar los cariotipos conocidos del género a través de mecanismos de fusión robertsoniana (Fig. A). Mediante este camino básico de transformación cromosómica las especies de *Calomys* conforman tres grupos: grupo I con especies con cariotipos muy próximos al ancestral, grupo II que incluye especies con número diploide intermedio en el rango conocido para el género y el grupo III formado por las especies con cariotipos más transformados a partir del ancestro hipotético (Fig. A). Es de notar que a este último grupo pertenecen las dos especies naturalmente asociadas a arenavirus del complejo Tacaribe, patógenos para el hombre, *C. callosus* y *C. musculinus*.

AGRADECIMIENTOS

A Susana Merani, por su dirección canalizada en la libertad de expresión y creación indispensables para el desarrollo de este trabajo

A Mercedes Weissenbacher, por su apoyo y su estímulo constantes y oportunos

A Christiane Pasqualini que, amablemente, me ha brindado su tiempo para discutir parte de este trabajo

A Eduardo Roldán, entrañable amigo, que me ha provisto desde el extranjero con abundante material bibliográfico y ha alentado siempre mi trabajo

A Cristina Videla, capaz de otorgar gran importancia y todo su interés a mis dudas, cavilaciones, ideas y desencantos, por su invalorable calidez personal

A María Beatriz Espinosa que, incluso en los tiempos de guerra fría, no puede ocultarme su temperamental estímulo y compañerismo

A Vida Hodara con quien he compartido los primeros años de este trabajo (por suerte antes que le atacara el síndrome de las llaves de los bacines) y ha mostrado siempre su mejor disposición para proveerme de animales de las colonias normales y para el trabajo en conjunto

A Beatriz Ebekián quien, aunque se interpongan sillas destartaladas y borras de café, no ha mezquinado nunca su desinteresado apoyo

A Daniel Rabinovich que, a pesar de su claustrofobia cósmica, está siempre dispuesto a debatir y apoyar ideas

A Horacio Salomón, por su inapreciable disposición a las causas comunes, aunque sean perdidas

A Claudio Gómez, por su eficiente ayuda en el cuidado y mantenimiento de los animales infectados

A mis compañeros Alejandra Goldman, Paula Bruner, Roxana Aramburú y Rafael Repetto que en distintos momentos han pasado por el laboratorio y con quienes he tenido el gusto de compartir el trabajo cotidiano

A las sucesivas responsables de la sección Cultivo de Tejidos, Pierrette Palade y Carmen Ricarte, quienes (alcalinidades irresueltas de por medio, en el primer caso), siempre me han provisto del material necesario

Al personal de los bioterios, Ester Tolivia y Valentín Gómez, por su colaboración en el cuidado de los animales

A quienes, por un involuntario y detestable olvido, pueda dejar de mencionar

E incluso a quienes con sus "malas ondas", a veces materializadas, han provisto la necesaria, aunque abominable, contraparte que, aun en la intención de entorpecer, refuerza las ideas y las posiciones

A todos ellos, GRACIAS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la disponibilidad ofrecida por el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina y el apoyo económico brindado por SECYT, CONICET, IGIA y Fundación Emilio Ocampo mediante subsidios otorgados a la Dra. M.S. Merani

BIBLIOGRAFIA

AIZAWA, K. 1963. The nature of infections caused by nuclear polyhedrosis viruses. En: Insect Pathology--An Advanced Treatise. EA Steinhaus (Ed). Academic Press. pp. 381-412.

ALCHE, LE; COTO, CE. 1986. Antigenic variants of Junin virus isolated from infected Calomys musculinus. Arch. Virol. 90: 343-348

ANDERSON, RM; MAY, RM. 1979. Population Biology of infectious diseases. Part I. Nature 280: 361-367

ANDREWES, CH. 1957. Factors in virus evolution. Advan. Virus Res. 4: 1-24

ANON, MC; GRAU, O; MARTINEZ-SEGOVIA, Z; FRANZE-FERNANDEZ, MT. 1976. RNA composition of Junin virus. J. Virol. 18: 833-838

ARATA, AA; GRATZ, NG. 1975. The structure of rodent fauna associated with arenaviral infection. Bull. WHO 52: 621-627

ARMSTRONG, C; LILLIE, RD. 1934. Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic. Public Health Rep. 49: 1019-1027

ARRIBALZAGA, RA. 1955. Una nueva enfermedad epidémica a germen desconocido: hipertermia nefrotóxica, leucopénica y enantemática. Día Médico 27: 1204-1210

BAER, GM. 1975. The natural history of rabies. Vol II. Academic Press, New York.

BENTZELVEN, P; DAAMS, JH; HAGEMAN, P. 1970. Genetic transmission of viruses that incite mammary tumor in mice. Proc. Natl. Acad. Scien. USA 67: 377-384

BENVENISTE, RE; LIEBBER, MM; LIVINGSTON, DM; SHERR, CJ; TODARO, G; KALTER SS. 1974. Infectious C-type virus isolated from a baboom placenta. Nature 248: 17-19

BISHOP, DHL. 1986. Arenaviruses have ambisense S-RNA. Med. Microbiol. Immunol. 175: 61-62

BLACK, V. 1974. Virus particles in primordial germ cells of fetal guinea pigs. J. Natl. Cancer Inst. 52: 545-551

BOWEN, RA. 1979. Viral infection of mammalian preimplantation embryos. Theriogenology 11: 5-15

BOXACA, MC; GIOVANNIELLO, OA; NOTA, NR; NEJAMKIS, MR; GUERRERO, LB; FRIGERIO, MJ. 1973. Estudio de la infección experimental del ratón por virus Junín. Cuadro clínico y susceptibilidad. Rev. Asoc. Arg. Microbiol. 5: 2-11

BUCHMEIER, MJ; OLDSTONE, MBA. 1979. Protein structure of lymphocytic chroriomeningitis virus: evidence for a cell-associated precursor of the virus glycopeptides. Virology 99: 111-120

BUCHMEIER, MJ; ELDER, JH; OLDSTONE, MBA. 1978. Protein structure of lymphocytic choriomeningitis virus: identification of the virus structural and cell associated polypeptides. Virology 89: 133-145

BUCHMEIER, MJ; WELSH, R; DUTKO, F; OLDSTONE, MBA. 1980. The virology and immunobiology of lymphocytic choriomeningitis virus infection. Adv. Immunol. 30: 275-331

BUCHNER, P. 1965. Endosymbiosis of animals with plant microorganisms. Interscience Publishers. New York, NY.

BURGDORFER, W. 1963. Investigation of "transovarial transmission" of Rickettsia rickettsii in the wood tick, Dermacentor andersoni. Exp. Parasitol. 14: 152-159

BURGDORFER, W; VARMA, MGR. 1967. Trans-stadial and transovarial development of diseases agents in arthropods. Ann. Rev. Entomol. 12: 347-376

BURNET, FM; FENNER, F. 1949. The production of antibodies. Mac. Millan (Ed). Melbourne.

CABRERA, A. 1961. Catálogo de los mamíferos de América del Sur. Rev. Mus. Arg. Cs. Nat., Zool. 4: 1-732

CALARCO, P; SZOLLOSI, D. 1973. Intracisternal A particles in ova and preimplantation stages of the mouse. Nature, New Biol. 243: 91-93

CALISHER, CH; TZIANABOS, T; LORD, RD; COLEMAN, PH. 1970. Tamiami virus, a new member of Tacaribe group. Am. J. Trop. Med. Hyg. 19: 520-526

CARBALLAL, G; VIDELA, CM; MERANI, MS. 1988. Epidemiology of Argentine Hemorrhagic Fever. Eur. J. Epidemiol. 4: 259-274

CARBALLAL, G; COSSIO, PM; RABINOVICH, A; OUBIÑA, J; ARANA, RM. 1980. Description of a BHK-21 cell line persistently infected with Junin virus: its use in diagnostic procedures. Intervirology 14: 173-181

CARTER, MF; BISWAL, N; RAWLS, WE. 1973. Characterization of nucleic acid of Pichinde virus. J. Virol. 11: 61-68

CASALS, J. 1982. Arenaviruses. En: "Infections of Human. Epidemiology and Control. Evans, AS (Ed). Plenum Publishing Co., New York, London. pp. 127-150

CASALS, J; BUCKLEY, SM; CEDENO, R. 1975. Antigenic properties of the arenaviruses. Bull. WHO 52: 421-427

CINTORA, A. 1977. Formas clínicas de la FHA. Ciencia e Investigación 33: 255-264

COMPANS, RW; BISHOP, DHL. 1985. Biochemistry of Arenaviruses. Current Topics Microbiol. Immunol. 114: 153-175

CORTI, M; MERANI, MS; DE VILLAFAÑE, G. 1987. Multivariate morphometrics of Vesper mice (Calomys): a preliminary assessement of species, population and strain divergence. Z. Saugetierkunde 52: 236-242

COULOMBIE, FC; COTO, CE. 1985. Efecto de la ciclofosfamida en el desarrollo de la infección de Calomys musculinus con virus Medicina 45: 487-488

COULOMBIE, FC; LAGUENS, RM; COTO, CE. 1986. Administration of anti-thymocite serum modifies the response of Calomys musculinus to Junin virus infection. Intervirol. 25: 56-60

CHASE, DG; PIKO, L. 1973. Expression of A- and C-type particles in early mouse embryos. J. Natl. Cancer Inst. 51: 1971-1975

DE VILLAFAÑE, G. 1981. Reproducción y crecimiento de Calomys musculinus murillus (Thomas, 1916). Hist. Nat. 1: 237-256

DE VILLAFAÑE, G; BONAVENTURA, SM. 1987. Ecological studies in crop fields of the endemic area of Argentine hemorrhagic fever. Calomys musculinus movements in relation to habitat and abundance. Mammalia 51: 235-248

DI STEPHANO, HS; DOUGHERTY, RM. 1966. Mechanism of congenital transmission of avian leukosis virus. J. Natl. Cancer Inst. 37: 869-875

DOWNS, WG; ANDERSON, CR; SPENCE, L; AITKEN, THG; GREENHALL, A. 1963. Tacaribe virus: a new agent isolated from Artibeus bats and mosquitoes in Trinidad, West Indies. Am. J. Trop. Med. Hyg. 12: 640-646

ELLERMAN, JR. 1941. The families and genera of living rodents. British Museum (Nat. Hist.) 2: 1-690

FEKETE, E; OTIS, HK. 1954. Observations on leukaemia in AKR mice born from transferred ova and nursed by low leukaemia mothers. Cancer Res. 14: 445-447

FENNER, F. 1976. Classification and nomenclature of viruses. Second Report of the International Commitee on Taxonomy of Viruses. Intervirology 7: 1-

FENNER, F; RATCLIFFE, FN. 1965. Myxomatosis. Cambridge University Press. Cambridge, UK.

FINE, PEM. 1975. Vectors and vertical transmission: An epidemiologic perspective. Ann. N. Y. Acad. Sci. 266: 173-194

FINE, PEM; SYLVESTER, ES. 1978. Calculation of vertical transmission rates of infection, illustrated with data on an aphid-borne virus. Am. Nat. 112: 781-786

FORCONE, AE; LUNA, MV; KRAVETZ, FO; LISANTI, JA. 1980. Bandas C y G de Calomys musculinus (Rodentia, Cricetidae). Mendeliana 4: 57-65

FRAME, JD; BALDWIN, JM; GOCKE, DJ; TROUP, JM. 1970. Lassa Fever: a new virus disease of man from West Africa. I. Clinical description and pathological findings. Am. J. Trop. Med. Hyg. 19: 670-676

GANGEMI, JD; ROSATO, RR; CONNELL, EV; JOHNSON, EM; EDDY, GA. 1978. Structural polypeptides of Machupo virus. J. Gen. Virol. 41: 183-188.

GARD, GP; VEZZA, AC; BISHOP, DHL; COMPANS, RW. 1977. Structural proteins of Tacaribe and Tamiami virions. Virology 83: 84-89

GARDENAL, CN; TRIAY DE JUAREZ, N; GUTIERREZ, M; SABATTINI, MS. 1977 Contibución al conocimiento de tres especies del género Calomys (Rodentia, Cricetidae). I. Estudios citogenéticos. Physis, secc. C, 36: 169-178

GIMENEZ, HB; COMPANS, RW. 1980. Defective-interfering Tacaribe virus and persistently infected cells. Virology 83: 84-95

GONSALEZ, JP; McCORMICK, JB; SALUZZO, JF; HERVE, JP; GEORGES, AJ; JOHNSON, KM. 1983. An arenavirus isolated from wild caught rodents (Praomys sp.) in the Central African Republic. Intervirology 19: 105-112

GRAU, O; FRANZE-FERNANDEZ, MT; ROMANOWSKI, V; RUSTICI, SM; ROSAS, MF. 1981. Junin virus structure. En: The replication of negative strand viruses. Bishop and Compans (Eds). Elsevier, NY. pp. 11-14

GROSS, L. 1949. The vertical epidemic of mammary carcinoma in mice-its possible implication for the problem of cancer in general. Surg. Gynecol. Obstet. 88: 295-308

GROSS, L. 1951. Pathogenic properties and vertical transmission of the mouse leukemia agent. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78: 342-348

GUTTERIDGE, WE; McADAM, RF. 1971. An electron microscopic study of the bipolar body in Crithidia oncopelti. J. Protozool. 18: 637-640

GWATKIN, RBL. 1963. Effect of viruses on early mammalian development I. Action of Mengo encephalitis virus on mouse ova cultivated in vitro. Proc. Natl. Acad. Sci. 50: 576-581

HARNISH, DG; LEUNG, WC; RAWLS, WE. 1981a. Characterization of polypeptides immunoprecipitable from Pichinde virus-infected BHK-21 cells. J. Virol. 38: 840-848

HARNISH, DG; DIMOCK, K; LEUNG, WC; RAWLS, WE. 1981b. Immunoprecipi-- table polypeptides in Pichinde virus-infected BHK-21 cells. En: The replication of negative strand viruses. Bishop and Compans (Eds). Elsevier, NY. pp. 23-29

HERSHKOVITZ, P. 1962. Evolution of Neotropical cricetine rodents (Muridae) with special reference to the phyllotine group. Field. Zool. 46: 1-542

HODARA, VL. 1987. Cricétidos involucrados en la transmisión del virus Junín: su biología en condiciones de laboratorio. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. 109 pp.

HODARA, VL; KAJON, AE; QUINTANS, C; MONTORO, L; MERANI, MS. 1984. Parámetros métricos y reproductivos de Calomys musculinus (Thomas 1913) y Calomys callidus Thomas, 1916 (Rodentia, Cricetidae). Rev. Mus. Arg. Cs. Nat., Zool. 13: 453-459

HONACKI, JH; KINMAN, KE; KOEPPL, JW. 1982. Mammal species of the world A taxonomic and geographical reference. Lawrence, Ka. Allen Press and Ass. Systematic Coll.

HOWARD, C. 1986. Arenaviruses, Natural History. En: Perspectives in Medical Virology. AJ. Zuckerman (Ed) Vol. 2. pp. 9-25

JOHNSON, KM; HALSTEAD, SB; COHEN, SN. 1967. Hemorrhagic fevers of Southeast Asia and South America: A comparative appraisal. Prog. Med. Virol. 9: 105-158

JOHNSON, KM; WEBB, PA; JUSTINES, G. 1973. Biology of Tacaribe complex viruses. En: Lymphocytic Choriomeningitis virus and other arenaviruses. Lehmann-Grube (Ed). Springer-Verlag, NY. pp. 241-258

JOHNSON, KM; KUNS, ML; MACKENZIE, RB; WEBB, PA; YUNKER, CE. 1966. Isolation of Machupo virus from wild rodent Calomys callosus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 15: 103-106

KALTER, SS; PANIGEL, M; KRAEMER, DC; HEBERLING, RL; HELMKE, RJ; SMITH, GC, HELLMAN, A. 1974. C-type particles in baboon (Papio cyanocephalus) preimplantation embryos. J. Natl. Cancer Inst. 52: 1927-1928

KERZEL, HA; JEPPESEN, TH. 1972. Virus like-particles in guinea pigs oogonia and oocytes. J. Natl. Cancer Inst. 49: 1403-1405

KILEY, MP; TOMORI, O; REGNERY, RL. 1981. Characteriztion of the arenaviruses Lassa and Mozambique. En: The replication of negative strand viruses. Bishop, DHL y Compans, RW (Eds). NY. Elsevier North Holland Inc. pp 1-9

KILEY, MP; BOWEN, ETW; EDDY, GA; ISAACSON, M; JOHNSON, KM; McCORMICK, JB; MURPHY, FA; PATTYN, SR; PETERS, D; PROZESKY, OW; REGNERY, RL; SIMPSON, DH; SLENCZKA, W; SUREAU, P; VAN DER GROEN, G; WEBB, PA; WULFF, H. 1982. Filoviridae: taxonomic home for Marburg and Ebola viruses. Intervirology 18: 24-32

LAGUENS, RM; LAMPURI, JS; COTO, CE; LAGUENS, RP. 1982a. Patología de la infección persistente del Calomys musculinus con una cepa atenuada del virus Junín. Medicina 42: 273-279

LAGUENS, RM; LAMPURI, JS; CANDURRA, N; COTO, CE; LAGUENS, RP. 1982b. Producción de meningoencefalitis en el Calomys musculinus adulto por la infección por vía nasal con la cepa XJ Clon 3 del virus Junín. III Cong. Arg. Microbiol. (Resumen 176)

LAMPURI, JS; COTO, CE. 1982. Responsabilidad de las variantes serológicas en la infección crónica con virus Junín. Medicina 42: 273-278

LAMPURI, JS; VIDAL, MC; COTO, CE. 1982. Respuesta del Calomys musculinus a la infección experimental con virus Junín. Medicina 42: 61-66

L'HERITIER, P. 1970. Drosophila viruses and their role as evolutionary factors. Evolution Biol. 4: 185-209

L'HERITIER, P. 1971. Les rélations du virus héréditaire de la drosophile avec son hote. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 46: 173-178

MAIZTEGUI, JI. 1975. Clinical and epidemiological patterns of Argentine Hemorrhagic Fever. Bull. WHO 52: 567-575

MAIZTEGUI, JI; SABATTINI, MS. 1977. Extensión progresiva del área endémica de Fiebre Hemorrágica Argentina. Medicina 37: 162-166

MAIZTEGUI, JI; FERNANDEZ, MJ; DAMILANO, AJ. 1979. Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine Hemorrhagic Fever and association between treatment and a late neurological sybdrome. Lancet VIII: 1216-1217

MARTINEZ-PERALTA, L; COSSIO, PM; SABATTINI, MS; MAIZTEGUI, JI; ARANA, RM; LAGUENS, RP. 1979. Ultrastructural, immunihistochemical and virological studies in organs of Calomys musculinus infected with Junin virus by natural routes. Medicina 39: 213-217

MARTINEZ-SEGOVIA, Z; DE MITRI, MI. 1977. Junin virus structural proteins. J. Virol. 21: 579-583

MASSOIA, E; FORNES, A; WAINBERG, RL; FRONZA, TG. 1968. Nuevos aportes al conocimiento de las especies bonaerenses del género Calomys. Rev. Inv. Agropec. INTA, Ser. Biol. Prod. Anim. 5: 63-92

MERANI, MS; CALELLO, MA; MONTORO, L; WEISSENBACHER, MC. 1983. Acción del virus Junín sobre los parámetros reproductivos de ratones genéticamente atímicos. I Cong. Arg. Virología, Buenos Aires.

MERANI, MS; HODARA, VL; ROLDAN, ERS; QUINTANS, C. 1988. Reproductive apects of Calomys musculinus and Calomys callidus under laboratory conditions. Lab. Anim. (En prensa)

METTLER, NE; CASALS, J; SHOPE, RE. 1963. Study of antigenic relationships between Junin virus, the etiological agent of Argentinian Hemorrhagic Fever, and other arthropod-borne viruses. Am. J. Trop. Med. Hyg. 12: 647-652

MIMS, CA. 1966. Immunofluorescent study of the carrier state and mechanism of vertical transmission of lymphocytic choriomeningitis virus infection in mice. J. Pathol. Bacteriol. 91: 395-402

MIMS, CA. 1968. Pathogenesis of viral infections of the foetus. Prog. Med. Virol. 10: 194-237

MIMS, CA. 1969. Effect on the foetus of maternal infection with lymphocytic choriomeningitis (LCM) virus. J. Infect. Dis. 120: 582-597

MIMS, CA. 1981. Vertical transmission of viruses. Microbiol. Rev. 45: 267-286

MULCAHY, D; PASCHO, RJ. 1984. Adsorption to fish sperm of vertically transmitted fish viruses. Science 225: 333-335

MURPHY, FA; WHITFIELD, SG. 1975. Morphology and morphogenesis of arenaviruses. Bull. WHO 52: 409-420

MURPHY, FA; WHITFIELD, SG; WEBB, PA; JOHNSON, KM. 1973. Ultrastructural studies of arenaviruses. En: Lymphocytic Choriomeningitis Virus and other arenaviruses. Lehmann-Grube (Ed). Springer Verlag N. York pp. 273-285

MURPHY, FA; WEBB, PA; JOHNSON, KM; WHITFIELD, SG; CHAPPELL, WA. 1970. Arenoviruses in Vero cells: Ultrastructural studies. J. Virol 6: 507-518

PARODI, AS; GREENWAY, DJ; RUGGIERO, HR; RIVERO, E; FRIGERIO, MJ; METTLER, NE; GARZON, F; BOXACA, MC; GUERRERO, LB; NOTA, NR. 1958. Sobre la

etiología del brote epidémico de Junín. Día Médico 30: 2300-2302

PASTEUR, L. 1870. Etudes sur la maladie des Vers a Soie. Paris, France Citado por Fine, 1975.

PEARSON, OP; PATTON, JL. 1976. Relationships among South American Phyllotine rodents based on chromosome analysis. J. Mammalogy 57: 339-350

PEDERSEN, IR. 1973. LCM viruses: Its purification and its chemical and physical properties. En: Lymphocytic Choriomeningitis Virus and other arenaviruses. Lehmann-Grube (Ed). Springer Verlag. N. York pp. 13-23

PINHEIRO, FP; WOODALL, JP; TRAVASSOS DA ROSA, APA; TRAVASSOS DA ROSAS, JF. Studies on arenaviruses in Brazil. Medicina 37: 175-181

PINHEIRO, FP; SHOPE, RE; DE ANDRADE, AHP; BENSABETH, G; CACIOS, VG; CASALS, J. 1966. Amapari: a new virus of the Tacaribe group from rodents and mites of Amapa territory, Brazil. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 122: 531-535

PIROSKY, I; ZUCCARINI, J; MOLINELLI, EA; DI PIETRO, A; BARRERA ORO, JG; MARTINI, P; COPELLO, AR. 1959. Virosis hemorrágica del noroeste bonaerense; endemo-epidémica, febril, enantemática y leucopénica. Mtrio. Asist. Social y Salud Púb. Inst. Nac. Microbiol. pp 1-197

RAMOS, BA; COURTNEY, RJ; RAWLS, WE. 1972. Sturctural proteins of Pichinde virus. J. Virol. 10: 661-667

RAPMUND, G; UPHAM, RW; KUNDIN, WD; MANIKUMARAN, C; CHAN, TC. 1969. Trans-ovarial development of scrub typhus rickettsiae in a colony of vector mites. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 63: 251-258

REIG, OA. 1980. Teoría del origen y desarrollo de la fauna de mamíferos de América del Sur. Monografías Naturae. Mus. Municipal de Cienc. Naturales, Lorenzo Scaglia, Mar del Plata, Argentina. 159 pp.

REIG, OA. 1984. Significado de los métodos citogenéticos para la distinción y la interpretación de las especies, con especial referencia a los mamíferos. Rev. Mus. Arg. Cs. Nat., Zool. 13: 11-42

REIG, OA. 1984a. Distribucao geografica e história evolutiva dos roedores muroideos Sulamericanos (Cricetidae: Sigmodontinae). Rev. Brasil. Genet. VII, 2: 333-365

RIVERS, TM; SCOTT, TFM. 1935. Meningitis in man caused by a filterable virus. II. Identification of the etiological agent. J. Exp. Med. 63: 415-532

ROLDAN, ERS; VITULLO, AD; VON LAWZEWITSCH, I. 1983. Morfología de los espermatozoides de tres especies del género Calomys (Rodentia, Cricetidae). IX Cong. Latinoam. Zool., Arequipa, Perú.

ROLDAN, ERS; MERANI, MS; VITULLO, AD; VON LAWZEWITSCH, I. 1984. Interspecific fertilization between Calomys callidus and Calomys musculinus (Rodentia, Cricetidae). Com. Biol. 2: 359-369

ROLDAN, ERS; VITULLO, AD; MERANI, MS; VON LAWZEWITSCH, I. 1985. Cross fertilization in vivo and in vitro between species of vesper mice, Calomys (Rodentia, Cricetidae). J. Exp. Zool. 233: 433-442

ROSEN, L; TESH, RB; LIEN, JC; CROSS, JH. 1978. Transovarial transmission of Japanese encephalitis virus by mosquitoes. Science 199: 909-911

ROSS, J; SANDERS, MF. 1984. The development of genetic resistence to myxomatosis in wild rabbits in Britain. J. Hyg. 92: 255-261

ROWE, WP; MURPHY, FA; BERGOLD, GH; CASALS, J; HOTCHIN, J; JOHNSON, KM; LEHMANN-GRUBE, F; MIMS, CA; TRAUB, E; WEBB, PA. 1970. Arenoviruses: proposed name for a newly defined virus group. J. Virol. 5: 651-652

RUGGIERO, HA. 1977. Tratamiento de la FHA. Ciencia e Investigación 33: 275-282

SABATTINI, MS; CONTIGIANI, MS. 1982. Ecological and biological factors influencing the maintenance of arenaviruses in nature, with special reference to the agent of Argentine Hemorrhagic Fever. Int. Symp.

Trop. Arbovir. Hemor. Fevers. Academia Brasileira de Ciencias, Rio de Janeiro. pp. 251-262

SABATTINI, MS; GONZALEZ, LE; CRESPO, JA. 1967. Aislamiento de virus Junín en roedores silvestres de la provincia de Córdoba. Segundas Jorn. Entomoepidemiológicas Arg. 3: 365-373

SABATTINI, MS; GONZALEZ DE RIOS, L; DIAZ, G; VEGA, VR. 1977. Infección natural y experimental de roedores con virus Junín. Medicina 37: 149-161

SCHLIDOVSKY, G; AHMED, M. 1973. C-type virus particles in placentas and fetal tissues of Rhesus monkeys. J. Natl. Cancer Inst. 51: 225-229

SHOPE, RE. 1941. The swine lungworm as a reservoir and intermediate host for swine influenza virus. II. The transmission of swine influenza virus by the swine lungworm. J. Exp. Med. 74: 49-68

SINGH, EL; THOMAS, FC; PAPP-VID, G; EAGLESOME, MD; HARE, WDC. 1982. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. II. The in vitro exposure of preimplantation bovien embryos to infectious bovine rhinotracheitis virus. Theriogenology 18: 133-140

SMITH, T; KILBOURNE, FL. 1893. Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas Southern cattle fever. U.S. Dept. Agr. Bur. Anim. Ind. Bull. N° 1. Washington DC.

SONNEBORN, TM. 1959. Kappa and related particles in Paramecium. Advan. Virus Res. 6: 229-356

TATE, GHH. 1932. The taxonomic history of certain South and Central American cricetid rodents: Neotomys with remarks upon its relationships; the cotton rats (Sigmodon and Sygmomys), and the fish-eating rats (Ichthyomys, Anetomys, Rheomys, Neusticomys and Daptomys). Am. Mus. Novitates 583: 1-10

THOMAS, O. 1916. On the grouping of the South American Muridae that have

been referred to Phyllotis, Euneomys and Eligmodontia. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 8, 17: 139-143

TRAPIDO, H; SANMARTIN, C. 1971. Pichinde virus, a new virus of the Tacaribe group from Colombia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 20: 631-641

TRAUB, E. 1935. A filterable virus recovered from white mouse. Science 81: 298-299

VEZZA, AC; CLEWLEY, JP; GARD, GP. 1978. Virion RNA species of the arenaviruses Pichinde, Tacaribe, and Tamiami. J. Virol. 26: 485-497

VILLEMIN, JA. 1866. Bull. Acad. Méd., Paris 31: 211-216. Citado por Gross, 1949.

VITULLO, AD; ROLDAN, ERS. 1986. Sperm morphology of Neotropical rodents, with special reference to Cricetidae and Ctenomyidae. Develop. Growth Different. 28: 63

VITULLO, AD; ESPINOSA, MB; MERANI, MS. 1989. Cytogenetics of vesper mice, Calomys (Rodentia, Cricetidae): Robertsonian variation between Calomys callidus and Calomys venustus. Z. Saugetierkunde (En prensa)

VITULLO, AD; HODARA, VL; MERANI, MS. 1983. Comparación de patrones de bandeo en especies del género Calomys. IX Cong. Latinoam. Zool., Arequipa, Perú. Resúmen 13.

VITULLO, AD; KAJON, AE; PERCICH, R; ZULETA, G; MERANI, MS; KRAVETZ, FO. 1984. Caracterización citogenética de tres especies de roedores (Rodentia, Cricetidae) de la República Argentina. Rev. Mus. Arg. Cienc. Nat., Zool. 13: 491-498

VOLKOVA, AA; GREBENYUK, RV; TIMOFEEV, AF; GALIYEV, RS. 1960. Study on the role of ticks of the genera Dermacentor and Haemaphysalis in transmission of brucellosis. Isv. Akad. Navk. Kirg. SSR. Ser. Biol. Nauk. 2: 5-24 (en ruso) Trad. N° 134, Dept. Med. Zool. U.S. NAMRU 3 (En inglés)

WATTS, DM; PANTUWATANA, S; DE FOLIART, GR. 1973. Transovarial transmission of La Crosse virus in the mosquitoe, Aedes triseriatus Science 182: 1140-1141

WEBB, PA; JUSTINES, G; JOHNSON, KM. 1975. Infection of wild and laboratory animals with Machupo and Latino viruses. Bull WHO 52: 493-499

WEBB, PA; JOHNSON, KM; HIBBS, JG; KUNS, ML. 1970. Parana, a new Tacaribe complex virus from Paraguay. Arch. Gesante Virusforch. 32: 379-388

WEISSENBACHER, MC; DAMONTE, EB. 1983. Fiebre Hemorrágica Argentina. Adel. Microbiol. Enf. Infecc. 2: 119-171

WEISSENBACHER, MC; GUERRERO, LB; FRIGERIO, MJ. 1976. Infección subclínica, infección clínica y vacunación con virus Junín. Medicina 36: 1-8

WEISSENBACHER, MC; LAGUENS, RP; COTO, CE. 1987. Argentine Hemorrhagic Fever. Current Topics Microbiol. Immunol. 134: 79-116

WEISSENBACHER, MC; CALELLO, MA; CARBALLAL, G; PLANES, N; DE LA VEGA, MT; KRAVETZ, FO. 1985. Actividad del virus Junín en humanos y roedores de áreas no endémicas de la provincia de Buenos Aires. Medicina 45: 263-268

WEISSENBACHER, MC; GRELA, MC; SABATTINI, MS; MAIZTEGUI, JI; COTO, CE; FRIGERIO, MJ; COSSIO, PM; RABINOVICH, AS; BARRERA ORO, JG. 1978. Inapparent infections with Junin virus among laboratory workers. J.Infect. Dis. 137: 309-313

WULFF, H; LANGE, JV; WEBB, PA. 1978. Interelationships among arenaviruses measured by indirect immunofluorescence. Intervirology 9: 344-350

WULFF, H; McINTOSH, BM; HAMMER, DB. 1977. Isolation of an arenavirus closely related to Lassa fever from Mastomys natalensis in South east Africa. Bull. WHO 55: 441-444

YEN, JH; BARR, AR. 1973. The etiological agent of cytoplasmic incompatibility in Culex pipiens. J. Invert. Pathol. 22: 242-250

YUILL, TM. 1981. Myxomatosis and fibromatosis. En: Infectious diseases of wild mammals. Davis, JW, Kastard, LH, Trainer, Do (Eds). Iowa State Univ. Press. pp. 154-177

YUILL, TM. 1987. Diseases as components of mammalian ecosystems: mayhem and subtetly. Canad. J. Zool. 65: 1061-1066