

COCIRCULACIÓN DE VIRUS JUNIN Y OTROS MAMMARENAVIRUS EN ÁREA GEOGRÁFICA SIN CASOS CONFIRMADOS DE FIEBRE HEMORRÁGICA ARGENTINA

GLADYS E. CALDERÓN¹, MARÍA C. PROVENSAL², MARÍA LAURA MARTÍN¹, DIANA M. BRITO HOYOS², JORGE B. GARCÍA¹, RAÚL E. GONZALEZ-ITTIG³, SILVANA LEVIS¹¹Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui, ANLIS, Pergamino, Buenos Aires, Argentina,²Departamento de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Grupo de Investigaciones en Ecología Poblacional y Comportamental (GIEPCO, Instituto de Ciencias de la Tierra, Biodiversidad y Ambiente (ICBIA) (UNRC-CONICET), Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, ³Instituto de Diversidad y Ecología Animal (IDEA), CONICET-UNC y Cátedra de Genética de Poblaciones y Evolución, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

Resumen Desde la identificación del virus Junin en la década del 50, se realizaron numerosos estudios en roedores silvestres dentro del área endémica de la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA) que permitieron registrar, además, actividad del virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCMV) y del virus Latino (LATV). La ausencia de casos confirmados de FHA desde la década del 90 en el departamento Río Cuarto, provincia de Córdoba, promovió la vigilancia ecoepidemiológica y de infección del *Calomys musculinus* (reservorio del virus Junin) y la búsqueda de reservorios e infección de los otros mammarenavirus. Durante dos años de muestreo estacional, con un sistema de captura, marcación y liberación capturamos 857 roedores, que correspondieron 57.3% a los reservorios: *C. musculinus* (especie más abundante), *C. venustus* y *Mus musculus*. Detectamos anticuerpos y caracterizamos molecularmente los tres agentes virales. Observamos una prevalencia de infección de 3.5% (9/254) para virus Junin, 100% (3/3) para LCMV y 24.1% (21/87) para LATV. En conclusión, demostramos circulación de virus Junin en su roedor reservorio, en una región considerada histórica para FHA con riesgo potencial para la población y cocirculación espacio-temporal de los tres mammarenavirus en la región central de Argentina.

Palabras clave: *Mammarenavirus*, Fiebre Hemorrágica Argentina, coriomeningitis linfocitaria, virus Latino, zoonosis, roedores

Abstract *Co-circulation of Junin virus and other mammarenaviruses in a geographical area without confirmed cases of Argentine Hemorrhagic Fever.* Since the identification of Junin virus in the 1950s, many studies were carried out in wild rodents within the endemic area of the Argentine Hemorrhagic Fever (AHF) that recorded also the activity of the lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) and the Latino virus (LATV). The absence of confirmed cases of AHF since the 1990s in the department of Río Cuarto, Córdoba province, promoted ecoepidemiological surveillance of infection of *Calomys musculinus* (Junin virus reservoir) and the search of reservoirs of the other mammarenaviruses. During two years of seasonal sampling, with a capture, mark and release system, 857 rodents were captured, corresponding 57.3% to the rodent reservoirs: *C. musculinus*, *C. venustus* and *Mus musculus*, being the first the most abundant species. Antibodies were detected and the three viral agents were molecularly characterized, showing a prevalence of infection of 3.5% (9/254) for Junin virus, 100% (3/3) for LCMV and 24.1% (21/87) for LATV. In conclusion, we demonstrated Junin virus circulation in its rodent reservoir in a region considered historic for AHF with potential risk for the population and the spatio-temporal co-circulation of the three mammarenaviruses in the central region of Argentina.

Key words: *Mammarenavirus*, Argentine Hemorrhagic Fever, lymphocytic choriomeningitis, Latino virus, zoonosis, rodents

PUNTOS CLAVE
Conocimiento actual

- La Fiebre Hemorrágica Argentina se caracteriza por presentar un área endémica en continua expansión hacia nuevas áreas y reemergencia de casos en áreas antiguas. La vigilancia ecoepidemiológica en roedores permite evaluar la evolución de la misma e investigar la presencia de otros mammarenavirus.

Contribución

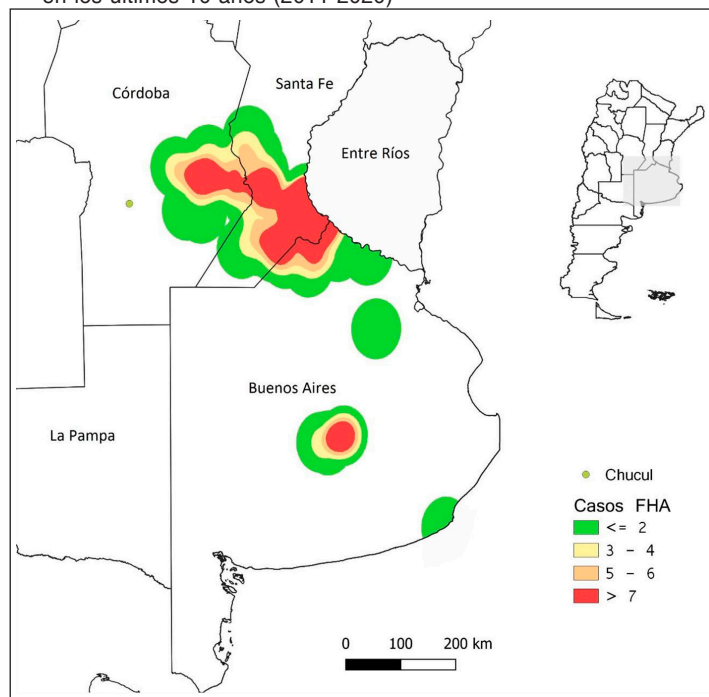
- Estos resultados demuestran la circulación del virus Junin en *Calomys musculinus* en un área histórica, y contribuyen así al fortalecimiento de las medidas de prevención y control de la enfermedad. Asimismo, demostramos la co-circulación espacio temporal del virus de la coriomeningitis linfocitaria y del virus Latino.

El género *Mammarenavirus* (familia *Arenaviridae*) se divide en dos grupos principales en base a relaciones antigénicas, genómicas y geográficas^{1, 2}: el complejo LCM-Lassa en el Viejo Mundo y el complejo Tacaribe en el Nuevo Mundo. Este último contiene virus patógenos para humanos: Junin, Guanarito, Sabiá, Machupo y Chapare cuyos reservorios naturales son roedores de la familia Cricetidae, subfamilia Sigmodontinae. Dentro de los mammarenavirus del Viejo Mundo se encuentra el virus de la coriomeningitis linfocitaria, cuyo reservorio es el roedor *Mus musculus* (familia Muridae, subfamilia Murinae) con distribución mundial.

Los mammarenavirus inducen infecciones persistentes en sus reservorios, frecuentemente asintomáticas, caracterizadas por viremia crónica, viruria e infección en cerebro³⁻⁵. La transmisión al hombre se produce principalmente por inhalación de partículas virales aerosolizadas provenientes de las excretas de los roedores o por contacto directo con la mucosa conjuntival, o a través de escoriaciones en la piel³⁻⁶.

En la década del 50 se identificó el virus Junin (JUNV), agente etiológico de la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA), una enfermedad viral aguda caracterizada por alteraciones vasculares, renales, hematológicas, neurológicas e inmunológicas con una letalidad inicial del 15-30% que disminuye a menos del 1% en pacientes tratados con plasma inmune de personas convalecientes⁷. La incidencia es variable en tiempo y espacio y disminuyó en los últimos 30 años con la administración de la vacuna a virus vivo atenuado Candid#1 cuya inocuidad, inmunogenicidad y eficacia protectora ha sido demostrada⁸. Los primeros registros de la enfermedad se documentaron en el norte de la provincia de Buenos Aires⁹ y luego fue expandiéndose, de modo lento pero progresivo, en las provincias de Córdoba, Santa Fe y La Pampa. En los últimos 10 años se observó una expansión hacia el noroeste (Fig. 1) y reemergencia en áreas geográficas después de 15-20 años sin registro de casos. Por ser una zoonosis, la FHA es una enfermedad controlable pero no erradicable. El roedor *Calomys musculinus* es el reservorio natural del JUNV^{3, 10, 11} que produce en el roedor una infección asintomática con eliminación

Fig. 1.— Expansión del área endémica de la Fiebre Hemorrágica Argentina en los últimos 10 años (2011-2020)



FHA: Fiebre Hemorrágica Argentina

de virus por saliva y orina. La transmisión del virus entre roedores es principalmente horizontal y se produce durante encuentros agresivos entre los individuos machos.

En Argentina, ha sido documentada la actividad de otros dos mammarenavirus: el virus de la coriomeningitis linfocitaria (LCMV) y el virus Latino (LATV). El LCMV fue identificado a partir de casos humanos en base al diagnóstico diferencial con la FHA y también de roedores de la especie *Mus musculus*, de zonas rurales y urbanizadas del área endémica de FHA en donde inicialmente se lo identificó en la década del 70¹²⁻¹⁵. También en zonas urbanas, Riera et al¹⁴ registraron actividad del LCMV en *M. musculus* y humanos en un estudio longitudinal realizado en la ciudad de Río Cuarto. La enfermedad en humanos se presenta como un cuadro febril leve, aunque los principales signos y síntomas de la infección son en especial de orden neurológico¹⁶. Las formas clínicas más graves de la enfermedad por el LCMV¹⁷ se registran en la infección prenatal y pacientes trasplantados en los que provoca una insuficiencia multisistémica¹⁸. El LATV, originalmente caracterizado en Bolivia en el roedor *Calomys callosus*, fue identificado en Argentina en roedores *Calomys fecundus* de la provincia de Jujuy

(Calderón G et al. Isolation of Latino virus (*Arenaviridae: Arenavirus*) from *Calomys fecundus* captured in Jujuy province, northwestern of Argentina. *59th Annual Meeting of Wildlife Disease Association*. 2010; 30 de mayo al 4 de Junio. Puerto Iguazú, Misiones) y en la región central de Argentina, parte de la cual se superpone con la zona endémica de FHA, en individuos de la especie *Calomys venustus*¹⁹. El LATV no ha sido aún asociado a enfermedad en humanos²⁰.

En el marco del Programa Nacional de Control de la FHA²¹, realizamos anualmente la vigilancia ecoepidemiológica de *C. musculus* a fin de evaluar la evolución del área endémica de la infección como insumo estratégico para las actividades de prevención y control de la FHA. En este sentido, seleccionamos el departamento Río Cuarto en la provincia de Córdoba, una región histórica dentro del área endémica de la FHA, sin registro de casos confirmados desde la década del 90, con el objetivo de evaluar la presencia de *C. musculus*, estudiar la actividad del JUNV y la circulación de otros mammarenavirus presentes en la región.

Materiales y métodos

El área de estudio seleccionada fue la zona rural de la localidad de Chucul, Río Cuarto, (33° 01' 26"S y 64° 10' 16" W). El clima del área es templado con marcada estacionalidad²². La zona rural está constituida por una matriz de campos de cultivo, con remanentes de vegetación prístina y malezas distribuidas en sus bordes²³. El área se caracteriza por la actividad agrícola-ganadera, donde los lotes de cultivo se encuentran delimitados por alambrados circundados por bordes enmalezados y, en algunas ocasiones, por árboles.

El estudio se realizó en las estaciones de verano, otoño y primavera de 2016 y verano-otoño de 2017. En los bordes con malezas se instalaron líneas de 20 trampas de captura viva distanciadas cada 6 metros y se mantuvieron activas durante 4 noches consecutivas. El sistema empleado consistió en la captura, marcación, liberación y recaptura y se obtuvo una muestra de sangre al momento de la captura. No se tomó muestra de sangre a los animales recapturados en el mismo período de muestreo a fin de no alterar la volemia y la sobrevida de los animales.

Las trampas fueron cebadas con una mezcla de grasa vacuna, pasta de maní y esencia de vainilla. Los roedores capturados fueron trasladados a un laboratorio de campo donde fueron procesados, previa anestesia profunda con isoflurano, siguiendo los procedimientos de bioseguridad establecidos²⁴. Todos los animales recibieron un tratamiento humanitario de acuerdo a la legislación vigente en Argentina (Ley 14346). La identificación de las especies de los roedores capturados se realizó en el campo por morfometría. Se obtuvo una muestra de sangre en la primera captura del individuo, la cual se mantuvo en nitrógeno líquido hasta su arribo al Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas donde fueron conservadas a -70 °C hasta su procesamiento²⁵.

Se determinaron los valores de éxito de captura como una estimación de la abundancia relativa expresada como: $IDR = (\text{número de capturas} / \text{número de trampas} \times \text{noches}) \times 100$, donde el número de capturas tiene en cuenta los animales capturados sin marcar y los recapturados (marcados) una sola vez en cada sesión de muestreo, dado el método de muestreo utilizado (CMR).

La búsqueda de anticuerpos de tipo IgG se realizó mediante la prueba de inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) utilizando antígenos específicos para JUNV, LCMV y LATV, siguiendo protocolos previamente publicados^{14, 26} (Levis S. Comunicación personal).

La identificación molecular de las especies de roedores se realizó mediante la secuenciación del gen mitocondrial citocromo b. La extracción de ADN se realizó con el *kit* DNeasy Blood & Tissue de Qiagen Inc (Alemania). El gen citocromo b fue amplificado con los *primers* Mus 14095 F (5'-GACATGAAAATCATCGTTGTAATTC-3') y Mus 15398 R (5'-GAATATCAGCTTTGGGTGTTGRTG-3')²⁷. La reacción de amplificación se realizó siguiendo las condiciones descritas por Gonzalez Ittig et al.²⁸. La secuenciación se realizó empleando el equipo ABI PRISM3100 DNA Analyzer (Applied Biosystems). Los análisis filogenéticos se realizaron con el programa PAUP *4.0b10²⁹. Se realizaron búsquedas heurísticas para hallar los árboles de máxima parsimonia (MP) los soportes de los nodos fueron estimados mediante el método de *bootstrap* con 1000 réplicas para obtener un árbol consenso de mayoría. Se utilizó una matriz para cada género, de esta manera se utilizaron secuencias de referencia para la identificación de individuos de las distintas especies.

Para detectar el genoma viral, se utilizaron todas las muestras de sangre disponibles de *C. musculus* y *M. musculus* y una submuestra (70.7%) de *C. venustus* adsorbidas³⁰ en tarjetas FTA. La extracción del ARN se realizó utilizando el *kit* Qiamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen Inc., Alemania) según protocolo del fabricante. Para amplificar el genoma viral se utilizó una RT-PCR anidada utilizando en la primera corrida oligonucleótidos genéricos para mammarenavirus que amplifican un fragmento de 600 nucleótidos (nt) de la nucleoproteína de los virus circulantes en Argentina³¹ y el 16V (GGMA-YWGWDCCRAYTGATT). Para la segunda amplificación se utilizaron oligonucleótidos específicos para JUNV: 3181V (CTTGGTTGAAGTCAATGCTGTGCTAG) y 3309C (GATCTTCTGG-CATGGCACACTC) y para LCMV: 2835V (CCCAAACYCTTAC-CACACCCTTG) y 3194C (ATGCAACCAACCTTCTRAATGG)

(Calderón G, Weaver S, comunicación personal) que amplifican un fragmento de 150 y 380 nt, respectivamente. Para el LATV, se diseñaron oligonucleótidos específicos para utilizar en una RT-PCR que amplifica un fragmento de 660 nt de la nucleoproteína: 142V (TGCCACCYTTCT TCTTTC) y 930C (TGCWTGYYTGGTKGATGG) y para la segunda amplificación: 267V (GGMRATGTCWGGTCTYCC) y 930C.

Los amplicones obtenidos fueron purificados con el *kit* QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen Inc., Alemania) siguiendo las recomendaciones del fabricante y secuenciados con un equipo 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Los electroferogramas obtenidos fueron revisados con Chromas y las secuencias fueron alineadas por la herramienta Clustal Wallis implementada en BioEdit 7.2.015.

Para la asignación del genotipo viral, se realizó un análisis por *Neighbour Joining* con el programa MEGA-X (versión 10.2.6)³². Para la comparación se utilizaron genotipos publicados en el GenBank y el soporte estadístico fue realizado por análisis de *bootstrap* con 1000 replicados.

Resultados

Durante los cinco muestreos estacionales realizados en los dos años de estudio se realizó un esfuerzo de captura de 11 340 trampas. Se capturaron 857 roedores correspondientes a 8 especies (*Akodon azarae*, *Calomys laucha*, *Calomys musculinus*, *Calomys venustus*, *Mus musculus*, *Oligoryzomys flavescens*, *Oxymycterus rufus* y *Rattus rattus*) pertenecientes a 6 géneros y 2 familias (Cricetidae y Muridae), y se obtuvieron 629 muestras de sangre.

En base a los objetivos planteados en este trabajo, los resultados se centraron en las especies *C. musculinus*, *M. musculus* y *C. venustus* que actúan como reservorio de los mammarenavirus JUNV, LCMV y LATV en Argentina. Los roedores de estas tres especies representaron el 57.3% (491/857) del total de capturas.

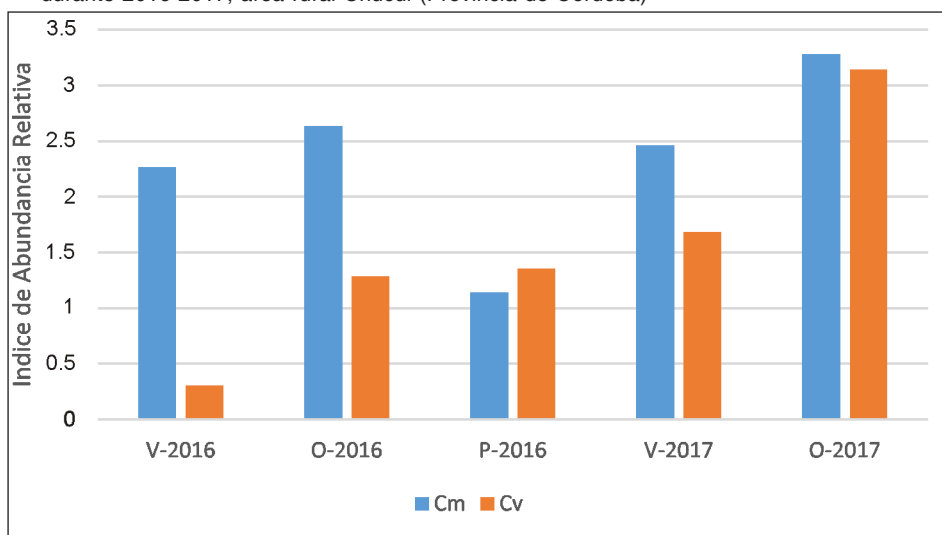
Los índices de abundancia relativa de *C. musculinus* y *C. venustus* se muestran en la Figura 2; *M. musculus* no está representado debido a la escasa captura obtenida ($n = 3$). *Calomys musculinus* fue capturado mayoritariamente en otoño y verano, con valores bajos en la primavera. *Calomys venustus* mostró valores menores de abundancia en todos los períodos de muestreo, registrando un ascenso hacia el final del estudio (Fig. 2).

La determinación de la infección por JUNV y LCMV se realizó en 257 muestras de sangre (254 de *C. musculinus* y 3 de *M. musculus*) mediante pruebas de ELISA IgG y RT-PCR. La prevalencia total de infección fue 3.5% (9/254) para JUNV y 100% (3/3) para LCMV. La prevalencia de infección para LATV se realizó en las muestras de sangre de *C. venustus* y fue 20.3% (25/123 muestras estudiadas) por ELISA IgG, y 24.1% (21/87 muestras estudiadas) por RT-PCR. De los individuos positivos, algunos presentaron solo anticuerpos; otros solo genoma viral y en 7 detectamos la presencia simultánea de genoma viral y anticuerpos (Tabla 1).

La infección por JUNV en *C. musculinus* y LCMV en *M. musculus*, se registró en el verano de los dos años de estudio y en el otoño de 2017, y varió entre 1.6% y 8.1% por ELISA IgG, y entre 1.6% y 2.2% por RT-PCR para JUNV. Respecto de la infección por LCMV en *M. musculus*, los tres ejemplares capturados fueron positivos, ya sea por una sola o por ambas técnicas RT-PCR y ELISA IgG. La infección por LATV se registró en todas las estaciones estudiadas y con alta tasa de infección, con variación por ELISA IgG entre 6.6% y 30.4%, y por RT-PCR entre 7.7% y 40.7%.

En tres (veranos 2016-2017 y otoño de 2017) de los cinco muestreos demostramos la co-circulación espacio temporal de los tres mammarenavirus y logramos am-

Fig. 2.– Índices de abundancia relativa de *Calomys musculinus* y *Calomys venustus*, por estación durante 2016-2017, área rural Chucul (Provincia de Córdoba)



Cm: *Calomys musculinus*; Cv: *Calomys venustus*; V: verano; O: otoño; P: primavera

TABLA 1.— Infección por JUNV, LCMV y LATV en *Calomys musculinus*, *Mus musculus* y *Calomys venustus*, respectivamente, por ELISA IgG y RT-PCR específicas, distribuidas por estación y por año. Localidad de Chucul, Río Cuarto, Córdoba, 2016-2017

Virus	Prueba	Positivos/Muestras estudiadas (%)					
		Total	Verano 2016	Otoño 2016	Primavera 2016	Verano 2017	Otoño 2017
JUNV	ELISA	6/254 (2.4)	5/62 (8.1)	0/18	0/21	1/64 (1.6)	0/89
	RT-PCR	4/254 (1.6)	1*/62 (1.6)	0/18	0/21	1/64 (1.6)	2/89 (2.2)
LCMV	ELISA	1/3 (33.3)	0/1	0/0	0/0	1/1	0/1
	RT-PCR	3/3 (100)	1/1	0/0	0/0	1/1	1/1
LATV	ELISA	25/123 (20.3)	1/9 (11.1)	1/15 (6.6)	3/20 (15.0)	6/37 (16.2)	14*5/46 (30.4)
	RT-PCR	21/87 (24.1)	2/9 (22.2)	1/13 (7.7)	3/14 (21.4)	4/24 (16.6)	11/27 (40.7)

JUNV: virus Junin; LCMV: virus de la Coriomeningitis Linfocitaria; LATV: virus Latino; ELISA: enzimoimmunoanálisis de adsorción; RT-PCR: transcripción reversa-reacción en cadena de la polimerasa

*número de individuos positivos por ambas técnicas (ELISA IgG y RT-PCR)

plificar el genoma de estos tres agentes virales. En los muestreos de otoño y primavera de 2016 solo registramos infección por LATV.

El análisis de las secuencias de un fragmento de 350 nt correspondiente al gen N de las 3 cepas de LCMV amplificadas, mostró una identidad del 85% a nivel nucleotídico con la cepa LCMV 811316 de Massachusetts, EE.UU.³³. Los fragmentos amplificados de 380 nt de LATV agruparon en el grupo C de mammarenavirus, más relacionado con el LATV. Los fragmentos de 150 nt del JUNV presentaron una similitud del 93% con otras cepas de JUNV de nuestro laboratorio y del GenBank.

Los análisis filogenéticos (no mostrados) en base al gen citocromo b permitieron identificar los 6 individuos del género *Calomys* infectados con JUNV y LATV. Se identificaron por RT-PCR 4 *C. musculinus* (GenBank: OK075110 al OK075113) positivos para JUNV y 2 *C. venustus* (GenBank: OK075114 y OK075115) que presentaron anticuerpos de tipo IgG por ELISA para LATV.

Discusión

En estudios previos³⁴ habíamos registrado la presencia de *C. musculinus* en la ciudad de Río Cuarto (160 000 habitantes), lo que indica un potencial riesgo de introducción del JUNV en zonas urbanas. En el presente trabajo demostramos la circulación del JUNV en *C. musculinus*

capturados en una localidad distante 22 km de la ciudad de Río Cuarto, en cuyo departamento homónimo no se registran casos confirmados de FHA desde la década del 90.

De todas las especies capturadas, *C. musculinus* fue la especie más abundante, con altos valores en el verano tardío y otoño que disminuyeron hacia la primavera, de acuerdo a lo descrito por otros autores³⁵.

La prevalencia de infección del JUNV detectada fue alta al comienzo del estudio (8.1%) y disminuyó hacia el final del mismo, la prevalencia total de infección fue 3.5%, similar a la registrada en localidades con alta incidencia de casos de FHA en la década del 90^{36, 37}. La ausencia de infección en el otoño de 2016 podría estar asociada a una marcada baja en la captura de *C. musculinus*. Debido a la ausencia de una muestra de cerebro como consecuencia del sistema de captura, marcación y liberación de los animales, conjeturamos que la prevalencia de infección podría ser aún mayor considerando la capacidad del JUNV de producir infección persistente en *C. musculinus* con viremias prolongadas, persistencia de virus en cerebro y presencia o ausencia de anticuerpos (Calderón GE. Desarrollo de indicadores de riesgo de contraer la Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA) por medio del estudio de los roedores que actúan como reservorio de los Arenavirus en Argentina. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Litoral, 2004).

Estos resultados contribuyen a la ampliación del área endémica de la enfermedad y demuestran la necesidad de reforzar las estrategias de vacunación de la población con la vacuna Candid#1.

La circulación del LCMV en ambientes rurales fue registrada por primera vez en Argentina en la década del 60 en *M. musculus*¹² y más adelante en trabajadores rurales del área endémica de FHA⁹⁸. En este estudio, la infección de los tres *M. musculus* capturados, indicaría una alta tasa de infección, no cuantificable por el escaso número de animales. Estos resultados junto a los obtenidos por otros autores¹⁵ demuestran que el LCMV continúa circulando en la región central de Argentina. Considerando que *M. musculus* es una especie predominantemente comensal, que alcanza sus máximos valores de abundancia dentro de edificaciones humanas o cerca de ellas, es de fundamental importancia la información epidemiológica obtenida al momento de la consulta médica para evaluar el probable contacto con roedores o sus excretas que contribuya al diagnóstico diferencial de LCMV en las meningitis asépticas de origen viral.

En relación al LATV, la mayor tasa de infección obtenida fue en *C. venustus* y se registró en todas las estaciones del año. Teniendo en cuenta que por RT-PCR solo se estudió una muestra del total de roedores capturados, consideramos que existiría una alta prevalencia de infección natural producida por este agente viral cuya patogenicidad en humanos es desconocida.

Estudios de Sabbattini et al⁹⁹ registraron circulación simultánea de JUNV y LCMV en el área endémica de FHA. En el presente trabajo demostramos la cocirculación espacio-temporal de JUNV, LCMV y LATV en una localidad fuera del área endémica de FHA.

En conclusión, la circulación de JUNV detectada más allá del área endémica de FHA, constituye un aporte de fundamental importancia para el fortalecimiento de las actividades del Programa Nacional de Control de la FHA, como es la prevención y control mediante vacunación de la población con la vacuna Candid#1 con eficacia de 95.5% e inmunogenicidad de 90%. Demostramos la circulación de LCMV en su reservorio natural, lo que indica la necesidad de continuar con la vigilancia ecoepidemiológica de *M. musculus* y la vigilancia en humanos en la región y en otras áreas geográficas a fin de establecer su distribución real e impacto en la salud pública. La circulación de LATV y la alta prevalencia de infección hallada sugieren la necesidad de realizar estudios de laboratorio para evaluar el potencial patogénico para humanos. Asimismo, aportamos información que contribuye a la distribución de los mammarenavirus en sus reservorios naturales más allá del área endémica de la FHA y demostramos la cocirculación temporo-espacial de los mammarenavirus JUNV y LCMV patogénicos para humanos y LATV de patogenicidad desconocida.

Agradecimientos: A Germán O`Duyer, José Paura y César Polidoro por el apoyo técnico para la captura, procesamiento de roedores silvestres y en el laboratorio serológico y molecular. A Germán O`Duyer también por el apoyo en la elaboración del mapa de calor.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

1. Wulff H, Lange J, Webb P. Interrrelationships among arenaviruses measured by indirect immunofluorescence. *Intervirology* 9, 1978; 344-50.
2. Charrel RN, de Lamballerie X, Emonet S. Phylogeny of the genus Arenavirus. *Curr Opin Microbiol* 2008; 11: 362-8.
3. Sabbattini MS, Gonzales de Rios LE, Diaz G, Vega VR. Infección natural y experimental de roedores con virus Junin. *Medicina (B Aires)* 1977; 37: 149-59.
4. Medeot SI, Contigiani MS, Sabbattini MS, Diaz G, Vega V. Persistence of different Junin virus strain in *Calomys musculinus*. *Com Biol* 1993; 11: 67-77.
5. Medeot SI, Contigiani MS, Brandan ER, Sabatt Sudhirini MS. Neurovirulence of wild and laboratory Junin virus strains in animal hosts. *J Med Virol* 1990; 32: 171-82.
6. Enria DA, Briggiler AM, Feuillade MR. An overview of the epidemiological, ecological and preventive hallmarks of Argentine haemorrhagic fever (Junin virus). *Bull Inst Pasteur* 1998; 96: 103-14.
7. Enria DA, Briggiler AM, Fernandez NJ, Levis SC, Maiztegui JI. Importance of dose of neutralizing antibodies in treatment of Argentine haemorrhagic fever with immune plasma. *Lancet* 1984; 8397: 255-6.
8. Maiztegui JI, McKee KT, Jr., Barrera Oro JG, et al: Protective efficacy of a live attenuated vaccine against Argentine hemorrhagic fever. AHF Study Group. *J Infect Dis* 1998; 177: 277-83.
9. Maiztegui JI. Clinical and epidemiological patterns of Argentine haemorrhagic fever. *Bull World Health Organ* 1975; 52: 567-75.
10. Sabbattini MS, Gonzalez LE, Crespo JA. Aislamiento de virus Junin en roedores silvestres de la Provincia de Córdoba. *Seg Jorn Entomoepid* 1967; 3: 353-73.
11. Mills JN, Ellis BA, McKee KT, et al. Junin virus activity in rodents from endemic and non endemic loci in central Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 589-97.
12. Sabbattini MS, Barrera Oro JG, Maiztegui JI, Ferradas BR. Actividad del virus de la coriomeningitis linfocítica en el área endémica de Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA). *Medicina (B Aires)* 1974; 34: 313-20.
13. Saavedra MC, Ambrosio AM, Riera L, et al. Aislamiento del virus de la Coriomeningitis Linfocitaria de seres humanos. *Medicina (B Aires)* 2001; 61: 837-42.
14. Riera L, Castillo E, Saavedra MC, et al. Serological study of the Lymphochoriomeningitis Virus (LCMV) in an Inner City of Argentina. *J Med Virol* 2005; 76: 285-9.
15. Ambrosio AM, Saavedra MC, Gamboa GS, et al. Ecological and epidemiological features of lymphocytic choriomeningitis virus activity in Argentina. *Curr Top Virol* 2014; 12: 53-63.
16. Jahrling PB, Peters CJ. Virus de la coriomeningitis linfocítica. Un patógeno olvidado del hombre. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 486-8.
17. Bonthius DJ. Virus de la coriomeningitis linfocítica: una causa poco reconocida de enfermedad neurológica en el feto, el niño y el adulto. *Semin Pediatr Neurol* 2012; 19: 89-95.

18. MacNeil A, Ströher U, Farnon E, et al. Solid organ transplant-associated lymphocytic choriomeningitis, United States, 2011. *Emerg Infect Dis* 2012; 18: 1256-2.
19. Calderón G, Piacenza F, García J, Polop J, Enria D, Levis S. Circulación del virus latino (familia arenaviridae, género arenavirus en la región central de Argentina. *Rev Argent Microbiol* 2011; 1: 43.
20. Webb PA, Johnson KM, Peters CJ, Justines G. Behavior of Machupo and Latino viruses in *Calomys callosus* from two geographic areas of Bolivia. *Lymphocytic Choriomeningitis Virus and Other Arenaviruses* 1973; 313-22.
21. Ministerio de Salud. Secretaria de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud Dr. Carlos G. Malbrán. Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas Dr. Julio I. Maiztegui, 2007. Programa Nacional de Control de la Fiebre Hemorrágica Argentina. En: <http://www.anlis.gov.ar/inevh/>; consultado noviembre 2021.
22. Capitanelli RG. Clima. En Geografía física en la Provincia de Córdoba. Buenos Aires: Ed. Boldt, 1979; 495 pp.
23. Simone I, Cagnacci F, Provencal C, Polop J. Environmental determinants of the small mammal assemblage in an agroecosystem of central Argentina: The role of *Calomys musculinus*. *Mamm Biology* 2010; 75: 496-509.
24. Mills J, Childs J, Ksiazek T, Peters CJ, Velleca WM. Métodos para trapeo y muestreo de pequeños mamíferos para estudio virológicos. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud, 1998. OPS/HPS/HCT98.104.
25. Calderón GE, Brignone J, Martin ML, Calleri F, Sen C, Casas N. Brote de Síndrome Pulmonar por Hantavirus, Tucumán, Argentina. *Medicina (B Aires)* 2018; 78: 151-7.
26. Morales MA, Calderón GE, Riera LM, Ambrosio AM, Enria DA, Sabattini MS. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to Junin virus in rodents. *J Virol Methods* 2002; 103: 57-66.
27. Anderson S, Yates TL. A new genus and species of phyllostine rodent from Bolivia. *J Mammal* 2000; 81: 18-36.
28. Gonzalez-Iltig R, Salazar-Bravo J, Barquez R, Gardenal C. Phylogenetic relationships among species of the genus *Oligoryzomys* (Rodentia, Cricetidae) from Central and South America. *Zool Scr* 2010; 39: 511-26.
29. Swofford DL. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Version 4. *Sinauer Associates* 1998. En: <http://benedick.rutgers.edu/software-manuals/PAUP4-manual.pdf>; consultado noviembre 2021.
30. Martin M L, Muzulin P, González Iltig R, Levis S, Calderón G. Utilización de muestras de sangre adsorbidas en papel para la detección simultánea de ácidos nucleicos de roedores reservorios y virus infectantes. *IV Congreso latinoamericano de Mastozoología. VIII Congreso Boliviano de Mastozoología*. La Paz, Bolivia. Julio de 2018. En: <https://mastozoologiabolivia.org/wp-content/uploads/2020/01/Libro-de-resumenes-Julio-2018-RBM-EAR-1.pdf>; consultado noviembre 2021.
31. Bowen MD, Peters DJ, Nichol ST. The phylogeny of New World (Tacaribe Complex) Arenaviruses. *Virology* 1996; 219: 285-90.
32. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz K, Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molec Biol Evol* 2018; 35: 1547-9.
33. Albariño CG, Palacios G, Khristova ML, et al. High diversity and ancient common ancestry of lymphocytic choriomeningitis virus. *Emerg Infect Dis* 2010; 16: 1093-100.
34. Castillo E, Priotto J, Ambrosio AM. Commensal and wild rodents in an urban area of Argentina. *Int Biodeter & Biodegr* 2003; 52: 135-41.
35. Piacenza MF, Calderón GE, Enria D, Provencal MP, Polop JJ. Diferencia espacial de la incidencia de fiebre hemorrágica argentina y la composición y abundancia de roedores en el ensamble. *Rev Chilena Infectol* 2018; 35: 386-94.
36. Mills JN, Ellis BA, McKee Jr. KT, et al. Junin virus activity in rodents from endemic and nonendemic loci in Central Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44: 589-97.
37. Mills JN, Calderon GE, Ellis BA, et al. Nuevas observaciones de la infección de roedores por el virus Junin dentro y fuera de la zona endémica de la Fiebre Hemorrágica Argentina. *Medicina (B Aires)* 1991; 51: 519-23.
38. Ambrosio AM, Feuillade MR, Gamboa GS, Maiztegui JI. Prevalence of Lymphocytic Choriomeningitis virus infection in human population of Argentina. *Am J Trop Med Hyg* 1994, 50: 381-6.
39. Sabattini MS, Barrera Oro JG, Maiztegui JI, de Ferradás BR. Actividad del virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) en el área endémica de Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA). II-Aislamiento a partir de un *Mus musculus* campestre capturado en el Sudeste de Córdoba. *Medicina (B Aires)* 1974; 34: 313-20.