

La familia *Adenoviridae* comprende los géneros *Mastadenovirus* y *Avianadenovirus* que afectan, respectivamente, a los mamíferos y a las aves. Se han descrito hasta 49 serotipos relacionados con la infección en los humanos, aunque en la actualidad hay dos nuevos candidatos a ocupar los puestos 50 y 51.

INTERÉS CLÍNICO

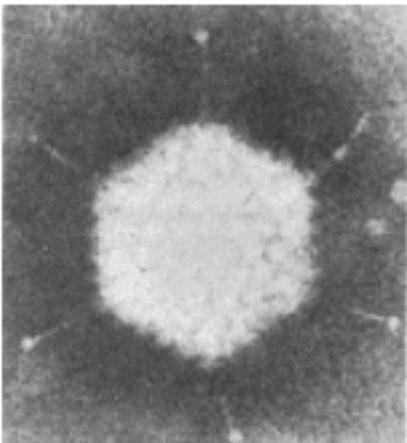
Las infecciones por adenovirus presentan una morbilidad elevada que se acompaña de una baja mortalidad, aunque no desdeñable en ciertas situaciones clínicas. Aparecen de forma epidémica por brotes a lo largo de todo el año. Los adenovirus afectan a numerosos y variados aparatos de nuestro organismo. Los síndromes más frecuentes y conocidos son:

- Infecciones del tracto respiratorio. Son muy frecuentes, sobre todo las infecciones de las vías altas, como la faringoamigdalitis, que se presentan a lo largo de todo el año. Los adenovirus también producen infecciones de las vías bajas, como las tráqueobronquitis, donde la tos es un síntoma característico, hasta el punto de provocar síndromes pertusoides. Más raramente, pueden ser responsables de cuadros de neumonía.
- Infecciones de tracto digestivo. Deben distinguirse las producidas por los serotipos 40 y 41, que cursan con fiebre, gastroenteritis y un tiempo de evolución superior a los 8 días, de las más leves originadas por los otros serotipos.
- Infecciones oculares. Pueden presentarse como una conjuntivitis, a veces acompañando a otros cuadros clínicos, por lo general la faringitis, o como una queratoconjuntivitis, más grave, que comienza por una conjuntivitis folicular y llega a invadir la córnea.
- Infecciones genito-urinarias: la forma más habitual es la cistitis hemorrágica, aunque se han descrito también casos de cervicitis y uretritis como manifestaciones de una enfermedad de transmisión sexual.
- Infecciones en el paciente inmunodeprimido. De forma muy ocasional los adenovirus pueden afectar a estos enfermos, produciendo cuadros graves de neumonía o de infección generalizada en los que el patógeno puede aislarse en diversos órganos como, por ejemplo, en el hígado trasplantado a un paciente.

Además de las descritas, más desconocidas son las infecciones neurológicas, como las meningitis y encefalitis, o la miocarditis, todas ellas muy raras. Por lo general se tiene una idea bastante concreta de la morbilidad de la infección por adenovirus en los tres primeros grupos de síndromes arriba mencionados pero, en parte por el hecho de que el médico no piensa en la etiología por adenovirus en los otros síndromes, o porque laboratorios no ofrecen la posibilidad de realizar técnicas de detección, es posible que la incidencia real de la cistitis hemorrágica o de la miocarditis esté subestimada.

MORFOLOGÍA

Para poder entender bien las formas de transmisión, la epidemiología, las condiciones de obtención y envío de las muestras, y la base de las técnicas diagnósticas, es preciso conocer las características morfológicas y antigénicas de los adenovirus.



Los adenovirus presentan un genoma compuesto por una doble cadena lineal de DNA protegido por una nucleocápsida de simetría icosaédrica formada por 240 capsómeros hexagonales (hexones) que ocupan las caras y aristas, y 12 pentagonales (pentones) que se sitúan en los vértices. De éstos parten unas prolongaciones o fibras en cuyo extremo se encuentran las glucoproteínas causantes de la adhesión a las células endoteliales de diversos tejidos, responsable en último término de los cuadros clínicos. Los capsómeros muestran un mosaico antigénico que permite clasificar los adenovirus en los 49 serotipos citados pero también existen antígenos comunes que facilitan el estudio o la detección de este grupo de virus mediante sueros polivalentes. Las glucoproteínas terminales son responsables de su capacidad hemaglutinante, utilizada ampliamente en la identificación y clasificación de este patógeno, aunque en la actualidad estas pruebas, sencillas y económicas, se están abandonando.

También se pueden estudiar estos virus mediante la amplificación genómica directa de secuencias de DNA comunes de grupo o específicas de tipo.

Los adenovirus carecen de envoltura lipídica, lo que les confiere la propiedad de ser resistentes a los agentes externos. Esta característica explica las diferentes vías de transmisión: por inhalación, próxima al paciente tosedor, o remota por vía fecal-oral. Esta resistencia permite que las muestras clínicas utilizadas para el aislamiento puedan conservarse durante algunos días, a diferencia de lo que suele ocurrir con otros virus por lo general más sensibles a las condiciones ambientales.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Se han utilizado numerosas técnicas para el diagnóstico de las infecciones por adenovirus, lo que sin duda es reflejo de las insuficiencias de cada una de ellas. Probablemente, si las técnicas de amplificación genómica llegan a ser asequibles económica y técnicamente, serán las que se impondrán en un futuro. Mientras, se seguirán utilizando determinadas pruebas según la muestra y el diagnóstico del enfermo.

Muestras

Es siempre importante obtenerlas al inicio de la infección. Aunque ésta pueda presentar un curso subagudo, es mejor obtener una muestra inicial y conservarla que no otra algo más tardía y que se procesa inmediatamente. El número de partículas virales de la primera será muy superior y, como se ha comentado, no existen problemas de viabilidad que puedan afectar a la muestra. Incluso, dada la resistencia de los adenovirus a la congelación, es posible mantener las muestras en estas condiciones durante largos periodos. Las muestras deberán guardar la mayor relación posible con el aparato afecto, aunque a veces, por las dificultades propias de acceder a un órgano interno, pueden utilizarse alternativamente ciertas muestras periféricas con resultados aceptables. En cuanto a las técnicas diagnósticas se pueden agrupar en aquellas dirigidas a la observación del patógeno, a la detección de sus antígenos o su genoma, al aislamiento por cultivo, o al estudio serológico.

Observación microscópica

La observación mediante microscopía óptica con tinciones convencionales es inespecífica. Por el contrario, puede ser útil la inmunofluorescencia (IF) aplicada a células de descamación de muestras respiratorias, conjuntivales o de vías urinarias. Es una técnica sencilla y de rápida ejecución, aunque dependiente de la calidad de la muestra. Además, cabe la posibilidad de obtener resultados falsamente negativos. Para considerar válida una muestra, ésta deberá contener un número aceptable de células, para lo que es preciso adiestrar convenientemente al personal encargado de su obtención. Por lo que respecta a las muestras respiratorias, el lavado nasofaríngeo es superior al simple aspirado. No son aceptables los frotis faríngeos realizados con una torunda de algodón y remitidos en un medio semisólido como los utilizados en bacteriología. Ante la sospecha de cistitis, se utilizarán las células de descamación urinaria. Es útil secar la impronta con una corriente de aire tibio antes de proceder a la fijación con acetona congelada durante 10 min, porque se acorta el tiempo de realización.

El rendimiento de la IF en las muestras respiratorias no es comparable al que se obtiene con el virus respiratorio sincitial, que es muy alta. Es probable que se deba a la diversidad antigénica de los adenovirus. Así, hay sueros que, en teoría, reconocen antígenos comunes a todos los serotipos pero que en la práctica pueden no reaccionar con los serotipos más frecuentes en una determinada área geográfica. No es infrecuente observar muestras negativas por IF que son positivas por cultivo. La experiencia propia de cada laboratorio es determinante para el rendimiento final de la técnica.

La microscopía electrónica se aplica al diagnóstico de las gastroenteritis por adenovirus en muestras de heces. Además de la dificultad de tener acceso al instrumental, este método no permite distinguir directamente entre los distintos serotipos de adenovirus, algunos de los cuales pueden estar presentes en el tubo digestivo sin ninguna relación con la patología. Existen variantes técnicas que emplean anticuerpos específicos, lo que permite solventar este inconveniente, a la vez que agrupar las partículas víricas facilitando su visión.

Otras técnicas de detección de antígenos

Se trata de técnicas de fácil y rápida ejecución. Así, por ejemplo, la aglutinación con partículas de látex, que se aplica al diagnóstico de las gastroenteritis por los adenovirus 40 y 41. Aunque este método detecta específicamente estos serotipos, conviene seleccionar cuidadosamente el reactivo comercial puesto que algunos de ellos presentan resultados falsos positivos, por reacción cruzada con otros tipo de adenovirus que pueden estar presentes en las heces del paciente en ese momento.

El ensayo de inmunoenlace (EIA) es, para algunos autores, el método de elección para la investigación de antígenos solubles de adenovirus en las heces y también en las secreciones respiratorias. Pueden estar dirigidos contra un antígeno común hexón, y por tanto capaz de detectar cualquier serotipo de adenovirus, o simplemente a un antígeno específico. Se afirma que su especificidad es del 90-95% y su sensibilidad de un 70-90% comparada a las técnicas más complejas y completas de aislamiento en cultivo celular. Recientemente ha aparecido un método que combina el EIA con la cromatografía y que parece ser más sensible y específico.

Detección y amplificación genómica

Su uso ha sido muy limitado por la relación entre el coste del análisis y el provecho terapéutico que de él se deduce. Muy recientemente, Raty *et al* estudiaron una técnica de PCR con un cebador homólogo de una región codificante de la proteína del hexón AD7 aplicada a muestras nasofaríngeas procedentes de un brote de 269 enfermos que presentaban una infección respiratoria aguda, comparándola con otros cuatro métodos. Los resultados obtenidos con la PCR fueron muy superiores a los de la detección de antígeno y cercanas a las de un completo sistema de aislamiento convencional. Incluso hubo algunos casos adicionales donde, siendo la PCR positiva, no se aisló el virus en cultivo. El seguimiento de estos casos demostró que no debían ser considerados como falsos positivos de la PCR, sino falsos negativos del método de referencia. Estos y otros resultados similares abrigan la esperanza de obtener unas pruebas asequibles y de fácil ejecución al alcance de los laboratorios de diagnóstico que sean de aplicación universal, aunque por ahora debemos reservar las técnicas de PCR para estudios de investigación.

Aislamiento por cultivo

Se considera la prueba definitiva para demostrar la presencia de adenovirus en una determinada muestra debido a su gran

especificidad. Sin embargo, es posible obtener resultados falsamente negativos. La calidad de la muestra, el tipo o tipos de cultivos celulares empleados y el tiempo de incubación influirán en la sensibilidad. Como ya se ha mencionado, la muestra deber ser acorde con el proceso infeccioso que se desea diagnosticar. La práctica aconseja procesar varias muestras puesto que, cuantas más se procesen, mayor será la posibilidad de tener éxito y más fácil será la interpretación clínica de los resultados.

Clásicamente se han utilizado las líneas continuas derivadas de carcinomas epiteliales como las HEp2, HeLa y KB, con resultados similares. Los cultivos primarios de riñón de embrión humano tienen mejor rendimiento pero, en la práctica, no se utilizan, dada la dificultad de disponer de este tipo de células de forma continuada. Los serotipos 40 y 41, a los que suele hacerse mención como *adenovirus no cultivables*, crecen en líneas modificadas en las que se ha conjugado algunos genes de otros serotipos en las células, de tal manera que permite el crecimiento de estos patógenos entéricos. Las más utilizadas han sido la línea Graham 293. En otras líneas celulares, como las derivadas de fibroblastos de pulmón de embrión humano, es posible cultivar los adenovirus pero su rendimiento es inferior al de las líneas epiteliales. El crecimiento se detecta por la aparición de un efecto citopático que es reconocible sin necesidad de teñir el cultivo. Consiste en un redondeamiento celular con notable aumento de la refringencia y con una cierta tendencia a la fusión entre las células (en el organismo tienden a formar sincitios). Mediante tinciones convencionales, es posible observar una granulación regular intranuclear. Algunos autores anglosajones describen este efecto con el término *ballooning*. Nosotros, personalmente, a esa imagen de varias células redondeadas, no picnóticas y unidas en línea recta, le encontramos cierta semejanza con los cacahuetes. De todas maneras, se necesita un cierto adiestramiento, pues el efecto citopático producido por los adenovirus puede inducir a confusión fácilmente siendo aconsejable, ante cualquier duda, prolongar la incubación o efectuar un subcultivo. La identificación definitiva, importante para adquirir seguridad en la interpretación de los efectos citopáticos, suele hacerse por inmunofluorescencia utilizando sueros monoclonales dirigidos contra un antígeno común de grupo. Esta técnica también se aplica a la tipificación epidemiológica de los aislamientos.

Por lo que respecta a la incubación, el tiempo de aparición del efecto citopático de los adenovirus es variable. La mayoría de cepas crecen entre el segundo y séptimo día. El número de cultivos positivos se mejora prolongando aquélla el doble de tiempo. Corresponde al laboratorio de diagnóstico valorar si una pequeña mejora en el rendimiento justifica un trabajo considerablemente mayor, empleado en mantener y resebrar cultivos celulares. La técnica de *shell-vial* también mejora el rendimiento final, lo que es probablemente debido al efecto positivo de la centrifugación suave (700 x g) de la muestra. Como es lógico, debemos utilizar para el revelado un antisuero con una amplia reactividad de grupo.

Pruebas serológicas

Como las infecciones por los diversos serotipos de adenovirus se repiten a lo largo de la vida en múltiples ocasiones, los pacientes suelen presentar una respuesta serológica positiva previa a los antígenos comunes. Por otra parte, es impensable en la práctica diagnóstica habitual llevar a cabo estudios serológicos específicos, habida cuenta del notable número de tipos diferentes. Por ello se utilizan antígenos comunes para detectar la respuesta de anticuerpos en dos muestras de suero obtenidas, al menos, con una semana de diferencia. La seroconversión o el aumento significativo del título de anticuerpos es la prueba indiscutible del contacto con el microorganismo pero, a efectos prácticos, tan sólo confirmará de forma tardía la existencia de una infección previa que, con gran probabilidad, se encontrará ya en fase de resolución.

Las técnicas utilizadas en serología aprovechan las propiedades biológicas del virión. Aún se sigue utilizando la reacción de inhibición de hemaglutinación, basada en la capacidad hemaglutinante que tienen las glucoproteínas terminales de las fibras. Los antígenos comunes del hexón son la base de la reacción de fijación de complemento. En la actualidad, los laboratorios interesados en realizar el diagnóstico serológico suelen hacerlo mediante la reacción de enzimoimmunoensayo.

La aplicación de la serología en el diagnóstico es limitada por todo lo apuntado anteriormente. Puede ser interesante en estudios epidemiológicos de un grupo de contacto, pero donde es más atractivo su uso es en aquellos enfermos con un cuadro clínico grave (miocarditis, encefalitis, etc.) en los que el aislamiento o la detección de estos virus se realiza en muestras alejadas del órgano afecto. En estas ocasiones, podemos utilizar la propia cepa como fuente de antígeno y el paciente presentará una fuerte reacción sérica.

BIBLIOGRAFÍA

De Jong JC, Wermenbol AG, Verweij-Uijterwaal MW, Slaterus KW, Wertheim-Van Dillen P, Van Doornum GJ, Khoo SH, Hierholzer JC. Adenovirus from human immunodeficiency virus-infected individuals, including two strains that represent new candidate serotypes Ad50 and Ad51 of species B1 and D, respectively. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3940-3945.

Horwitz MS. Adenoviruses. En: Fields BN, Knipe DM (eds). *Virology*. (2ª ed). Raven Press, New York 1990, pp 1729-1740.

Raty R, Kleemola M, Melen K, Stenvik M, Julkunen I. Efficacy of PCR and other diagnostic methods for the detection of respiratory adenoviral infections. *J Med Virol* 1999; 59:66-72.

Tsutsumi H, Ouchi K, Ohsaki M, Yamanaka T, Kuniya Y, Takeuchi Y, Nakai C. Immunochromatography test for rapid diagnosis of adenovirus respiratory tract: comparison with virus isolation in tissue culture. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2007-2009.

Wadell G, Allard A, Hierholzer JC. Adenoviruses. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of clinical microbiology* (7ª ed). American Society for Microbiology. Washington DC 1999, pp 970-982.

White DO, Fenner FJ. Adenoviruses. En: White DO, Fenner FJ. *Medical Virology* (4ª ed). Academic Press, San Diego 1994, pp 306-317.