

Papel de los Adenovirus en las Gastroenteritis de la infancia

J. I. REGLERA, J. M. EIROS, R. PÉREZ GRANA, R. ORTIZ DE LEJARAZU, y A. RODRÍGUEZ TORRES

RESUMEN: Los adenovirus humanos son virus esféricos, con una cápside de simetría icosaédrica de 252 capsómeros y cuyo material genético está constituido por ADN. La familia Adenoviridae engloba los adenovirus humanos y de otros mamíferos, incluidos en el género Mastadenovirus, y los de las aves, en el género Aviadenovirus. Los Mastadenovirus humanos se subdividen en función de sus propiedades antigénicas en subgéneros y serotipos. Su distribución es mundial y se han implicado en la etiología de las gastroenteritis infantiles los denominados «entéricos» o «no cultivables», conocidos como serotipos 40 y 41. La mayoría de los progresos en este campo se han debido al uso de la microscopía e inmunomicroscopía electrónicas, si bien en el diagnóstico de rutina la detección de antígenos víricos se realiza mediante técnicas de aglutinación con partículas de látex y enzimoanálisis. En el momento actual no disponemos de un tratamiento antivírico específico. PALABRAS CLAVE: ADENOVIRUS. GASTROENTERITIS.

ROLE OF ADENOVIRUSES IN INFANTILE GASTROENTERITIS. (SUMMARY): Human adenovirus have DNA as their genetic material. The outer covering of the virus is a protein coat, or capsid, containing 252 subunits called capsomeres, arranged in a icosahedral structure. Recently, the adenovirus family has been divided into two genera: adenovirus of mammals (mastadenoviruses), and those of birds (aviadenoviruses). Mastadenoviruses of humans have been further subdivided on the basis of antigenicity into subgenera and serotypes. Human adenovirus infections are ubiquitous, although there are slight variations in serotypes causing various syndromes in different parts of the world. There has been recent intense interest and investigative activity into the viral etiology of infantile diarrhea. These have also been called «enteric» or «uncultivable» adenovirus, but they have recently been serotyped and are now known as types 40 and 41. Much of the progress in this area has resulted from the use of electron microscopy and immune electron microscopy to identify virus particles morphologically and immunologically. A routine diagnosis involved the demonstration of adenovirus antigens in faeces for latex agglutination or that can be detected in an enzyme-linked immunosorbent assay. There are no specific drugs or therapeutic measures available for the treatment of adenovirus infections. KEY WORDS: ADENOVIRUS. GASTROENTERITIS.

INTRODUCCIÓN

Hasta hace sólo quince años se desconocía la etiología de la gastroenteritis infecciosa no bacteriana. Desde la década

de los 70, se descubrieron nuevos virus asociados a cuadros de diarrea, y su presencia en las heces de pacientes con gastroenteritis se relacionó con estos cuadros.

Entre los virus responsables de gastroenteritis se han identificado los rotavirus (1, 2), algunos adenovirus (3, 4), los virus Norwalk (5-9), calicivirus (10, 11), astrovirus (12, 13), y coronavirus (14) (Tabla I). Los enterovirus no se han asociado con casos de gastroenteritis (15). Todos estos virus se descubrieron al examinar en el microscopio electrónico heces y biopsias de intestino, de pacientes con cuadros diarreicos (1, 4, 16, 17). En general, no crecen bien en los cultivos de tejidos (4, 18-22) aunque, en la actualidad, se pueden propagar en algunas líneas celulares de forma limitada (23-25). Existe una gran variedad de ensayos de detección «in vitro» de estos virus, entre los que cabe destacar, el enzimoimmunoanálisis (EIA) (26-29), el radioinmunoanálisis (RIA) (30-33), la aglutinación de látex (AL) (34, 35) y la hibridación de ácidos nucleicos (27, 36).

TABLA I. VIRUS CAUSANTES DE GASTROENTERITIS

1. Causan enfermedad. Gran importancia epidemiológica.
a) Rotavirus
b) Adenovirus
c) Agente Norwalk
2. Causan enfermedad. Importancia epidemiológica desconocida.
a) Calicivirus
b) Astrovirus
3. Sospechosos de causar enfermedad. Importancia epidemiológica desconocida.
a) Coronavirus

La detección e identificación de estos agentes es de gran interés, ya que, en los países desarrollados, las gastroenteritis víricas constituyen el segundo cuadro clínico más importante, después de las enfermedades respiratorias causadas por virus (37). En el mundo, la gastroenteritis aguda asociada a deshidratación afecta a

unos 500 millones de niños anualmente. En los países subdesarrollados o en vías de desarrollo, la gastroenteritis aguda, incluyendo la de etiología vírica, es la causa más importante de fallecimiento entre los niños menores de cuatro años (38). De los virus mencionados anteriormente, los rotavirus son la causa más frecuente de gastroenteritis aguda en la población infantil, seguidos en importancia de los adenovirus (39, 40). La incidencia de las gastroenteritis por calicivirus, astrovirus y coronavirus en los niños es muy pequeña (17, 41); habiéndose demostrado brotes aislados de gastroenteritis en niños, adultos y ancianos, producidos por virus Norwalk y otros virus relacionados (30, 42, 43).

ADENOVIRUS ENTÉRICOS

La detección de adenovirus en las heces de pacientes con gastroenteritis (4, 16, 44-50) mediante microscopía electrónica (MEC) ha conducido a la denominación de adenovirus entéricos a los adenovirus productores de diarreas.

Los adenovirus son una amplia familia de virus que infectan al hombre, a diversos mamíferos y a algunas aves (51). Aunque al principio se asociaron con enfermedades respiratorias, actualmente implican también a infecciones oftálmicas, genitourinarias y existen algunos oncógenos. Los adenovirus se han observado en cuadros diarreicos de la población infantil (52, 53) y se consideran, después de los rotavirus, los segundos agentes infecciosos de naturaleza vírica responsable de diarreas en niños (41).

CLASIFICACIÓN

La familia *Adenoviridae* engloba los adenovirus humanos y de otros mamíferos, incluidos en el género *Mastadenovirus*, y los de las aves, en el género *Aviadenovirus*. En la actualidad se han

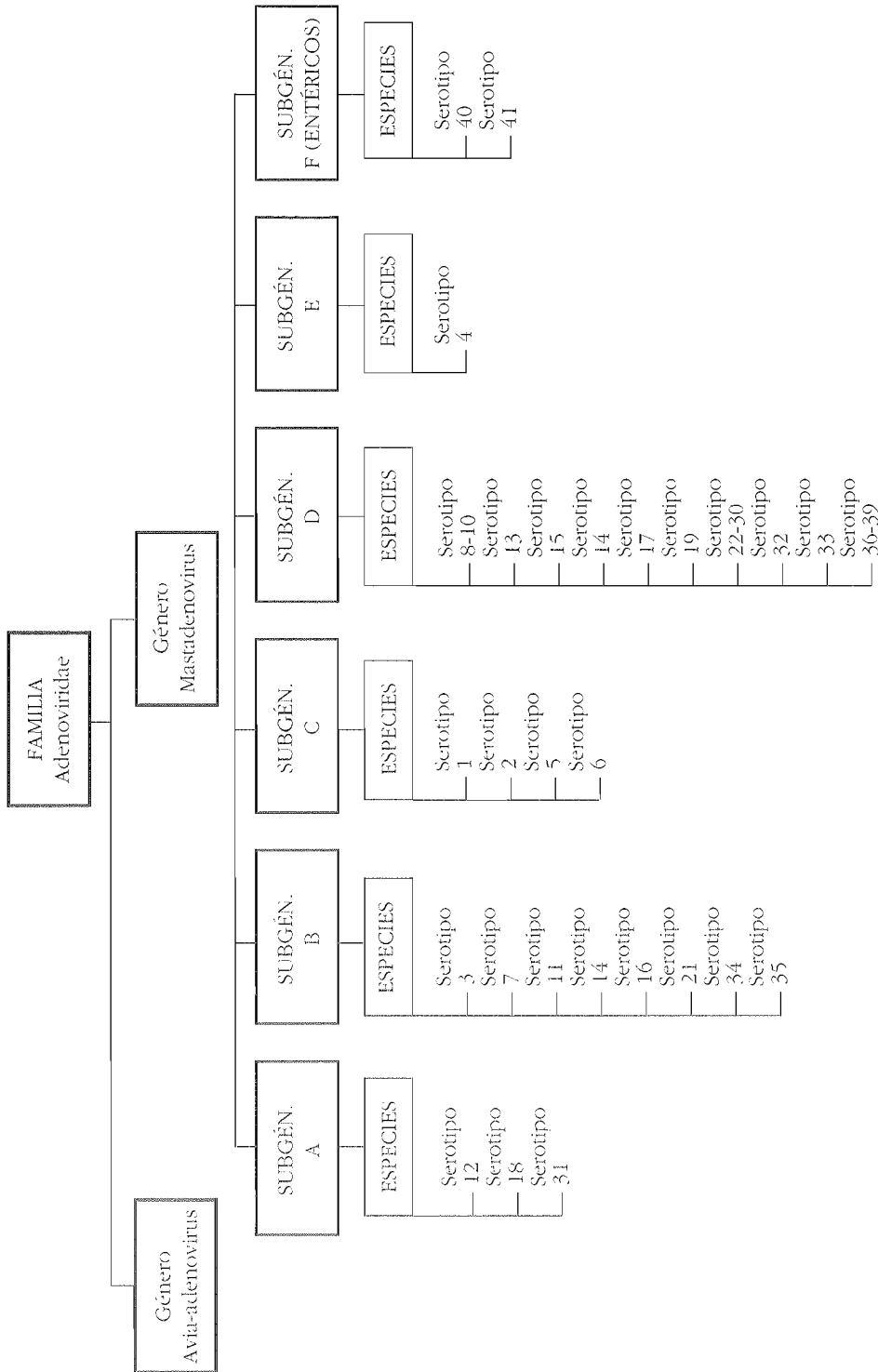


FIGURA 1. Clasificación taxonómica de los adenovirus

descrito hasta 41 especies (serotipos) distintas de adenovirus humanos. Los serotipos 40 y 41 del subgrupo F (subgénero F) son los conocidos como adenovirus entéricos (Figura 1).

PROPIEDADES BIOLÓGICAS

Morfología. Los adenovirus, son virus con apariencia esférica, con un diámetro de 70-90 nm., carecen de envoltura (éter resistentes) y poseen una cápside de simetría icosaédrica, compuesta por 12 pentones y 240 hexones. Los capsómeros que se sitúan en los vértices (pentones) llevan una proyección filamentosa (54).

Genoma. El material genético de los adenovirus está constituido por un ADN bicatenario lineal cuyo peso molecular oscila entre 20 y 25 Megadalton (55). Este ADN presenta una repetición terminal invertida de unos 100 pares de bases que permite la formación de bucles de ADN monocatenario.

Se han identificado cinco subgrupos de adenovirus (A, B, C, D y E) basándose en las relaciones existentes entre el ADN de 31 serotipos de adenovirus humanos estudiados (56). Comparando los patrones de restricción de ADN de los adenovirus del subgrupo F con los de otros subgrupos, se ha observado que los adenovirus entéricos tienen un patrón de restricción característico y constituyen un subgrupo aparte (51, 55).

El análisis de restricción ha puesto de manifiesto que en los adenovirus entéricos hay dos serotipos (o especies) distintos (21, 40). Aunque el ADN de los serotipos 40 y 41 tiene secuencias homólogas (58, 59) y dianas comunes para las endonucleasas de restricción (60), presenta, sin embargo, diferencias de migración electroforética de los fragmentos de restricción (61).

Proteínas y especificidad antigénica. Las proteínas de la cápside albergan los

determinantes antigénicos responsables de las diversas especificidades. Los antígenos de los hexones son responsables de la especificidad de grupo, subgrupo y tipo (55). Los antígenos de los pentones son responsables de la especificidad de grupo y subgrupo, y las proyecciones albergan determinantes antigénicos con especificidad de subgrupo y tipo (55).

Los 41 serotipos de adenovirus humanos tienen un antígeno de grupo común.

Se ha estudiado la relación entre los adenovirus de distintos serotipos en función de los polipéptidos estructurales del virión. Según dicho patrón, los adenovirus de los serotipos 1 al 39 se incluyen en los subgrupos del A al D, excepto los del serotipo 4 que se incluyen en el subgrupo E. Los adenovirus entéricos aislados de heces diarreicas tienen también un patrón de polipéptidos característicos y se incluyen en el subgrupo F (51, 55). Estos adenovirus entéricos presentan muchas similitudes biológicas y son indistinguibles mediante reacciones de Inhibición de la Hemaglutinación (62).

Manifestaciones Clínicas. Entre los síntomas asociados a la infección por adenovirus entéricos, la diarrea parece ser el síntoma predominante, acompañada (49, 63, 64) o no de vómitos (4). Estas manifestaciones clínicas van desde una enfermedad sin fiebre (4) hasta un estado comatoso (65) provocado por la deshidratación. La duración de los síntomas oscila entre 2 y 1 días con una media de 4-7 días (50) dependiendo del estudio. En general el cuadro de gastroenteritis por adenovirus entéricos es menos grave que el de rotavirus (66). La excreción fecal de adenovirus entéricos se puede prolongar durante más de ocho días, al menos en cantidades suficientes como para ser detectados mediante ME (63).

Respuesta inmunitaria a la infección. Existen escasos trabajos sobre la respuesta inmune a la infección por adenovirus entéricos. En un estudio de 377 sueros de

niños procedentes del Reino Unido, Nueva Zelanda, Hong Kong, Guatemala, Gambia y Kuwait se observaron reacciones de neutralización, que al menos el 33% de los sueros del Reino Unido, Hong Kong y de algunas regiones de Gambia tenían anticuerpos neutralizantes frente a los serotipos 40 y 41, y que el 60% de los de Nueva Zelanda presentaban también dichos anticuerpos. En los sueros de Kuwait sólo se detectaron dichos anticuerpos en el 15% y no se detectaron en ninguno de los de Guatemala (67).

Con la misma metodología se estudió la distribución de anticuerpos contra los serotipos 40 y 41 según las categorías de edad, poniéndose de manifiesto que el 20% de los niños entre 1 y 6 meses y el 50% de los comprendidos entre 37 y 48 meses presentaban anticuerpos frente a estos serotipos. Entre los adultos se ha observado que el 48% de los comprendidos entre 18 y 20 años de edad y el 10% de los mayores de 70 años presentaban también estos anticuerpos (68).

Diagnóstico de Laboratorio. Las técnicas de diagnóstico directo de laboratorio de la infección por adenovirus incluyen el cultivo y las técnicas de detección del virus o de parte de él. Entre estas últimas destacan la ME, la Inmunomicroscopía electrónica (IME), el EIA, el RIA, la AL y la hibridación de ácidos nucleicos, entre otras.

Cultivo. Las técnicas de detección citadas se han ido desarrollando debido a la dificultad de propagar en cultivos celulares normales los adenovirus de los serotipos 40 y 41 obtenidos de heces. Se ha observado que los adenovirus entéricos pueden propagarse en las células 293 de Graham (24, 69), que son células HEK transformadas mediante exposición a fragmentos de ADN de adenovirus del serotipo 5. En las líneas celulares normales, como por ejemplo las células HeLa, la propagación «in vitro» de los adenovirus entéricos se bloquea, posiblemente,

en las etapas más tempranas del ciclo de replicación del virus. Este bloqueo no ocurre en las células 293 de Graham (24). Las células 293 de Graham inoculadas con adenovirus entéricos procedentes de heces desarrollan un efecto citopático progresivo (ECP) después de varios días. La especificidad del ECP puede determinarse mediante Inmunofluorescencia. Además, el patrón de fluorescencia de estas células difiere, dependiendo de si han sido infectadas por adenovirus entéricos o por otros adenovirus (24).

Un problema derivado del empleo de las células 293 de Graham es que en ellas no sólo crecen los adenovirus entéricos, sino también otros adenovirus (70, 71). Por ello es necesario llevar cultivos normales paralelos de control.

Técnicas de detección. Al principio los adenovirus procedentes de heces se detectaban mediante ME. En la actualidad los serotipos 40 y 41 se pueden detectar por IME (72). Hay varias técnicas de detección de adenovirus, de antígeno de adenovirus o de su ADN, en muestras fecales. Algunos métodos son menos específicos, como la ME, la AL y algunos RIA y EIA con anticuerpos policlonales, ya que no distinguen los adenovirus entéricos de los otros adenovirus. Sin embargo, la IME y, algunos EIA y RIA con anticuerpos monoclonales, son específicos de los serotipos 40 y 41 (27, 31, 71). Además de estas técnicas de detección, recientemente se han descrito ensayos de hibridación de ácidos nucleicos muy sensibles para detectar adenovirus entéricos fecales. Las sondas empleadas suelen ser radiactivas (74-77), aunque existen otras marcadas con peroxidasa (58).

Epidemiología. Los adenovirus se consideran uno de los agentes infecciosos de naturaleza vírica más importantes como responsables de gastroenteritis en la población infantil (52, 53).

Fuente de infección y mecanismo de transmisión. El reservorio del virus pare-

ce ser exclusivamente humano y el mecanismo de transmisión es fecal-oral, a través de personas, alimentos o aguas de bebida contaminada (78).

Población susceptible. Los adenovirus infectan a la población infantil, preferentemente a los niños más pequeños (4, 63).

Prevalencia. Son relativamente cercanos los estudios de este tipo en nuestro país, algunos de los cuales se recogen en la Tabla II (57, 79, 82). Sus porcentajes oscilan entre el 0,3% comunicado por Orden et al. en Madrid (79) y el 16,6% hallado por Hernández et al. en Huércal-Overa (80). En nuestra Comunidad Autónoma nuestro grupo ha encontrado en un estudio publicado en 1990, un porcentaje del 2,6% (82). En otros países se han detectado adenovirus en un 10% (50), 11% (83), 11,5% (47), 15% (48) y 17% (84) de niños y jóvenes con diarrea. Aunque se han encontrado brotes hospitalarios de infección por adenovirus, esta infección tiende a tener un comportamiento más endémico que epidémico.

Factores epidemiológicos secundarios. La distribución de la infección por adenovirus es mundial, habiéndose detectado adenovirus en muchos países. Los estudios de ME han revelado que estos virus son el segundo agente etiológico de

naturaleza vírica responsable de diarreas en Estados Unidos, Reino Unido, países escandinavos y Sudáfrica (4, 16, 50, 66, 83, 85-87). En otros estudios han sido considerados como el tercer agente etiológico vírico en los Estados Unidos (41, 88). Canadá (17), India (89) y Sudáfrica (90), y el cuarto en Escocia (47). Según estudios realizados en Estados Unidos, Canadá y Escocia, las infecciones por adenovirus suelen ocurrir sin una distribución estacional (17, 41, 63, 85, 91), aunque cada vez se encuentran más casos durante los meses calurosos del año en los Estados Unidos (16, 83), Reino Unido (44), países escandinavos (92), Japón (93) y Sudáfrica (50, 87, 90).

Prevención y Tratamiento. No existen vacunas experimentales contra los serotipos 40 y 41, debido a los problemas derivados de la relativamente pobre replicación de estos serotipos en los cultivos celulares. Por otra parte, las células 293 de Graham no son apropiadas para la obtención de vacunas, ya que se trata de células transformadas. Además, se ha visto que los serotipos 40 y 41 pueden transformar las células de riñón de rata joven (94). Como las infecciones por adenovirus entéricos no son tan frecuentes, ni tan graves como las de rotavirus, la necesidad de una vacuna contra la infección por éstos está siendo algo eclipsada

TABLA II. ALGUNAS SERIES DE DETECCIÓN DE ADENOVIRUS EN HIECES, PUBLICADAS EN NUESTRO PAÍS

Autores	Ciudad	Año	N.º Muestras	Detección %
De La Loma et al. (57)	Madrid	1976-1981	445	7,6
Orden et al. (79)	Madrid	1989-1990	291	0,3
Hernández et al. (80)	Huércal-Overa	1990	66	16,6
Reina et al. (81)	Palma de Mallorca	1988	2.328	1,7
Reina et al. (81)	Palma de Mallorca	1989	2.527	1,3
Reina et al. (81)	Palma de Mallorca	1990	1.893	3,2
Ortiz de Lejarazu et al.	Valladolid	1990	772	2,6

por la de rotavirus. El tratamiento de esta infección incluye, como en el caso de los rotavirus, el mantenimiento del equilibrio

electrolítico y de los fluidos del organismo mediante rehidratación oral o parenteral (95).

BIBLIOGRAFÍA

1. BISHOP, R. F.; DAVIDSON, G. P.; HOLMES, I. H.; RUK, B. J.: *Virus particles in epithelial cells of duodenal mucosa from children with acute non-bacterial gastroenteritis*. Lancet 1973; 2: 1281-1283.
2. FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A. S.; DAVIES, H.: *Virus particles in gastroenteritis*. Lancet 1973; 2: 1497.
3. DE JONG, J. C.; WIGAND, R.; KIDD, A. H.; WADELL, G.; KAPSENBERG, J. G.; MUZERIE, C. J.; WERMENBOL, A. G.; FIRTZLAFF, R. G.: *Candidate adenoviruses 40 and 41: fastidious adenoviruses from human infant stool*. J. Med. Virol. 1983; 11: 215-231.
4. FLEWETT, T. H.; BRYDEN, A. S.; DAVIS, H.; MORRIS, C. A.: *Epidemic viral enteritis in a long-stay children's ward*. Lancet 1975; 1: 4-5.
5. APPLETON, H.; BUCKLEY, M.; THOM, B. T.; COTTON, J. L.; HENDERSON, S.: *Virus-like particulates in winter vomiting disease*. Lancet 1977; 1: 409-411.
6. DOLIN, R.; REICHMAN, T. C.; ROESSNER, K. D.; TRALKA, T. S.; SCHOOLFY, R. T.; GARY, W.; MORENS, D.: *Detection by immune electron microscopy of the Snow Mountain agent of acute viral gastroenteritis*. J. Infect. Dis. 1982; 146: 184-189.
7. KAPIKIAN, A. Z.; WYATT, R. G.; DOLIN, R.; THORNHILL, T. S.; KALIGA, A. R.; CHANOCK, R. M.: *Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm-particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis*. J. Virol. 1972; 10: 1075-1081.
8. OSHIRO, L. S.; HALEY, C. E.; ROBERTO, R. R.; RIGGS, J. L.; CROUGHLAN, M.; GREENBERG, H.; KAPIKIAN, A. Z.: *A 27-nm virus isolated during an outbreak of acute infectious nonbacterial gastroenteritis in a convalescent hospital: a possible new serotype*. J. Infect. Dis. 1981; 143: 791-796.
9. WYATT, R. G.; DOLIN, R.; BLACKLOW, N. R.; DUPONT, H. L.; BUSCHO, R. F.; THORNHILL, T. S.; KAPIKIAN, A. Z.; CHANOCK, R. M.: *Comparison of three agents of acute infectious nonbacterial gastroenteritis by cross-challenge in volunteers*. J. Infect. Dis. 1974; 129: 709-714.
10. FLEWETT, T. H.; DAVIES, H.: *Calicivirus in man*. Lancet 1976; 1: 311.
11. MADELEY, C. R.; COSGROVE, B. P.: *Caliciviruses in man*. Lancet 1976; 1: 199-200.
12. MADELEY, C. R.; COSGROVE, B. P.: *Viruses in infantile gastroenteritis*. Lancet 1975; 2: 124.
13. MADELEY, C. R.; COSGROVE, B. P.: *28-nm particles in faeces in infantile gastroenteritis*. Lancet 1975; 2: 451-452.
14. SCHOUB, B. D.: *Enteric adenoviruses and rotaviruses in infantile gastroenteritis in developing countries*. Lancet 1981; 2: 925.
15. BIRCH, C. J.; LEWIS, F. A.; KENNETT, M. L.; HOMOLA, M.; PRITCHARD, H.; GUST, I. D.: *A study on the prevalence of rotavirus infection in children with gastroenteritis admitted to an infectious disease hospital*. J. Med. Virol. 1977; 1: 69-77.
16. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; YOLKEN, R. H.; KAPIKIAN, A. Z.; ARROBIO, J. O.; RODRÍGUEZ, W. J.; WYATT, R. G.; CHANOCK, R. M.; PARROTT, R. H.: *Comparative epidemiology of two rotavirus serotypes and other viral agents associated with pediatric gastroenteritis*. Am. J. Epidemiol. 1979; 110: 243-254.
17. MIDDLETON, P. J.; SZYMANSKY, M. T.; PETRIC, M.: *Viruses associated with acute gastroenteritis in young children*. Am. J. Dis. Child. 1977; 131: 733-737.
18. BLACKLOW, N. R.; DOLIN, R.; FEDSON, D. S.; DUPONT, H.; NORTHRUP, R. S.; HORNICK, R. B.; CHANOCK, R. M.: *Acute infectious nonbacterial gastroenteritis: etiology and pathogenesis*. Ann. Intern. Med. 1972; 76: 933-1008.
19. CHIBA, S.; SAKUMA, Y.; KOGASAKA, R.; AKIHARA, M.; HORINO, K.; NAKAO, T.; FUKUI, S.: *An outbreak of gastroenteritis associated with calicivirus in an infant home*. J. Med. Virol. 1979; 4: 249-254.
20. CUBITT, W. D.; PEAD, P. J.; SAEED, A. A.: *A new serotype of calicivirus associated with an outbreak of gastroenteritis in a residential home for the elderly*. J. Clin. Pathol. 1981; 34: 924-926.
21. ECHEVERRÍA, P.; BLACKLOW, N. R.; CUKOR, G. G.; VIBULBANDHITKIT, S.; CHANGCHAWALIT, S.; BOONTHAI, P.: *Rotavirus as a cause of severe gastroenteritis in adults*. J. Clin. Microbiol. 1983; 18: 663-667.
22. DOLIN, R.; BLACKLOW, N. R.; DUPONT, H.; BUSCHO, R. F.; WYATT, R. G.; KANSEL, J. A.; HORNICK, R.; CHANOCK, R. M.: *Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis*. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 1972; 140: 578-593.
23. SATO, K.; INABA, Y.; SHINOZAKI, T.; FUJII, R.; MATSUMOTO, M.: *Isolation of human rotavirus cell cultures*. Arch. Virol. 1981; 69: 155-160.

24. TAKIFF, H. E.; STRAUS, S. E.; GARON, C. F.: *Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteric adenoviruses in 293 cells*. Lancet 1981; 2: 832-834.
25. URASAWA, T.; URASAWA, S.; TANIGUCHI, K.: *Sequential passage of human rotavirus in MA-104 cells*. Microbiol. Immunol. 1981; 25: 1025-1035.
26. HERRMANN, J. E.; KENT, G. P.; NOWAK, N. A.; BRONDUM, J. BLACKLOW, N. R.: *Antigen detection in the diagnosis of Norwalk virus gastroenteritis*. J. Infect. Dis. 1986; 154: 547-548.
27. JOHANSSON, M. E.; UHNOO, I.; KIDD, A. H.; MADELEY, C. R.; WADELL, G.: *Direct identification of enteric adenovirus, a candidate new serotype, associated with infantile gastroenteritis*. J. Clin. Microbiol. 1980; 12: 95-100.
28. SINGH-NAZ, N.; NAZ, R. K.: *Development and application of monoclonal antibodies for specific detection of human enteric adenoviruses*. J. Clin. Microbiol. 1986; 23: 840-842.
29. YOLKEN, R. H.; KIM, H. W.; CLEM, T.; WYATT, R. G.; KALICA, A. R.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z.: *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of human reovirus-like agent of infantile gastroenteritis*. Lancet 1977; 2: 263-266.
30. GREENBERG, H. B.; WYATT, R. G.; KALICA, A. R.; YOLKEN, R. H.; BLACK, R.; KAPIKIAN, A. Z.; CHANOCK, R. M.: *New insights in viral gastroenteritis*. Perspect. Virol. 1981; 11: 163-187.
31. HALONEN, P.; SARKKINEN, H.; ARSTILA, P.; HJERTSSON, E.; TORFASON, E.: *Four-Layer radioimmunoassay for detection of adenovirus in stool*. J. Clin. Microbiol. 1980; 11: 614-617.
32. KALICA, A. R.; PURCELL, R. H.; SERENO, M. M.; WYATT, R. G.; KIM, H. W.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z.: *A microtiter solid-phase radioimmunoassay for detection of human reovirus-like agent in stools*. J. Immunol. 1977; 118: 1275-1279.
33. NAKATA, S.; CHIBA, S.; TERASHIMA, H.; SAKUMA, Y.; KOGASAKA, R.; NAKAO, T.: *Microtiter solid-phase radioimmunoassay for detection of human calicivirus in stools*. J. Clin. Microbiol. 1983; 17: 198-201.
34. HAIKALA, O. J.; KOKKONEN, J. O.; LEINONEN, M. K.; NURMI, T.; MANTYJARVI, R.; SARKKINEN, H. K.: *Rapid detection of rotavirus in stool by latex agglutination: comparison with radioimmunoassay and electron microscopy and clinical evaluation of the test*. J. Med. Virol. 1983; 11: 91-97.
35. HUGHES, J. H.; TUOMARI, A. V.; MANN, D. R.; HAMPARIAN, V. V.: *Latex-immunoassay for rapid detection of rotavirus*. J. Clin. Microbiol. 1984; 20: 441-447.
36. FLORES, J.; PURCELL, R. H.; PÉREZ, I.; WYATT, R. G.; BOEGGEMAN, E.; SERENO, M.; WHITE, L.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z.: *A dot hybridization assay for detection of rotavirus*. Lancet 1983; 1: 555-559.
37. KAPIKIAN, A. Z.; WYATT, R. G.; GREENBERG, H. B.; KALICA, A. R.; KIM, H. W.; BRANDT, C. D.; RODRÍGUEZ, W. J.; PARROT, R. H.; CHANOCK, R. M.: *Approaches to immunization of infants and young children against gastroenteritis due to rotavirus*. Rev. Infect. Dis. 1980; 2: 459-469.
38. TOLJA, V. K.; DUBOIS, R. S.: *Update of oral rehydration; its place in treatment of acute gastroenteritis*. Pediatr. Ann. 1985; 14: 295-303.
39. RIEPENHOFF-TALTY, M.; BOGGER-GOREN, S.; LI, P.; CARMODY, P. J.; BARRETT, H. J.; OGRA, P. L.: *Development of serum and intestinal antibody response to rotavirus after naturally acquired rotavirus infection in man*. J. Med. Virol. 1981; 8: 215-222.
40. UHNOO, I.; WADELL, G.; SVENSSON, L.; JOHANSSON, M.: *Two new serotypes of enteric adenovirus causing infantile diarrhoea*. Dev. Biol. Stand. 1983; 53: 311-318.
41. RIEPENHOFF-TALTY, M.; SAIF, L. J.; BARRETT, H. J.; SUZUKI, H.; OGRA, P. L.: *Potential spectrum of etiological agents of viral enteritis in hospitalized infants*. J. Clin. Microbiol. 1983; 17: 352-356.
42. GREENBERG, H. B.; VALDESUSO, J.; YOLKEN, R. H.; GANGAROSA, E.; GARY, W.; WYATT, R. G.; KONNO, T.; SUZUKI, H.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z.: *Role of Norwalk virus in outbreaks of nonbacterial gastroenteritis*. J. Infect. Dis. 1979; 139: 564-568.
43. KAPLAN, J. E.; GARY, G. W.; BARON, R. C.; SINGH, N.; SCHONBERGER, L. B.; FELDMAN, R.; GREENBERG, H. B.: *Epidemiology of Norwalk gastroenteritis and the role of Norwalk virus in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis*. Ann. Intern. Med. 1982; 96: 756-761.
44. FLAWETT, T. H.: *Diagnosis of enteritis virus*. Proc. R. Soc. Med. 1976; 69: 693-696.
45. GARY, G. W.; HIERHOLZER, J. C.; BLACK, R. E.: *Characteristics of noncultivable adenoviruses associated with diarrhoea in infants: a new subgroup of human adenoviruses*. J. Clin. Microbiol. 1979; 10: 96-103.
46. KIDD, A. H.; MADELEY, C. R.: *In vitro growth of some fastidious adenoviruses from stool specimens*. J. Clin. Pathol. 1981; 34: 213-216.
47. MADELEY, C. R.; COSGROVE, B. P.; BELL, E. J.; FALLON, R. J.: *Stool viruses in babies in Glasgow I. Hospital admissions with diarrhoea*. J. Hyg 1977; 78: 261-273.
48. RETTER, M.; MIDDLETON, P. J.; TAM, J. S.; PETRIC, M.: *Enteric adenoviruses; detection, replication and significance*. J. Clin. Microbiol. 1979; 10: 574-578.
49. RICHMOND, S. J.; DUNN, S. M.; CAUL, E. O.; ASHLEY, C. R.; CLARKE, S. K. R.: *An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses*. Lancet 1979; 1: 1178-1180.

50. SCHOUB, B. D.; KOORNHOF, H. J.; LECATSAS, G.; PROZESKY, O. W.; FREIMAN, I.; HARTMAN, E.; KASSEL, H.: *Viruses in acute summer gastroenteritis in black infants*. *Lancet* 1975; 1: 1093-1094.
51. WADELL, G.: *Molecular epidemiology of human adenoviruses*. *Cult. Top. Microbiol. Immunol.* 1984; 110: 191-220.
52. JONCAS, J.; MOISAN, A.; PAVILANIS, V.: *Incidence of adenovirus infection: a family study*. *Can. Med. Assoc. J.* 1962; 87: 52-58.
53. MOFFET, H. L.; SHULENBERGER, H. K.; BURKHOLDER, E. R.: *Epidemiology and etiology of severe infantile diarrhea*. *J. Pediatr.* 1968; 72: 1-14.
54. MATTHEWS, R. E. F.: *The classification and nomenclature of viruses*. *Intervirology* 1979; 11: 133-135.
55. WADELL, G.; HAMMARSKJÖLD, M. L.; WINBERG, G.; BARSANYI, T. M.; SUNDELL, G.: *Genetic variability of adenoviruses*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1980; 354: 16-42.
56. GREEN, M.; MACKAY, J. K.; WOLD, W. S. M.; RIGDEN, P.: *Thirty-one human adenovirus serotypes (Ad1-Ad31) from five groups (A-E) based upon DNA genome homologies*. *Virology* 1979; 93: 481-492.
57. DE LA LOMA DANILOVA, A.; SÁNCHEZ-FAUQUIER, A.; CARRASCO GANDÍA, S.; HERRERA CALVET, I.: *Virus en síndromes diarréicos agudos en la infancia*. *Inmunológica* 1982; 4: 203-209.
58. NIEL, C.; GOMES, S. A.; LEITE, J. P. G.; PEREIRA, H. G.: *Direct detection and differentiation of fastidious and nonfastidious adenovirus in stools by using a specific nonradiative probe*. *J. Clin. Microbiol.* 1986; 24: 785-789.
59. VAN LOON, A. E.; ROZIJN, T. H.; DE JONG, J. C.; SUSSENBACH, J. S.: *Physicochemical properties of the DNAs of the fastidious adenovirus species 40 and 41*. *Virology* 1985; 140: 197-200.
60. TAKIFF, H. E.; REINHOLD, W.; GARON, C. F.; STRAUS, S. E.: *Cloning and physical mapping of enteric adenovirus (candidate type 40 and 41)*. *J. Virol.* 1984; 51: 131-136.
61. KIDD, A. H.; BERKOWITZ, F. E.; BLASKOVIC, P. J.; SCHOUB, B. D.: *Genome variants of human adenovirus 40 (subgroup F)*. *J. Med. Virol.* 1984; 14: 235-246.
62. KIDD, A. H.: *Genome variants of adenovirus 41 (subgroup G) from children with diarrhoea in South Africa*. *J. Med. Virol.* 1984; 14: 49-59.
63. KIDD, A. H.; COSGROVE, B. D.; GROWN, R. A.; MADELEY, C. R.: *Faecal adenoviruses from Glasgow babies. Studies on culture and identity*. *J. Hyg.* 1982; 88: 463-474.
64. UHNOO, I.; WADELL, G.; SVENSSON, L.; JOHANSSON, M.: *Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children*. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 20: 365-372.
65. WOOD, D. J.; BAILEY, A. S.: *Detection of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by immune electron microscopy*. *J. Med. Virol.* 1987; 21: 191-199.
66. UHNOO, I.; OLDING-STENKVIST, E.; KREUGER, A.: *Clinical features of acute gastroenteritis associated with rotavirus, enteric adenoviruses and bacteria*. *Arch. Dis. Child.* 1986; 61: 732-738.
67. KIDD, A. H.; BANATVALA, J. E.; DE JONG, J. C.: *Antibodies to fastidious faecal adenovirus (species 40 and 41) in sera from children*. *J. Med. Virol.* 1983; 11: 333-341.
68. SHINOZAKI, T.; ARAKI, K.; USHIJIMA, H.; FUJII, R.: *Antibody responses to enteric adenovirus types 40 and 41 in sera from people in various age groups*. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25: 1679-1682.
69. GRAHAM, F. L.; SMILEY, J.; RUSSEL, W. C.; NARR, R.: *Characteristics of a human cell line transformed by DNA from human adenovirus type 5*. *J. Gen. Virol.* 1977; 36: 59-72.
70. BROWN, M.: *Selection of nonfastidious adenovirus species in 293 cells inoculated with stool specimens containing adenovirus 40*. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22: 205-209.
71. BROWN, M.; PETRIC, M.; MIDDLETON, P. J.: *Diagnosis of fastidious enteric adenoviruses 40 and 41 in stool specimens*. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 20: 334-338.
72. WOOD, D. J.; BAILEY, A. S.: *Detection of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by immune electron microscopy*. *J. Med. Virol.* 1987; 21: 191-199.
73. JOHANSSON, M. E.; UHNOO, I.; SVENSSON, L.; PETTERSSON, C. A.; WADELL, G.: *Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of enteric adenovirus 41*. *J. Med. Virol.* 1985; 17: 19-27.
74. HAMMOND, G.; HANNAN, C.; YEH, T.; FISCHER, K.; MAITHE, G.; STRAUS, S. E.: *DNA hybridization for diagnosis of enteric adenovirus infection from directly spotted fecal specimens*. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25: 1881-1885.
75. KIDD, A. H.; HARLEY, E. H.; ERASMUS, M. J.: *Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot-blot hybridization*. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22: 934-939.
76. STALHANDSKE, P.; HYPPIA, R.; ALLARD, A.; HALONEN, P.; PETTERSON, U.: *Detection of adenoviruses in stool specimens by nucleic acid spot hybridization*. *J. Med. Virol.* 1985; 16: 213-218.
77. TAKIFF, H. E.; SEIDLIN, M.; KRAUSE, P.; ROONEY, J. BRANDT, C.; RODRÍGUEZ, W.; YOLKEN, R.; STRAUS, S. E.: *Detection of enteric adenoviruses by dot-blot hybridization using a molecularly cloned viral DNA probe*. *J. Med. Virol.* 1985; 16: 107-118.
78. TIEMESSEN, C. T.; WEGERHOFF, F. O.; ERASMUS, M. J.; KIDD, A. H.: *Infection by enteric adenoviruses, rotaviruses and other agents in a rural african environment*. *J. Med. Virol.* 1989; 28: 176-182.
79. ORDEN, B.; FRANCO, A.: *Acerca de las gastroenteritis por adenovirus*. *Enf. Infect. Microbiol. Clin.* 1991; 9: 313.

80. HERNÁNDEZ, J. M.; CARRILLO, F.; JIMÉNEZ, R.; MARTÍNEZ, A.: *Detección de adenovirus entéricos*. *Enf. Infecc. Microbiol. Clin.* 1991; 9: 313-314.
81. REINA, J.; FIGUEROA, J.: *Gastroenteritis por adenovirus en pacientes pediátricos: utilidad de la búsqueda rutinaria*. *Enf. Infecc. Microbiol. Clin.* 1991; 9: 584-585.
82. ORTIZ DE LEJARAZU LEONARDO, R.; REGUERA USEROS, J. I.; COCA GARCÍA, M. C.: *et al.* *Utilidad de una técnica rápida para detección de adenovirus en heces de niños*. *An. Esp. Pediatr.* 1990; 32: 233-236.
83. KAPIKIAN, A. Z.; KIM, H. W.; WYATT, R. G.; CLINE, W. L.; ARROBIO, J. O.; BRANDT, C. D.; RODRÍGUEZ, W. J.; SACK, D. A.; CHANOCK, R. M.; PARROTT, R. H.: *Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with winter gastroenteritis in hospitalized infants and young children*. *N. Engl. J. Med.* 1976; 294: 965-972.
84. SPRATT, H. C.; MARKS, M. I.; GOMERSAL, M.; GILL, P.; PAI, C. H.: *Nosocomial infantile gastroenteritis associated with minivrotavirus and calicivirus*. *J. Pediatr.* 1978; 93: 922-926.
85. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRÍGUEZ, W. J.; ARROBIO, J. O.; JEFFRIES, B. C.; STALLINGS, E. P.; LEWIS, C.; MILES, A. J.; CHANOCK, R. M.; KAPIKIAN, A. Z.; PARROT, R. H.: *Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study*. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 18: 71-78.
86. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRÍGUEZ, W. J.; THOMAS, L.; YOLKEN, R. H.; ARROBIO, J. O.; KAPIKIAN, A. Z.; PARROTT, R. H.; CHANOCK, R. M.: *Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy and rotavirus enzyme-linked immunosorbent assay for detection of gastroenteritis virus in children*. *J. Clin. Microbiol.* 1981; 13: 976-981.
87. KIDD, A. H.; ROSENBLATT, A.; BESSELAAR, T. G.; ERASMUS, M. J.; TIEMESSEN, C. T.; BERKOWITZ, F. E.; SCHOUB, B. D.: *Characterization of rotaviruses and subgroup F adenoviruses from acute summer gastroenteritis in South Africa*. *J. Med. Virol.* 1986; 18: 159-168.
88. PAYNE, C. M.; RAY, C. G.; BORDUIN, V.; MINNICH, L. L.; LEBOWITZ, M. D.: *An eight-year study of the viral agents of acute gastroenteritis in humans: ultrastructural observations and seasonal distribution with a major emphasis on coronavirus-like particles*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1986; 5: 39-54.
89. MAIYA, P. P.; PEREIRA, S. M.; MATHAN, M.; BATH, P.; ALBERT, M. J.; BAKFR, S. J.: *Aetiology of gastroenteritis in infancy and early childhood in southern India*. *Arch. Dis. Child.* 1977; 52: 482-485.
90. DOWLING, J. M.; WYNNF, H.: *Role of enteric adenoviruses and rotaviruses in infantile gastroenteritis*. *Lancet* 1981; 2: 305-306.
91. BRANDT, C. D.; KIM, H. W.; RODRÍGUEZ, W. J.; ARROBIO, J. O.; JEFFRIES, B. C.; STALLINGS, E. P.; LEWIS, C.; MILES, A. J.; GARDNER, M. K.; PARROTT, R. H.: *Adenovirus and pediatric gastroenteritis*. *J. Infect. Dis.* 1985; 151: 437-443.
92. VESIKARI, E.; MAKI, M.; SARKKINEN, H. J.; ARSTILA, P. P.; HALONEN, P. E.: *Rotavirus, adenovirus and non-viral enteropathogens in diarrhoea*. *Arch. Dis. Child.* 1981; 56: 264-270.
93. CHIBA, S.; NAKAMURA, I.; URAKAWA, S.; NAKATA, S.; TANIGUCHI, K.; FUJINAGA, K.; NAKAO, T.: *Outbreak of infantile gastroenteritis due to type 40 adenovirus*. *Lancet* 1983; 2: 954-957.
94. VAN LOON, A. E.; MAAS, R.; VAENSEN, R. T. M. J.; REEMST, A. M. C. B.; SUSSENBACH, J. S.; ROZIJN, T. H.: *Cell transformation by the left terminal regions of the adenovirus 40 and 41 genomes*. *Virology* 1985; 147: 227-230.
95. BAUM, S. G.: *Adenovirus*. En: Mandell, G. L., Douglas, R. G., Bennett, J. E., eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, New York, Churchill Livingstone, 1990: 1185-1191.

Petición de separatas:

J. I. REGUERA USEROS
 C/ Teniente Velasco, 8. 2.ª D
 34002 PALENCIA