

- 1973, 115: 817-821.
5. Cobo, E. Characteristics of the spontaneous milk ejecting activity occurring during human lactation. *J Perinat Med*, 1992 (en prensa).
 6. Cobo, E. Posibles patrones de liberación de oxitocina endógena en la lactancia humana. *Colombia Med*, 1992, 23 :57-64.
 7. Wakerley, JB & Lincoln, DW. The milk-ejection reflex on the rat: a 20 to 40-fold acceleration in the firing of paraventricular neurones during oxytocin release. *J Endocrinol*, 1973, 57: 477-493.
 8. Poulain, DA & Tasker, JCJ. Recurrent mammary gland contractions induced by low tonic release of oxytocin in rats. *Endocrinology*, 1985, 107: 89-96.
 9. McNeilly, AS & McNeilly, JR. Spontaneous milk ejection during lactation and its possible relevance to success of breast-feeding. *Br Med J*, 1978, 2: 466-468.
 10. Lincoln, DW, Hill & Wakerley, JB. The milk ejection reflex of the rat: an intermittent function not abolished by surgical levels of anaesthesia. *J Endocrinol*, 1973, 57: 459-476.
 11. Lau, C & Henning, SJ. Mammary resistance: a possible controlling factor in milk ejection. *J Endocrinol*, 1987, 112: 379-385.

Análisis genómico de la transmisión de adenovirus respiratorios humanos¹

Felipe García Vallejo, Ph.D², Harold Solís, B.Sc.³, Martha Cecilia Domínguez, M.Sc.³, Isabella Borrero, M.Sc.⁴

RESUMEN

A partir de 84 muestras respiratorias y fecales, se recuperaron 3 pares de adenovirus. Se efectuó el análisis de restricción de los 3 pares de adenovirus que representan un modelo de estrecho contacto. Con el criterio de análisis de restricción un par se identificó como adenovirus serotipo 2 Ton 99; otro como adenovirus serotipo 6 (variante A6.1) y el último como adenovirus 3 cepa GB. La comparación de los perfiles de restricción en los pares de aislados demostró una completa comigración en cada caso. Se obtuvieron evidencias de que el análisis de restricción es una herramienta poderosa para estudiar los mecanismos de transmisión de adenovirus respiratorios en niños en estrecho contacto.

Los adenovirus humanos son patógenos de importancia, causantes de enfermedades sobre todo en niños y adultos jóvenes¹. Los serotipos de adenovirus humanos se asocian con distintas afecciones gastrointestinales², o genitourinarias³, y del tracto

respiratorio¹. Recientemente se han presentado evidencias de su asociación con personas que tienen compromisos inmunitarios⁴.

Se conocen 47 tipos de adenovirus humanos que se agrupan en 7 subgéneros (A a G). Esta clasificación ha tenido como base criterios inmunológicos, de oncogenicidad en roedores, contenido guanina/citosina y patrones de polipéptidos y análisis de restricción⁵.

Dentro de las estrategias más comunes para determinar un aislamiento adenoviral, se considera la neutralización. Esta técnica no es representativa de las variaciones genéticas que se observan dentro de los miembros de un mismo serotipo³. Además, en la prueba de neutralización que identifica determinantes antigénicos comunes a diferentes serotipos, se observan señales de reactividad cruzada. Este hecho muestra la posibilidad de ocurrencia de eventos de recombinación del genoma adenoviral durante las fases de crecimiento en el organismo y los pasos de replicación en cultivos celulares *in vitro*. Si se considera la premisa anterior, el empleo de otras estrategias experimentales sería una alternativa con mayor poder de resolución.

Las endonucleasas de restricción de tipo II son enzimas cuya actividad de hidrólisis del enlace fosfodiéster 5'-3' depende de las secuencias de 4 a 6 nucleótidos ordenados en una combinación determinada. Este hecho hace que se generen cantidades equivalentes de fragmentos de ADN según

1. Este trabajo fue financiado con fondos del Proyecto Acute Respiratory Infections/BOSTID/NSF y de la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle, Cali, Colombia
2. Profesor Titular, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
3. Investigadores Asociados, Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
4. Profesora Asociada, Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

el número de secuencias blanco que tenga el ADN que se va a analizar con esas enzimas. Según este postulado, entonces es posible someter a digestión con endonucleasas del tipo II 2 ADN obtenidos en aislamientos distintos. Si los resultados muestran segmentos de restricción comigrantes, es posible concluir que los dos genomas son idénticos y que por tanto son aislados pertenecientes a la misma variante genética de un serotipo definido³.

En este sentido el análisis del genoma adenoviral, con endonucleasas de restricción del tipo II ha demostrado ser de gran ayuda tanto en la taxonomía viral como en el reconocimiento de una extensa variabilidad genética de aislados. Además, si se utilizan varias endonucleasas es posible obtener una idea de mayor precisión con respecto a la variabilidad genómica de los virus en las poblaciones^{3,6}.

La transmisión de adenovirus implica tanto la entrada del virus al cuerpo como su expulsión por distintas superficies, p.e., piel, mucosas respiratoria y gastrointestinal, ojos y tejidos genitourinarios. Estas vías se conocen como respiratorias, entéricas y de contacto íntimo⁷. El contacto directo es el mecanismo principal para dispersar adenovirus en los niños y se convierte en una ruta importante para que se diseminen las infecciones respiratorias agudas (IRA)⁸.

Con la enfermedad respiratoria se han asociado varios serotipos de adenovirus. En general, algunos miembros de los subgéneros B^{3,7}, C^{2,6} y D⁸ son los agentes etiológicos de episodios de IRA en los niños⁹.

La variabilidad genómica intratípica que se observa mediante el análisis de restricción, es una herramienta poderosa, para analizar los patrones de transmisión en los virus ADN. Es de importancia epidemiológica, pues se puede adoptar como una técnica simple para evaluar las probables rutas de infección entre personas en condiciones de estrecho contacto. De esta manera si los perfiles de restricción son idénticos en muestras distintas es posible definirlos como genómicamente correlacionados; sin embargo, si revelan diferencias se tratará de adenovirus distintos. Esta clase de enfoque se ha utilizado con éxito para determinar las rutas de infección con herpes simplex¹⁰ y citomegalovirus¹¹.

En este trabajo se presentan los resultados al aplicar el análisis de restricción a 3 pares de aislados de adenovirus en niños con IRA que vivían en condi-

ciones de contacto cercano.

MATERIALES Y METODOS

Muestras clínicas. En niños de 0 a 5 años se obtuvieron 84 aspirados nasofaríngeos y muestras fecales. Todos los niños que presentaban episodios de IRA diagnosticados clínicamente, se seleccionaron de familias que vivían en hacinamientos. Los criterios de hacinamiento adoptados en este estudio fueron: tamaño de la habitación (menor de 30 m²); número de personas que la comparten (más de 5); y tiempo de contacto estrecho con secreciones de niños infectados (mayor de 3 meses)

Virus y cultivo celular. Tanto los especímenes nasofaríngeos como fecales se centrifugaron a 200 rpm en centrífuga refrigerada (Sorvall RC-2B) durante 5 minutos; 1 ml del sobrenadante de cada una de las muestras se inoculó en células REH (riñón embrionario humano). El efecto citopático (ECP) de la monocapa se monitoreó diariamente con ayuda de un microscopio de luz invertida. Después de observar 80% del ECP, las monocapas se almacenaron a -70°C hasta su utilización.

Se efectuaron pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para determinar la presencia de adenovirus. En todas las pruebas de IFI se utilizó anti-suero antihexon de pollo¹². La reconfirmación de infección adenoviral, se efectuó mediante experimentos de hibridización de ácidos nucleicos en "dot-blot" (punto de mancha)¹³. En todos los casos se utilizó como sonda diagnóstica el clon recombinante pAd8-117 que contiene el segmento C/D de Hind III del adenovirus 8 cepa Trim. El ADN del clon pAd8-117 se radiomarcó con alfa ³²pdATP usando el estuche multiprime de Pharmacia¹⁴.

Extracción del ADN de adenovirus. Las muestras de aspirados nasofaríngeos y de materia fecal positiva en ensayos de hibridización en "punto de mancha", se emplearon para extraer el ADN viral mediante el método desarrollado por Hirt¹⁵ con algunas modificaciones introducidas por Renjifo¹⁶. Las monocapas infectadas se sometieron a ciclos sucesivos de congelación y descongelación, las células se lisaron y el ADN de alto peso molecular se precipitó diferencialmente en solución de NaCl 2M durante toda la noche a 4°C. El ADN final se purificó mediante extracciones sucesivas con fenol, fenol:cloroformo (1/1', V/V) y cloroformo, y luego se precipitó mediante la adición de 2.5 volúmenes de etanol absoluto a -70% durante 30 minutos¹⁷.

Cuadro 1
Caracterización Biológica de los Adenovirus Recuperados de Niños con IRA.

Muestra N°	Edad (años)	Origen	ECP en		IFA en	Hibridización con pAd8-117		Análisis genómico ^a
			Hep ²	EHK	Hep ² b	Hep ²	EHK	
IRA 7008	1	Heces	+	+	+++	+	+	Adenovirus 2 AD
IRA 7016	1	Heces	+	+	+++	+	+	Adenovirus 2 AD
IRA 7068	2	Respiratorio	+	+	+++	+	+	Adenovirus 6 AVE 1 variante ^a
IRA 7069	2	Respiratorio	+	+	+++	+	+	Adenovirus 6 AVE 1 variante ^a
IRA ^c 0116	1	Respiratorio	+	+	+++	+	+	Adenovirus 3 cepa GB
IRA ^c 0097	1	Respiratorio	-	+	++	-	+	Adenovirus 3 cepa GB

a Criterio de IFA utilizado: muestra positiva (+++); inconsistente (++) o (+).

b De acuerdo con Adrian et al.¹⁸

c Aislados obtenidos de un mismo niño durante 2 episodios continuos de IRA.

El ADN de cada muestra se visualizó mediante electroforesis en gel de agarosa/bromuro de etidio y se demostró la fluorescencia emitida por el bromuro de etidio¹⁷. El ADN de cada aislamiento se usó para hibridarlo con el clon pAd8-117 marcado con alfa ³²pdATP según lo descrito por Maniatis *et al.*¹⁷.

Análisis de restricción. El ADN de los aislados adenovirales, se trató con las endonucleasas de restricción Hind III, Sma I, Bgl II (Amersham), Bgl I, Sau 96.1, Msp I, Kpn I, Eco RI de BRL, (Bethesda). Los patrones de restricción fueron resueltos en un gel de agarosa (1 a 1.2%)¹³. La visualización se efectuó mediante la observación del patrón de bandas fluorescentes con luz ultravioleta. Los perfiles de restricción se compararon con los descritos por Adrian et al.¹⁸ La comparación de los perfiles se efectuó mediante un programa de computador adaptado del COMAP¹⁸.

RESULTADOS

Características de los aislamientos adenovirales. El Cuadro 1 resume la caracterización biológica de 6 aislamientos adenovirales obtenidos en pares de niños con episodios de IRA. Un aspecto importante es la alta correlación existente entre la caracterización del aislado por el método de inmunofluorescencia y la homología en experimentos de hibridación en punto mancha con el clon

recombinante pAd8-117. Este par de técnicas permitieron caracterizar al aislado IRA 116 como adenovirus a pesar de no presentar crecimiento en las monocapas de células Hep 2. El Cuadro 1 también muestra la relación de crecimiento de los distintos aislados tanto en las células Hep 2 como en las monocapas de REH.

Caracterización genómica de los adenovirus. Al emplear como criterio los patrones de restricción de ADN en los pares de aislados, fue posible establecer de forma confiable su identidad genética. En el par de aislados IRA 7008 e IRA 7016, se estableció que los perfiles de restricción son concordantes con los del adenovirus serotipo 2, cepa de referencia. En este sentido los patrones con Sma I y Bam HI que mostraron 4 y 10 fragmentos, respectivamente, fueron comigrantes con los del adenovirus 2, cepa de referencia (Cuadro 1).

Los aislados IRA 7068 y 7069 que se recuperaron a partir de muestras de aspirado nasofaríngeo de 2 niños con IRA, se sometieron a digestión con Bgl II y Bam HI. En este caso los segmentos 9 y 4 de ADN obtenidos, fueron 80% comigrantes con los correspondientes al serotipo 6, cepa de referencia. Los exámenes de otros patrones de variantes genómicas estudiadas antes, mostraron que el par de aislados pertenecían a la variante A6.1.

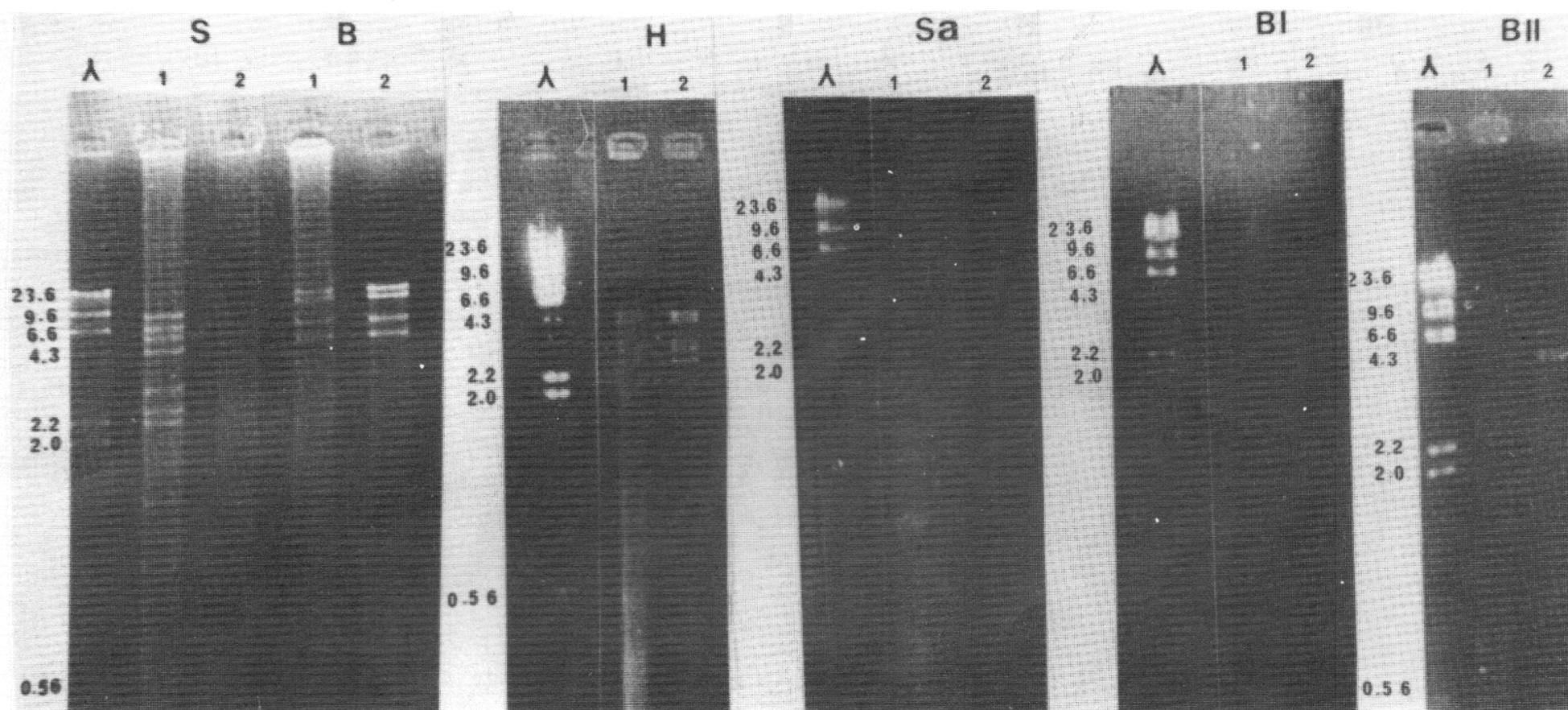


Figura 1. Análisis de restricción de dos adenovirus recuperados de muestras fecales de dos niños en estrecho contacto. El ADN de los aislados IRA 7008 e IRA 7016 fue sometido a digestión con varias endonucleasas de restricción. Los fragmentos generados se separaron mediante electroforesis en geles de agarosa y se visualizaron sobre fluorescencia con bromuro etidio en luz ultravioleta. (B II), Bgl II; (B I), Bgl I; (H), Hind III; (S), Sma I; (B), BamH I; (Sa), Sau 96.1; (λ) ADN del bacteriófago lambda digerido con Hind III; (1), IRA 7008; (2), IRA 7016.

Finalmente cuando se estudiaron los IRA 0097 y 0116 recuperados en 2 episodios de un niño con IRA, se observó una correspondencia absoluta con los patrones de adenovirus 3 cepa GB.

Constancia de genomas durante transmisión en estrecho contacto. El par de aislados IRA 7008 y 7016, obtenido de 2 niños con episodios de IRA en las condiciones determinadas en este estudio, se sometió a restricción con las endonucleasas Sma I, Bam HI, Hind III, Sau 96.1, Bgl I y Bgl II. Se obtuvieron 33 fragmentos de restricción todos ellos coincidentes con el ADN en ambos adenovirus (Figura 1).

El mismo tipo de análisis se efectuó con el par IRA 7068 y 7069. Este par de adenovirus se había caracterizado previamente como adenovirus serotipo 6. La comparación de los perfiles de restricción con las endonucleasas Bgl II, Bgl I, Hind III, Bam HI, Sma I, Msp I, Sau 96.1 mostró un total de 44 fragmentos todos ellos correspondientes en los 2 adenovirus recuperados (Figura 2)

Por último, los adenovirus IRA 0097 y 0116 también se analizaron con las endonucleasas de restricción Bgl I, Bgl II, Kpn I, Hind III, EcoK I y Sma I. Todos los 47 segmentos que se visualizaron por electroforesis

en gel de agarosa fueron 100% comigrantes en los 2 aislamientos (Figura 3).

DISCUSION

En este trabajo se emplearon 4 criterios metodológicos diferentes para confirmar la presencia de las muestras de adenovirus. Estos criterios fueron útiles en la cuantificación de adenovirus a partir de muestras clínicas respiratorias y fecales. De acuerdo con la premisa anterior, se demostraron resultados contradictorios y que dependieron del tipo de célula que se utilizó para los experimentos de propagación *in vitro* del virus. El aislado 0116 mostró proliferación en REH y/o en monocapas de Hep 2 (el punto mancha fue negativo para el caso de diagnóstico por opinión clínica).

En este caso tanto el criterio de ECP como el de hibridación fueron positivos cuando el virus se propagó en monocapas de la línea celular Hep-2. Estos resultados son compatibles con aquellos en que se ensayó la presencia del ADN adenoviral en electroforesis en geles de agarosa. Excepto en el aislado 0116, crecido en células Hep 2, fue posible determinar una banda de ADN cuyo tamaño molecular es de 34 kb. En el adenovirus 0116 además de

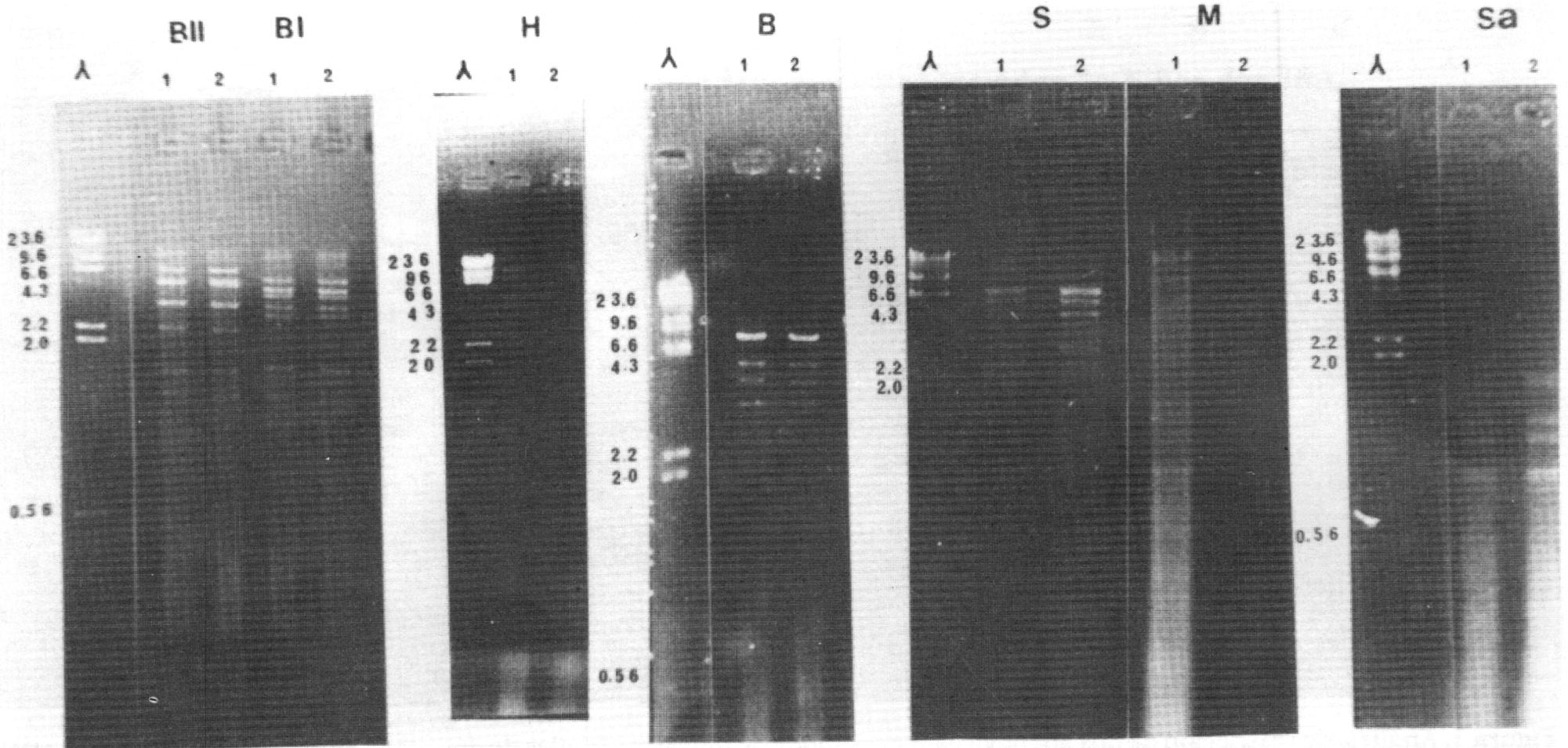


Figura 2. Análisis de restricción de un par de adenovirus aislados de aspirados nasofaríngeos de niños con IRA en condiciones de estrecho contacto. El procesamiento del ADN de los aislados IRA 7068 e IRA 7069 fue semejante al descrito en la Figura 1. (B II), Bgl II; (B I), Bgl I; (H), Hind III; (S), Sma I; (B), BamH I; (Sa), Sau 96.1; (λ) ADN del bacteriófago lambda digerido con Hind III; (1), IRA 7068; (2), IRA 7069.

la banda correspondiente al ADN de adenovirus fue posible observar una de 4.8 kb; aunque esta fracción de ADN de 4.8 kb no se identificó, se puede proponer la hipótesis de una contaminación de la muestra con virus adenoasociados.

Los adenoasociados frecuentemente inhiben la replicación adenoviral y promueven el incremento en la concentración de moléculas de ADN de cadena única; estas moléculas son resistentes a la acción de las endonucleasas de restricción¹⁹. Las pruebas preliminares aportadas en este trabajo indicaron que la banda de 4.8 kb es resistente a la acción de varias endonucleasas de restricción del tipo 2, y confirman la hipótesis que serían moléculas de ADN de cadena única.

Los análisis de restricción permitieron probar la expulsión por vía fecal del mismo tipo de adenovirus (IRA 7008 y 7016). Con base en los criterios establecidos, es posible proponer que los niños pudieron haber adquirido tanto de una fuente dispersora común o por infección entre ellos. El adenovirus serotipo 2 (cuyo patrón de restricción corresponde a los de IRA 7008 y 7016) que se informó asociado con contaminación fecal en los niños, es un miembro del subgénero C incluido dentro de los agentes adeno-

virales que generan infecciones respiratorias de tipo superior e inferior. Se sabe que estos serotipos se excretan en las heces durante largos períodos⁷⁻⁹.

Las materias fecales pueden ser fuente potencial de transmisión viral. Como los niños del presente trabajo tenían una edad de 2 años, es posible entonces que esta clase de contacto orofecal pudiera haber ocurrido. Esta vía es una de las rutas propuestas como uno de los mecanismos más importantes para transmitir adenovirus en condiciones cerradas²⁰.

Análisis similares con los otros aislamientos demostraron la existencia de una relación genómica en los adenovirus respiratorios típicos. La cepa de adenovirus 6.A.6.1¹⁸ se encuentra estrechamente relacionada con IRA en niños de 2 años. Los virus que ocasionan infección respiratoria se excretan vía fómites y aerosoles. Frecuentemente la infección adenoviral ocurre por contaminación de manos y objetos.

Con el presente estudio es posible postular que 100% de semejanza en los patrones de restricción, es una evidencia que apoya el mecanismo de transmisión entre niños que están en estrecho contacto^{3,7}. El serotipo 6 se clasifica dentro del subgénero C,

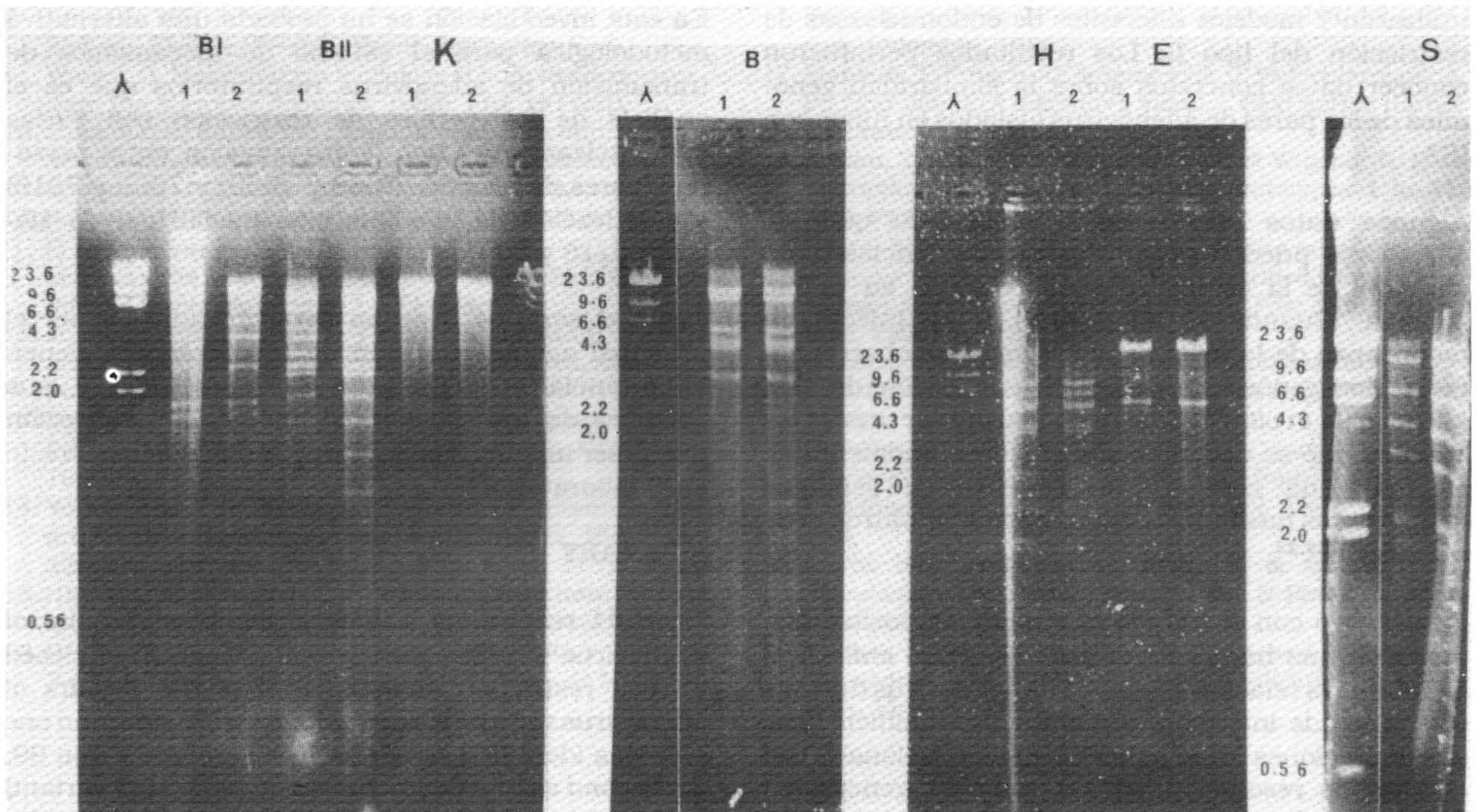


Figura 3. Análisis de restricción de 2 adenovirus obtenidos en 2 episodios de un niño con IRA. (B II), BgI II; (B I), BgI I; (H), Hind III; (S), Sma I; (B), BamH I; EcoK I; (K) Kpn I; (λ) ADN del bacteriófago lambda digerido con Hind III; (1), IRA 0097; (2), IRA 0116.

está asociado frecuentemente con brotes de enfermedad respiratoria^{18,20}.

Dentro del estudio se aisló un par de adenovirus serotipo 3 en un niño de un año de edad que sufrió 2 episodios de IRA. El análisis de restricción mostró un total de 40 sitios de corte localizados en la misma posición en el genoma de los dos aislamientos. Esta técnica es, pues, una herramienta poderosa para identificar además de episodios de transmisión, de reactivación viral, como en el caso de los aislados 0097 y 0116.

El modelo del presente trabajo es compatible con aquellos que permiten diferenciar entre nuevas infecciones o la reactivación de adenovirus latentes. Evidencias semejantes se han descrito en enfermos con compromiso inmunitario sometidos a trasplantes de médula ósea²¹.

Se analizó la transmisión de adenovirus con métodos de menor resolución. Los estudios mediante la prueba de neutralización han permitido diferenciar casos de contaminación o persistencia en miembros

de familias que se encuentran en estrecho contacto. Los estudios de neutralización se centran sobre la variabilidad de regiones contra el genoma adenoviral, que son las que codifican por los determinantes antígenicos que se analizan.

En contraposición a la neutralización, el análisis de restricción presenta una alternativa más amplia para estudiar la variabilidad genética. Al respecto, mediante la electroforesis en geles de agarosa, es posible descubrir diferencias de aproximadamente 100 pb en los fragmentos de restricción obtenidos con determinadas endonucleasas del tipo II.

Los resultados cuando se emplearon las endonucleasas de restricción de la clase II, fueron concluyentes en mostrar una variabilidad en los sitios de restricción en genomas adenovirales^{3,18}. Aunque no existe un número ideal de endonucleasas que se requieren para efectuar un análisis de restricción completo, es lógico que a medida que se aumente el número de enzimas de restricción, subirá el nivel de resolución pues se eleva la probabilidad de encontrar diferencias genómicas finas⁹. En este trabajo se

utilizaron 7 modelos diferentes de endonucleasas de restricción del tipo II. Los resultados permitieron conocer datos concretos sobre la similaridad genómica de los pares de adenovirus aislados en niños con IRA.

Algunos datos previos han demostrado que los adenovirus pueden ganar o perder secuencias tanto del ADN de la célula huésped como de su propio genoma. Cuando el adenovirus 5 se infectó en monocapas de la línea celular Hep-2, se observaron rearrreglos genómicos durante la infección de este adenovirus *in vitro*²³. Este hecho puede ser uno de los factores que se deben considerar en el momento de efectuar una comparación genética de genomas adenovirales mediante la comparación de patrones de restricción^{22,23}.

De acuerdo con el trabajo efectuado, es posible disponer de una herramienta poderosa para enfocar el estudio de la relación genómica de adenovirus durante el proceso de infección. Sin embargo, también tiene sus limitaciones principalmente en lo relacionado con el nivel de resolución; es así como diferencias en tamaños moleculares menores de 100 pb, no se pueden determinar por medio de electroforesis en geles de agarosa y en los análisis de restricción con pocas enzimas.

Una alternativa sería la que se ha desarrollado en esta investigación: el empleo de 7 distintas endonucleasas de restricción tipo II. Así pues, el análisis es poderoso en la medida en que se empleen números altos de endonucleasas de restricción del tipo II.

Desde el punto de vista práctico es posible obtener evidencias en relación con la transmisión que ocurre cuando los niños se encuentran en condiciones de estrecho contacto; de acuerdo con los casos en este trabajo, se mostró de manera inequívoca una correspondencia completa en la totalidad de los fragmentos de los patrones de restricción obtenidos con las endonucleasas empleadas, lo que permite aseverar que entre ellos ha habido una transmisión horizontal (aislados 7068 y 7069). Lo anterior se apoya en el criterio de variante genómica, donde una modificación genera cambios en el patrón de restricción, no en el número de fragmentos pero sí en el tamaño de por lo menos uno de ellos. En el presente trabajo, al analizar los aislamientos estudiados uno en relación con el otro (p.e., el par 7008 y 7016) permitió asegurar que se trataba de la misma variante genómica.

En esta investigación se ha probado una alternativa metodológica para el estudio de mecanismos de transmisión de adenovirus respiratorios que es el análisis de los perfiles de restricción con varias endonucleasas del tipo II: transmisión entre personas (pares de aislados 7068 y 7069; y 7008 y 7016) y reactivación de una infección inicial (par de aislados 0116 y 0097).

Como el serotipo 3 se ha caracterizado por ser el principal agente patógeno de IRA, entonces tienen importancia su valoración epidemiológica y sus patrones de transmisión. El análisis de restricción puede ser una herramienta útil de diagnóstico directo en el laboratorio.

SUMMARY

From 84 respiratory and fecal samples, 3 pairs of adenovirus were recovered. Using a model of closed contact restriction analyses (RA) of the 3 pairs of adenovirus were performed. Upon the RA criterion one pair was identified as adenovirus serotype 2 Ton 99; the second as an adenovirus serotype 6 (A6.1 variant) and the last one was characterized as Ad3GB strain. The comparison of restriction patterns of pairs of isolated showed fully comigration in each case. Evidences that the RA is a powerful tool in the study of transmission mechanisms of respiratory adenovirus in closed contact children, are given.

REFERENCIAS

1. Lehtomaki, K, Julkunen, I, Sandelin, K et al. Rapid diagnosis of respiratory adenovirus in young adult men. *J Clin Microbiol*, 1986, 24: 108-111.
2. Kidd, AH. Genome variants of adenovirus 41 (subgroup G) from children with diarrhoea in South Africa. *J Med Virol*, 1984, 14: 49-59.
3. Wadell, GM, Hammarskjöld, ML, Winberg, G, Warsanyi, TM & Sundell, G. Genetic variability of adenovirus. *Ann NY Acad Sci*, 1980, 354: 16-42.
4. Flomenberg, PR, Chen, M, Munk, G & Hortwitz, MS. Molecular epidemiology of adenovirus type 35 infections in immunocompromised hosts. *J Infectol Dis*, 1987, 155: 1127-1134.
5. Wadell, G, Varasnyi, TM, Lord, A & Sutton, RN. Epidemic outbreaks of adenovirus 7 with especial reference to the pathogenicity of adenovirus genome type 7b. *Am J Epidemiol*, 1980, 112: 619-628.
6. Fife, KH, Ashley, R, Shields, AF, Salter, D, Meyers, JD & Corey, L. Comparison of neutralization and DNA restriction enzyme methods for typing clinical isolates of human adenovirus. *J Clin Microbiol*, 1985, 22: 95-100.
7. White, OD & Fenner, FJ. *Medical virology*. Pp. 249. Academic Press, New York, 1986.

8. Horwitz, MS. Adenovirus. Pp. 1723-1740. In *Virology*. 2nd ed., Fields, BN (ed), Raven Press, New York, 1990.
9. Wadell, G. Molecular epidemiology of human adenovirus. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1984, 110: 191-220.
10. Sakaoka, H, Saheki, Y, Ukuki, K et al. Two outbreaks of herpes simplex virus type 1 nosocomial infection among newborns. *J Clin Microbiol*, 1986, 24: 36-40.
11. Sakaoka, H, Tsugumitsu, A, Ozaki, I, Ishida, S & Fijinaga, F. Restriction endonuclease cleavage analysis of herpes simplex virus isolates obtained from three pairs of siblings. *Infectol Immunol*, 1984, 43: 771-774.
12. Lenneth, M & Schmidt, H. *Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections*. Pp. 179-226. 5th ed, American Public Health Association, New York, 1979.
13. Davis, A & Bruce, A. *Basic molecular cloning experiments*. Pp. 125-129. Elsevier Scientific Publishing Co, Amsterdam, 1986.
14. Vogelstein, A & Feinberg, E. Random hexanucleotide primer DNA labeling method. *Anal Biochem*, 1984, 137: 226-270.
15. Hirt, B. Selective extraction of polyoma DNA from infected mouse cell cultures. *J Mol Biol*, 1967, 26: 365-369.
16. Renjifo, B. *Estudios moleculares de adenovirus serotipos 3 y 8 aislados de infección respiratoria*. Tesis de Magister, Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia, 1989.
17. Maniatis, T, Fritsch, EF & Sambrook, J. *Molecular cloning*. Pp. 350-365. In *A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1982.
18. Adrian, T, Wadell, G, Hierholzer, JC & Wigand, R. DNA restriction analysis of adenovirus prototypes 1 to 41. *Arch Virol*, 1986, 91: 277-290.
19. Green, M & Piña, A. Biochemical studies on adenovirus multiplication. Properties of highly purified tumorigenic human adenoviruses and their DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1964, 51: 1251-1256.
20. Horwitz, MS. Adenovirus and their replication. Pp. 433-473. In *Virology*. Fields, BN (ed). Raven Press, New York, 1985.
21. Douglas, HW, Shields, AF & Fife, KH. Genomic variation of adenovirus type 5 isolates recovered from bone marrow transplant recipients. *J Clin Microbiol*, 1987, 25: 305-308.
22. Davis, BD, Dulbecco, R, Fijen, H & Ginsberg, H. *Microbiology*. Pp. 1048-1060, Harper & Row Publisher, New York, 1980.
23. Werner, OD & Hawsen, HZ. Deletion and insertion in adenovirus type 2 DNA after viral replication in VERO cells. *Virology*, 1978, 86: 66-77.

Estudio clínico comparativo entre enoxaparina y heparina en pacientes de hemodiálisis crónica

Rafael Alberto Gómez M.D.¹, Alvaro Mercado, M.D.², Juan Guillermo Posada, M.D.¹, Rossana Randazzo, Enf.³, Luis Mariano Otero, M.D.⁴, Jorge Morales, M.D.⁴

RESUMEN

En 16 pacientes del programa de hemodiálisis crónica del Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia, se comparó la efectividad clínica del uso de la enoxaparina vs. heparina regular. Los enfermos se dividieron en 2 grupos comparables: el grupo 1 recibió enoxaparina (0.75-1 mg/kg/) dosis única al comienzo de la hemodiálisis por la línea arterial. El segundo grupo recibió heparina, 5,000 U dosis total. Se evaluaron varios parámetros: tiempo de protrombina, tiempo de trombolastina

parcial, recuento de plaquetas, temperatura corporal, presencia de fibrina en la cámara venosa, apariencia del filtro, tiempo de hemorragia después del retiro de la fistula, aparición de hemorragia. No hubo diferencias clínicamente significativas en ambos grupos. El uso de enoxaparina produjo simplificación técnica en el procedimiento, sin aumentar la posibilidad de complicaciones hemorrágicas ni la tendencia a la coagulación en el sistema extracorpóreo.

En la práctica de la hemodiálisis uno de los principales inconvenientes es evitar la coagulación del sistema extracorpóreo, sin que esto lleve a un aumento en la presencia de complicaciones hemorrágicas en un enfermo que se encuentra ya bajo riesgo debido a la uremia.

Aunque la diálisis crónica corrige en gran parte las alteraciones funcionales plaquetarias, el uso de la

1. Residente Nefrología, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
2. Profesor Asociado, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
3. Enfermera Jefe, Unidad Renal, Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia.
4. Profesor Asistente, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.