Artículo original

Infección respiratoria aguda por adenovirus en niños hospitalizados de Santa Fe

Dras. Gabriela F. Kusznierz[1], Raquel Cociglio[2], Judith Pierini[3], María I. Malatini[3], Analía Walker[4] y Alejandra Millán[2]

RESUMEN

Introducción. Los adenovirus (Ads), son agentes etiológicos importantes de la infección respiratoria aguda (IRA). El Ad7 se asocia con las manifestaciones clínicas de mayor gravedad.

Objetivos. Describir los aspectos clínicos y epidemiológicos de las IRA por Ads en niños hospitalizados en la Provincia de Santa Fe, durante el período 1998-2001.

Población, material y métodos. Se evaluaron 31 historias clínicas de pacientes hospitalizados con diagnóstico de IRA en hospitales de Santa Fe y se registraron datos demográficos, clínicos, radiológicos y de tratamiento. La infección por Ads se documentó mediante inmunofluorescencia indirecta. Los Ads se aislaron en células Hep-2, a partir de aspirados nasofaríngeos y se caracterizaron por PCR.

Resultados. Se encontró un predominio de adenovirus subespecie B:1 (25/29), de los cuales 24 fueron Ad7. El Ad7 se asoció a neumonías mientras que Ads de las especies C (3/29) y D (1/29) encontrados en baja proporción se relacionaron con cuadros leves de bronquitis y catarro de vías aéreas superiores. Los niños menores de 1 año fueron el grupo más comunmente afectado. La estadía hospitalaria y el tratamiento con oxígeno fue mayor de 8 días en 17/31 y 14/22, respectivamente. Once niños desarrollaron neumonías graves, que requirieron cuidados intensivos y asistencia respiratoria (4/11). Dos casos desarrollaron miocarditis y uno hepatitis. La mortalidad fue del 9,7% (3/31) asociada a Ad7.

Conclusión. Este estudio aporta un mejor conocimiento acerca de la clínica y los serotipos de los adenovirus causantes de IRA en niños, más prevalentes en una provincia del interior del país. La edad temprana de los niños, las estadías hospitalarias prolongadas y la gravedad del cuadro clínico hacen necesario implementar estrategias de control y prevención.

Palabras clave: *adenovirus, infección respiratoria aguda, PCR.*

SUMMARY

Introduction. Adenovirus are (Ads) an important etiologic agent of acute respiratory infections (ARI). Ad7 has been associated with clinical manifestations of most considerable severity.

Objective. The aim of this study was to describe the clinical and epidemiologic aspects of the ARI by Ads in hospitalized patients in Santa Fe, Argentina during 1998-2001.

Population, material and methods. We conducted a retrospective study. Medical charts of 31 patients with ARI admitted in hospitals in Santa Fe were examined. Demographic information, as well as the radiographic and clinical outcome, were captured on special forms. Infections by Ads were documented by indirect immunonofluorescence. Ads were isolated in Hep2-cell cultures from nasopharyngeal aspirates. The molecular characterization was performed by PCR.

Results. During the study period there was a predominance of subspecies B:1 (25/29), 24 was Ad7. The Ad7 was associated with pneumonia whereas the adenovirus species C(3/29) y D (1/29) were associated with mild bronchitis and upper respiratory tract catarrh. Children less than one year of age were the most common age-group affected. The duration of oxygen treatment and hospital stay was 8 days in the 14/22 y 17/31 of the children studied, respectively. Eleven of thirty-one children developed a severe pneumonia, requiring intensive care and mechanical respiratory assistance (4/11). Two cases developed miocarditis and hepatitis. Among all cases included the mortality was 9.7% (3/31) associated with Ad7.

Conclusions. This study contributes to have better information on the clinical picture, and about the most common serotypes of adenovirus causing ARI in children in a province from Argentine. The early age of the infection onset, extended hospital stay and the severity of the infection, emphasize the need for implementation of both strategies of control and prevention.

Key words: adenovirus, acute respiratory infection, PCR.

[1] Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Emilio Coni". Santa Fe, Argentina.
[2] Hospital de Niños "Orlando Alassia", Santa Fe, Argentina.
[3] Hospital "J.B. Iturraspe", Santa Fe, Argentina.
[4] Clínica de Niños, Rafaela, Santa Fe, Argentina

Correspondencia:
Dra. Gabriela F. Kusznierz
labconi@infovia.com.ar

Conflicto de intereses:
nada para declarar.

INTRODUCCIÓN

Los adenovirus (Ads) son una causa importante de enfermedad respiratoria aguda en niños. En países de América del Sur ocupa el segundo lugar entre los patógenos virales del tracto respiratorio.[1-3] En Buenos Aires, las tasas de detección varían entre el 2,5% al 14,3%.[3,4] Los Ads pueden causar tanto enfermedad respiratoria moderada como también infecciones graves o fatales, principalmente en niños pequeños,[5-12] que pueden desarrollar enfermedad pulmonar crónica residual.[13] Hasta la actualidad se conocen 51 serotipos de Ads que se clasifican en seis especies: A, B, C, D, E y F. La especie B ha sido subdividida

en dos subespecies B:1 y B:2. Entre los serotipos más frecuentemente aislados, los miembros de la subespecie B:1 y especialmente el Ad7 y Ad3 han sido asociados con manifestaciones clínicas de mayor severidad.[8,9,12-18]

Muchos de los estudios clínicos y de epidemiología molecular sobre la infección respiratoria aguda (IRA) causada por Ads que existen en la Argentina están centrados en la población pediátrica de Buenos Aires; tal hecho y la falta de estudios en otras regiones del país motivaron la realización de este trabajo. Los objetivos de este estudio fueron describir los aspectos clínicos y epidemiológicos de las IRA por Ads en niños hospitalizados en la Provincia de Santa Fe, durante el período 1998-2001.

POBLACIÓN, MATERIAL Y MÉTODOS

Población

Se trata de un estudio descriptivo retrospectivo en el que se evaluaron 31 historias clínicas. Criterios de inclusión-exclusión: Se incluyeron todos los pacientes hospitalizados con diagnóstico de IRA por Ads de tres hospitales de la Ciudad de Santa Fe y uno de la Ciudad de Rafaela (Santa Fe), desde enero de 1998 a diciembre de 2001. Se excluyó del análisis un caso por no disponer de la historia clínica.

Los datos se recolectaron en una planilla donde se registraron: edad, sexo, edad gestacional, fecha de internación, servicio de internación, fecha de alta hospitalaria, peso natal, peso actual, antecedentes clínicos (cardiopatía congénita, desnutrición, síndrome de Down, internaciones previas por enfermedad respiratoria, diagnóstico al egreso), hallazgos radiológicos (atrapamiento aéreo, infiltrado intersticial, alveolar, adenomegalias, derrame pleural, atelectasia) y hallazgos de laboratorio (recuento de leucocitos y fórmula leucocitaria). Se consideró leucocitosis un recuento >15.000 elementos/mm^3, y desviación a la izquierda, uno > 5% de neutrófilos no segmentados. Además, se registró la fiebre y el tratamiento instituido durante la infección en curso, como requerimientos de oxígeno y asistencia respiratoria mecánica. Para el diagnóstico de las formas clínicas de presentación de la IRA se utilizaron las definiciones establecidas en el consenso de IRAB en menores de 2 años de la Sociedad Argentina de Pediatría. Los pacientes con bronquitis y catarro de vías aéreas superiores (CVAS) presentaron las siguientes características clínicas, que justificaron su hospitalización: compromiso del estado general, decaimiento y rechazo al alimento, tos laringotraqueal, rinorrea serosa y fiebre. El caso 1, con diagnóstico de bronquitis, fue un paciente de riesgo menor de 6 meses de edad, recién nacido pretérmino, con bajo peso para la edad gestacional y con patología respiratoria recurrente. El caso 2 con bronquitis, presentó diagnóstico previo de asma infantil (6 internaciones previas), con signos clínicos de broncospasmos e infección respiratoria aguda.

Diagnóstico virológico y caracterización molecular de adenovirus

En todos los pacientes internados con diagnóstico presuntivo de infección respiratoria aguda viral se investigó, en aspirados nasofaríngeos (ANF), mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Light Diagnostics-Chemicon International), la presencia de adenovirus y virus sincicial respiratorio, influenza A, B y parainfluenza.

Para la amplificación y caracterización de cepas de Ads, las muestras de los ANF fueron inoculadas en cultivos de células Hep-2.

La identificación de especies de Ads se realizó mediante dos técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir del ADN extraído de los aislamientos: la PCR que amplifica el gen asociado a virus ARN (ARN VA) según describió Kidd et al,[19] y la PCR multiplex que amplifica el gen que codifica la proteína de la fibra descripta por Xu et al.[20] Para la identificación de serotipos de adenovirus se empleó la PCR Multiplex que amplifica el gen que codifica las regiones hipervariables de la proteína del hexón para la detección de Ads 3, 7 y 21, como previamente la describió Xu et al.[21]

Consideraciones éticas. Este estudio fue aprobado por los Comités de Docencia e Investigación de los hospitales involucrados.

RESULTADOS

Frecuencia de adenovirus

Durante los años 1998-2001 se estudiaron 4.603 niños internados con diagnóstico presuntivo de IRA viral, 31 de los cuales se detectaron por IFI como casos de Ads. No se encontraron infecciones mixtas de Ads con otros virus respiratorios.

Se tipificaron 29 casos, 25 correspondieron a la subespecie B:1, de los cuales 24 fueron Ad7. Un caso perteneció a la subespecie B:1, cuyo serotipo no se identificó. Tres casos pertenecieron a la especie C y 1 a la especie D.

Características demográficas

La media de la edad fue de 8,7 meses (rango 3-20 meses). En 25 casos la edad fue menor a 1 año, en 9 menor de 6 meses y 6 tenían 13-24 meses. Veinte pacientes fueron de sexo masculino.

Antecedentes clínicos

Veintisiete pacientes fueron recién nacidos con edad gestacional adecuada y peso normal para la edad. Cuatro casos fueron recién nacidos de prétermino con bajo peso para la edad gestacional. Cuatro pacientes tenían antecedentes de cardiopatía congénita, tres síndrome de Down. Con respecto a los antecedentes de infección respiratoria, en 16 pacientes hubo internaciones previas y en 6 desnutrición. La existencia de un posible defecto inmunológico no puede ser completamente descartado en el presente estudio ya que en estos pacientes no se realizaron estudios inmunológicos.

Síndromes clínicos

La neumonía fue la presentación más frecuente, se la observó en 25/31 casos causada por Ad7. Se registraron además 2/31 casos de bronquiolitis por Ad7, 2/31 de bronquitis por Ad C y 2/31 con CVAS causado por un Ad7 y un Ad C.

Once pacientes desarrollaron una enfermedad grave durante la internación, 6 niños eran aparentemente sanos. Los Ads aislados de estos pacientes correspondieron en 9 casos a Ad7, y en un caso a un miembro de la subespecie B:1, cuyo tipo de Ads no se logró identificar. Un Ads que no se logró tipificar correspondió a un caso fatal. El paciente infectado con Ads de la especie D presentó neumonía.

Registraron fiebre 23/31 pacientes, con una duración media de 4,2 días (rango 1-11 días). Las manifestaciones extrapulmonares halladas durante el curso de la infección fueron miocarditis en 2 casos graves, que fallecieron (uno era un niño previamente sano y el otro presentó desnutrición) y hepatitis en 1 paciente previamente sano.

Hallazgos de laboratorio

Tuvieron leucocitosis 19/31, con desviación a la izquierda. No hubo signos de infección bacteriana.

Hallazgos radiológicos

El infiltrado intersticial se encontró en 19/29, el alveolar unilobular en 5/19 y el múltiple en 14/19. También se detectó atrapamiento aéreo (22/29), adenomegalias (14/29), atelectasia (6/29) y derrame pleural (1/29). En sólo dos pacientes la radiografía fue normal; ambos presentaban un CVAS, uno de ellos estaba infectado con Ad C y el otro con Ad7.

Tratamiento y duración de la estadía hospitalaria

Los casos que requirieron internación por más de 8 días fueron 17/31 (mediana: 9,5 días, rango: 1-98 días), de los cuales 14 casos estaban infectados con Ad7 y 1 con B:1 sin identificar. Once pacientes ingresaron a la unidad de cuidados intensivos o especiales.

Veintidós pacientes requirieron oxígeno suplementario. En 14/22 casos fue por más de 8 días (mediana: 9 días, rango: 3-98 días) 12 de los cuales estaban infectados con Ad7 y 1 con B:1 sin identificar. Dos de los pacientes infectados con Ad C no requirieron oxígeno y uno por sólo 3 días, y estuvieron menos de 7 días internados. De los 11 casos graves, 4 requirieron asistencia respiratoria, todos ellos infectados con Ad7.

Mortalidad

La mortalidad fue 9,7% (3/31) y se verificó en infectados con Ad7.

DISCUSIÓN

Este estudio aporta un mejor conocimiento acerca de la clínica y los serotipos de los Ads causantes de IRA en niños, más prevalentes en una provincia del interior del país. En coincidencia con otros estudios de Argentina sobre caracterización de cepas de Ads, en el presente predominó el Ad7 (24/29), como describieran Kajón et al.,[10,22-24] Carballal et al.,[9] Videla et al.,[25] habiéndose detectado el 71%-83% de Ad7 entre los adenovirus aislados.

El síndrome clínico más frecuentemente asociado a Ad7 fue la neumonía, como se cita en numerosos trabajos,[10,23,8,18,9,26,27] que la diagnosticaron en el 50-71% de los casos. Los Ads de la especie C se relacionaron con cuadros leves de bronquitis y CVAS. Las neumonías graves durante la internación se desarrollaron en 11/31 niños, todos infectados con Ads de la subespecie B:1, especialmente Ad7, y que requirieron cuidados intensivos, y en 4/11 casos se instituyó asistencia respiratoria. No se registraron casos graves entre los infectados con Ads de la especie C, en coincidencia con lo descripto por Kajón et al.[23]

La fiebre prolongada caracterizó la infección, hallazgo que Ruuskanen et al.[28] comunicaron en su estudio con una duración media de 5,4 días. Muchas veces puede ser difícil distinguir la enfermedad por Ads de una infección invasiva bacteriana. La leucocitosis fue un hallazgo importante en la mayoría de los pacientes; como lo describen Ruuskanen et al.[28] Se demostró miocarditis y hepatitis en tres pacientes. A diferencia de otros

virus, el Ads puede diseminarse a otros órganos diferentes del sistema respiratorio, tanto en pacientes sanos como inmunodeficientes, y llevar a un fallo multisistémico, con compromiso del sistema nervioso central, coagulopatía, miocarditis y hepatomegalia.[8,27,29,30]

La mortalidad en los niños hospitalizados fue del 9,7% y se asoció al Ad7, un porcentaje inferior a lo señalado por numerosas publicaciones que exhiben valores del 12-34,5%.[8-10,18,23,24,26,27] Mientras que no se registró ningún caso fatal por Ads de la especie C.[23,25]

La suma gravedad que presenta algunas infecciones por Ads no está totalmente esclarecida. Ciertos factores jugarían un rol en el desarrollo de la gravedad de la enfermedad, como la desnutrición,[8,9,31] las inmunodeficiencias o las enfermedades preexistentes.[27] En menester destacar que 6 de 11 casos graves correspondían a niños sin antecedentes clínicos y aparentemente sanos, lo cual sugiere la existencia de otras causas asociadas a la gravedad. Además de los factores relacionados con el huésped, debe tenerse en cuenta la alta patogenicidad de algunos tipos que están claramente asociados a casos graves o fatales,[7,9] como es el caso del Ad7. Sin embargo, en el presente trabajo se observaron casos infectados con Ad7 que presentaron una enfermedad moderada, hallazgo que también se observó en otro estudio.[32] Esto podría deberse a diferencias en las secuencias genómicas del virus, que pueden ser variantes distintas, diferente patogenicidad dentro de un mismo serotipo. Finalmente, otros factores que no se evaluaron en el presente estudio, como el inóculo viral y el tiempo de exposición, podrían también estar involucrados en la evolución clínica del paciente.

Si bien muchos pacientes sobrevivieron, no se realizó el seguimiento clínico posterior al alta médica de los niños para determinar posibles daños pulmonares crónicos, como hiperreactividad bronquial, bronquiectasias, atelectasias, síndrome de pulmón hiperlúcido y bronquiolitis obliterante, que pueden ocurrir años después en el 27-64% de los que tuvieron neumonía por adenovirus 7, 3 y 21.[6,8,12,13,33-36] En Chile, donde se estudiaron 59 niños menores de dos años, un 19% presentaba alguna secuela pulmonar y un 68% síndrome bronquial obstructivo recidivante.[37]

Mucho queda por conocer sobre las características y particularidades de las infecciones por Ads en nuestro medio. Por ello es importante mantener este sistema de detección permanente y de tipificación en los niños hospitalizados para continuar con la determinación de los serotipos más prevalentes. La edad temprana de los niños infectados, las estadías hospitalarias prolongadas y la gravedad del 35% con una mortalidad cercana al 10%, hacen necesaria la implementación de estrategias de control y prevención, así como realizar estudios de seguimiento de pacientes para determinar las secuelas pulmonares y conocer como referente la infección por Ads en nuestro medio.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Alicia Mistchenko y a la Dra. Paola Barrero, por el apoyo brindado en la realización de las tipificaciones de los aislamientos de adenovirus llevadas a cabo en el Laboratorio de Virología perteneciente al Hospital de Niños "Dr. Ricardo Gutiérrez", Buenos Aires, Argentina. ■

BIBLIOGRAFÍA

1. Vicente Suárez M, Wu E, Carrasco L, Acevedo C, et al. Participación viral en las infecciones respiratorias agudas bajas del lactante. *Rev Chil Pediatr* 1988; 59:353-357.
2. Nascimento J, Siqueira M, Sutmoller F, et al. Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: Ocurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1991; 33:287-296.
3. Carballal G, Videla C, Espinosa M, et al. Multicentered study of viral acute lower respiratory infections in children from four cities of Argentina. *J Med Virol* 2001; 64:167-174.
4. Videla C, Carballal G, Misirlian A, et al. Acute lower respiratory infections due to respiratory sincytial virus and adenovirus among hospitalized children from Argentina. *Clin Diagn Virol* 1998; 10:17-23.
5. Schmidtz H, Wigand, Heinrich W. Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. *Am J Epidemiol* 1983; 117:455-466.
6. Chany C, Lepine P, Lelong M, et al. Severe and fatal pneumonia in infants and young children associated with adenovirus infections. *Am J Hyg* 1958; 67:367-378.
7. Steen-Johnsen J, Orstavik J, Attramadal A. Severe illness due to adenovirus type 7 in children. *Acta Paediatr Scand* 1969; 58:157-63.
8. Murtagh P, Kajon A. Chronic pulmonary sequelae of adenovirus infection. *Pediatric Pulmonol* 1997; (Suppl 16):150-1.
9. Carballal G, Videla C, Misirlian A, et al. Adenovirus type 7 associated with severe and fatal acute lower respiratory infections in Argentine children. *BMC Pediatrics* 2002; 2(1):6-17.
10. Kajon AE, Mistchenko AS, Videla C, et al. Molecular epidemiology of adenovirus acute lower respiratory infections in children in the south cone of South America (1991-1994). *J Med Virol* 1996; 48:151-156.
11. Larragaña C, Kajon A, Villagra E, et al. Adenovirus surveillance on children hospitalized for acute lower respiratory infections in Chile (1988-1996). *J Med Virol* 2000; 60:342-346.
12. Murtagh P, Cerqueiro C, Halac A, et al. Adenovirus type 7h respiratory infections: a report of 29 cases of acute lower respiratory disease. *Acta Paediatr* 1993; 82:557-561.
13. Simila S, Linna O, Lanning P, et al. Chronic lung damage caused by adenovirus type 7: a ten-year follow-up study. *Chest* 1981; 80:127-131.

14. Nahmias A, Griffith D, Snitzer J. Fatal pneumonia associated with adenovirus type 7. *Am J Dis Child* 1967; 114:36-41.
15. Straube R, Thompson M, Van Dyke R, et al. Adenovirus type 7b in a children´s hospital. *J Infect Dis* 1983; 147:814-819.
16. Wadell G, Varsanyi T, Lord A, Sutton R. Epidemic outbreaks of adenovirus 7 with special reference to the pathogenicity of adenovirus genome type 7b. *Am J Epidemiol* 1980; 112:619-628.
17. Kim J, Hong J, Lee H, et al. Genome type analysis of adenovirus types 3 and 7 isolated during successive outbreaks of lower respiratory tract infections in children. *J Clin Microbiol* 2003; 41(10):4594-4599.
18. Li Q, Zheng Q, Liu Y, et al. Molecular epidemiology of adenovirus types 3 and 7 isolated from children with pneumonia in Beijing. *J Med Virol* 1996; 49:170-177.
19. Kidd A, Jonsson M, Garwicz D, et al. Rapid subgenus identification of human adenovirus isolates by a general PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34:622-627.
20. Xu W, McDonough M, Erman D. Species-specific identification of human adenoviruses by a multiplex PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000; 38:4114-4120.
21. Xu W, Ermand D. Type-specif identification of human adenovirus 3, 7, and 21 by a multiplex PCR assay. *J Med Virol* 2001; 64:537-542.
22. Kajon A, Wadell G. Molecular epidemiology of adenoviruses associated with acute lower respiratory disease of children in Buenos Aires, Argentina (1984-1988). *J Med Virol* 1992; 36(4):292-297.
23. Kajon A, Larragaña C, Súarez, et al. Genome type analysis of chilean adenovirus strains isolated in a children´s hospital between 1988 and 1990. *J Med Virol* 1994; 42:16-21.
24. Kajon A, Vicente Suarez M. Molecular epidemiology of adenoviruses isolated from hospitalized children with severe lower acute respiratory infection in Santiago, Chile. *J Med Virol* 1990;30:294-297.
25. Videla C, Carballal G, Kajon A. Genomic analysis of adenovirus isolated from Argentinian children with acute lower respiratory infections. *J Clin Virol* 1999; 14(1):67-71.
26. Baumeister E, Fernández Cobo M, Pontoriero A, et al. Caracterización de aislamientos de adenovirus asociados a infección respiratoria aguda baja en pediatría. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1997; 15:528-531.
27. Hong J, Lee HJ, Piedra P, et al. Lower respiratory tract infections due to adenovirus in hospitalized Korean children: epidemiology, clinical features, and prognosis. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 32:1423-1429.
28. Ruuskanen O, Meurman O, Sarkkinen H. Adenoviral diseases in children: a study of 105 hospital cases. *Pediatrics* 1985; 76:79-83.
29. Simila S, Ylikorkala O, Hockert W. Type 7 adenovirus pneumonia. *J Pediatrics* 1971; 79:605-611.
30. Muñoz F, Piedra P, Demmler G. Disseminated adenovirus disease in immunocompromised and immunocompetent children. *Clin Infect Dis* 1998; 27:1194-1200.
31. Wenman W, Pagtakhan R, Reed M, et al. Adenovirus bronchiolitis in Manitoba. Epidemiologic, clinical, and radiologic features. *Chest* 1982; 81:605-609.
32. Mistchenko AS, Koch ER, Kajon AE, Tibaldi F, Maffey AF, Diez RA, et al. Lymphocyte subsets and cytokines in adenoviral infection in children. *Acta Paediatr* 1998; 87(9): 933-9.
33. Koppmann A, Escobar AM, Valdés I. Neumonectomía en atelectasia masiva post infección por adenovirus. *Rev Chil Enf Respir* 2006; 22:37-44.
34. Arce, J, Mondaca R, Mardones R, et al. Secuelas Post-infección por adenovirus en niños: evaluación con tomografía computada. *Rev Chil Radiol* 2002; 8:154-163.
35. Dalmas S, Pereyra ML, Pírez MC et al. Infección respiratoria aguda baja por adenovirus en niños hospitalizados menores de dos años. *Arch Pediatr Urug* 2003; 74(1): 15-21.
36. Torres G, Larragaña C, Lozano J, et al. Evolución clínica a largo plazo de la infección respiratoria aguda baja por adenovirus. *Acta Microbiol* 1996; 7(1):14-16.