

# Differentialdiagnostik zu Adenoviren in der Hygiene

Albert Heim  
Institute of Virology



Medizinische Hochschule  
Hannover



Medizinische Hochschule  
Hannover

---

# Drei hygienische Fragestellungen

1. epidemische Keratokonjunktivitis
2. Gastroenteritisausbrüche
3. Adenovirusinfektionen bei HSCT  
Patienten  
(Knochenmarkstransplantation)

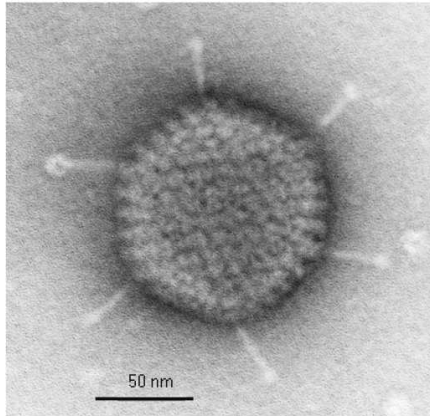
*heute nicht: LRI, Cystitis*

---

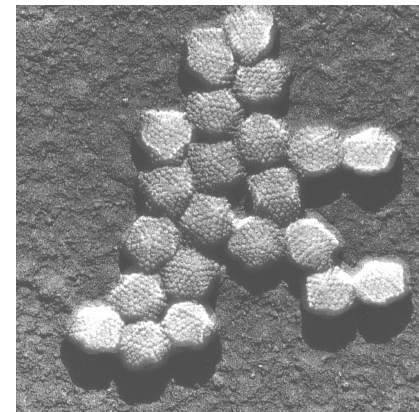
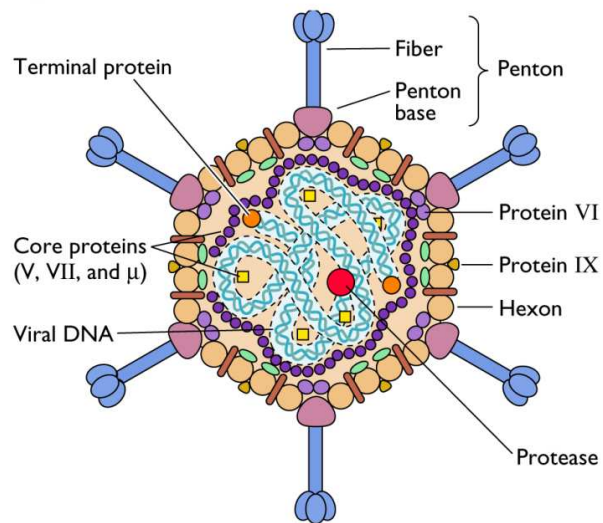
# Drei hygienische Fragestellungen (in Köln ab 11.11.)

1. Blindfisch
2. Dünnpfiff
3. Tod und Teufel

# Einleitung: Wichtiges zu Adenoviren



- unbehüllte DNA Viren
- ca. 35 kB dsDNA
- 75 verschiedene Typen in 7 Spezies (A-G)



# Human Adenoviruses (HAdV):

7 Spezies mit 75 Typen und **1** **2** **3**

Species	types	organotropism	disease
<b>A</b>	HAdV-12, 18, <b>31</b> , 61	gastrointestinal	diarrhea, disseminated disease in HSCT
<b>B</b>	HAdV- <b>3</b> , <b>7</b> , 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50	lung, pharynx, conjunctiva, urogenital	URI/LRI (pneumonia), pharyngoconjunctival fever/conjunctivitis, cystitis
<b>C</b>	HAdV-1, 2, 5, 6	pharynx, lymphoid cells	URI (rhinitis, pharyngitis, tonsillitis); disseminated disease in HSCT
<b>D</b>	HAdV- <b>8</b> , <b>37</b> , <b>53</b> , <b>54</b> , <b>64</b>  9, 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22–30, 32, 33, 36–39, 42–49, 51, 53, 54, 56, 58–60, 62, 63, 65, 67, 69–75	conjunctiva  diverse	keratoconjunctivitis  various/subclinical (other types)
<b>E</b>	HAdV- <b>4</b>	lung	URI/LRI (ARDS, pneumonia) pharyngoconjunctival fever/conjunctivitis
<b>F</b>	HAdV- <b>40</b> , <b>41</b>	gastrointestinal	diarrhea

# 1. Adenovirus Augeninfektionen - Klinik



- **Pharyngokonjunctivales Fieber/Konjunktivitis:**
  - keine Beteiligung der Cornea
  - Typen 3, 4, 7... der Spezies B und E sind auch respiratorische Erreger
  - Übertragung auch durch Tröpfchen, bei sozialen Kontakten
  - **Bedeutung für nosokomiale Infektionen eher gering/umstritten**



- **Epidemische Keratokonjunktivitis**
  - Infiltration der Cornea, langwierig ("Nummuli")
  - oft Visus beeinträchtigt
  - Typen 8, 37, 53, 54, 64 (früher 19) der Spezies D
  - Übertragung meist durch Schmierinfektion, Autoinokulation
  - **nosokomiale Übertragung häufig berichtet**

---

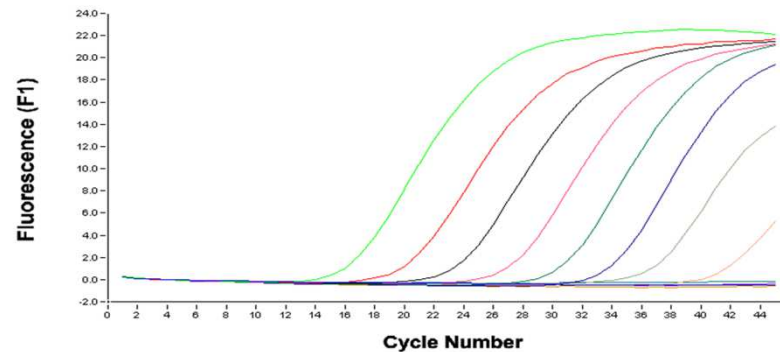
# 1. Adenovirus Augeninfektionen

Was ist wichtig für die Differentialdiagnose Konjunktivitis/Keratokonjunktivitis?

1. klinisches Bild
2. Laborbefund:
  - a. Adenovirus Konjunktivitis vs. Enterovirus-, Chlamydien- (etc.)Konjunktivitis
  - b. Typisierung

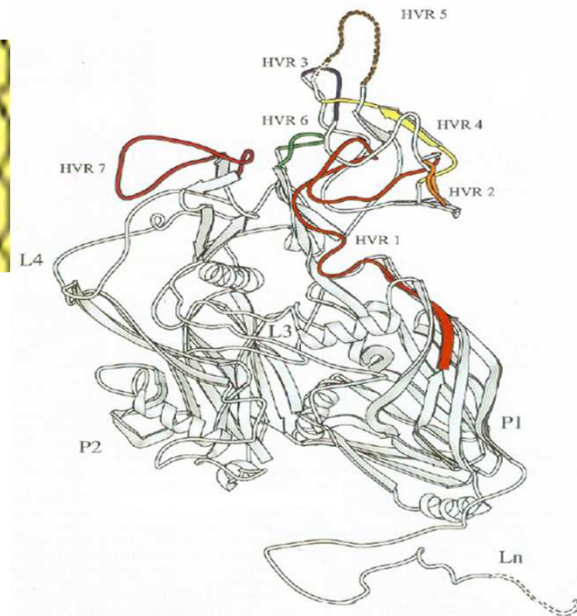
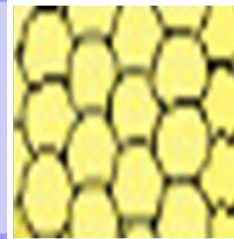
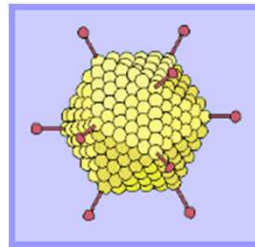
# Exkurs A: Adenovirus Labordiagnostik

1. Adenovirus DNA Nachweis durch (semi-) quantitative real time PCR (Routine)



2. Molekulare Typisierung durch Sequenzierung der Neutralisationsdeterminante (bei uns Routine)

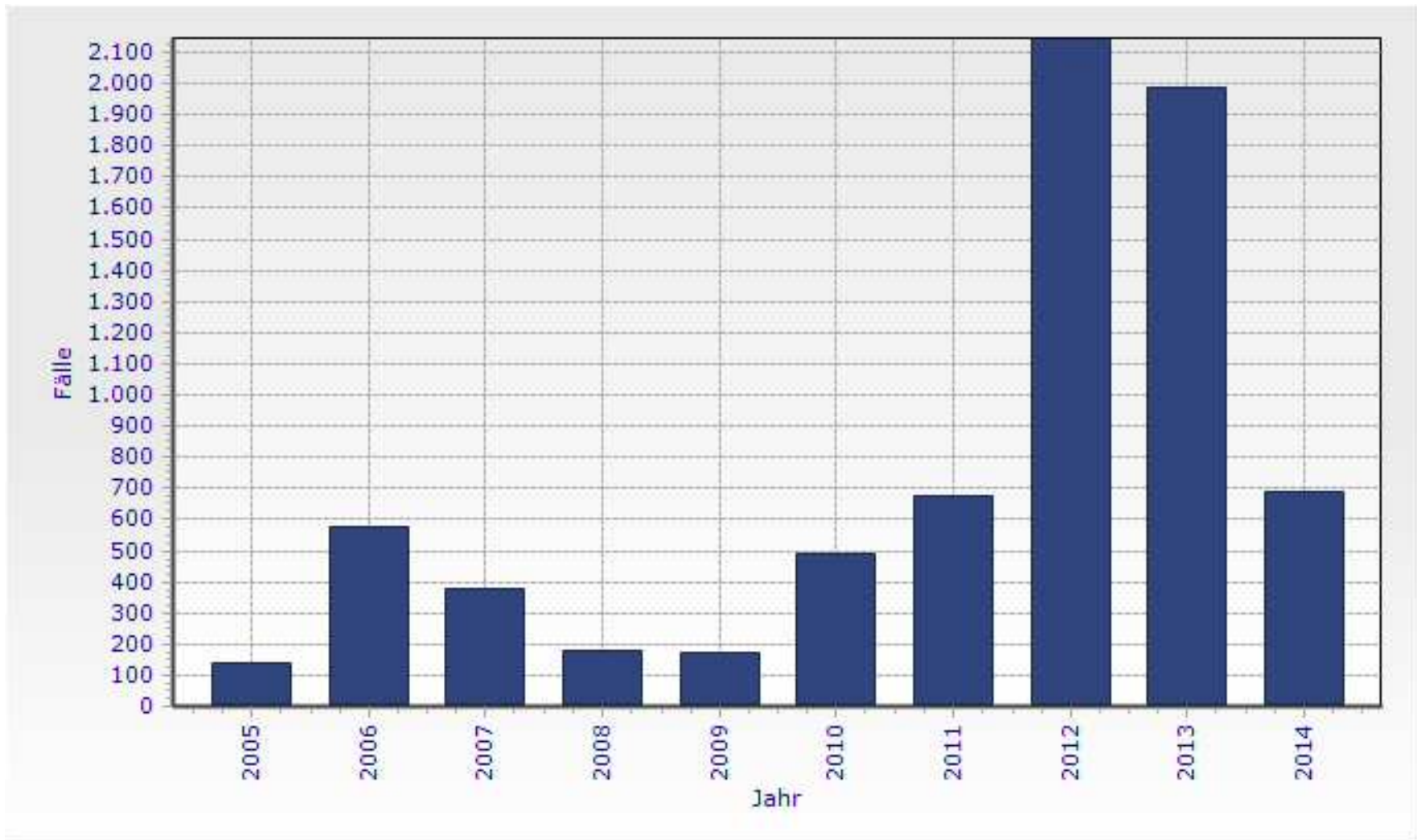
ungleiche Typen schliessen (nosokomiale) Infektkette aus, der gleiche Typ beweist es aber nicht unbedingt



3. Kompletengenomische Sequenzierung (NGS) (Forschung)
  - ggf. wichtig für den Nachweis von Infektketten



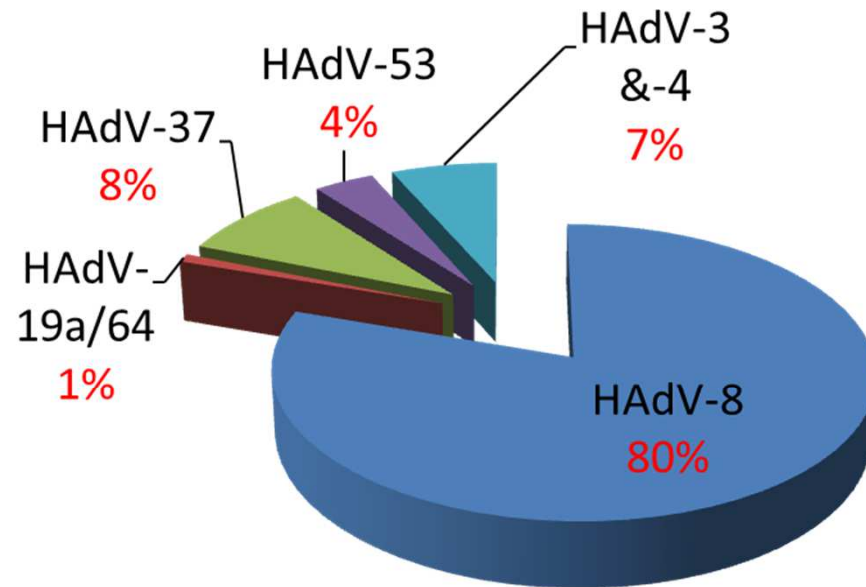
# Exkurs B: Die EKC Epidemie Nov. 2011-2013



Robert Koch-Institut: SurvStat, <http://www3.rki.de/SurvStat>, Datenstand: <14.7.14>

→ an average of **352 cases/year** between 2005 and 2011; up to **2146 cases** in 2012 and 1946 cases in 2013!

# Molecular typing results (EKC 2012 & 2013)

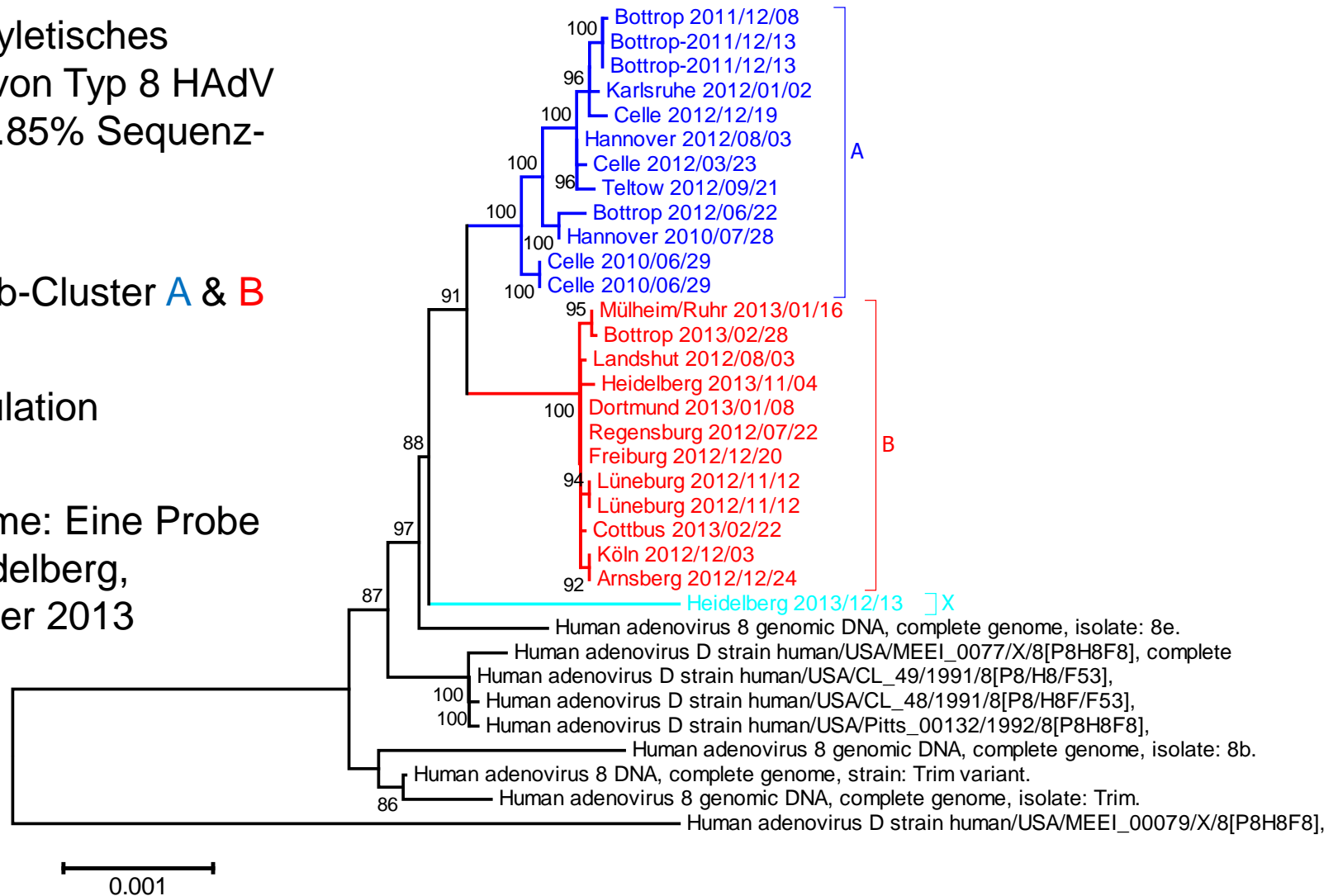


➔ wirklich eine (monophyletische) Epidemie?

- Next generation sequencing of **25 HAdV-8 samples** was performed to generate complete genomic sequences directly from **eye swabs** or **cell culture isolates**

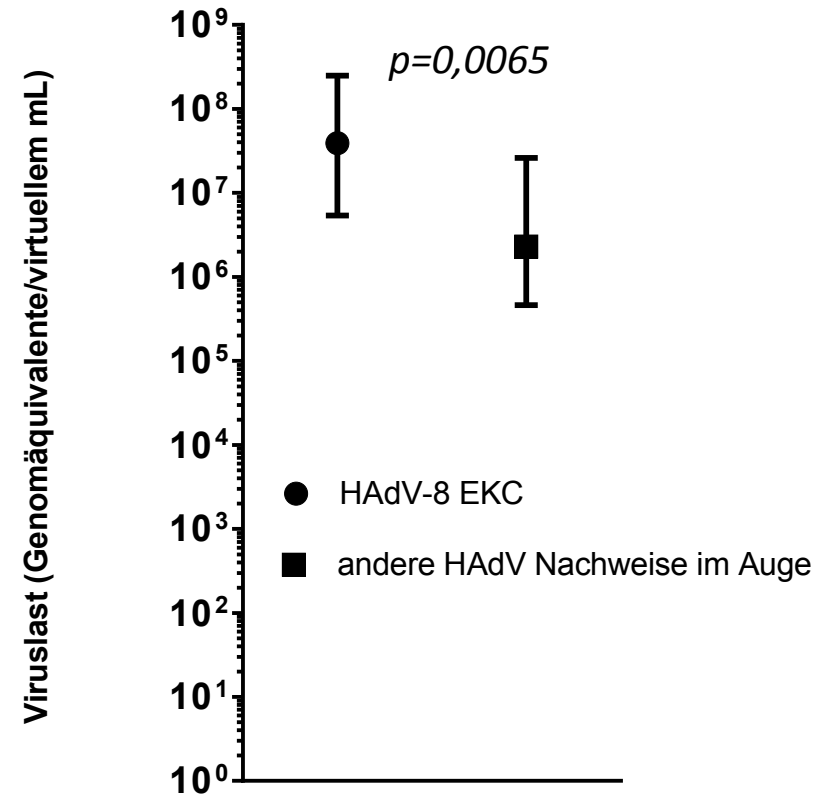
# Stammbaum der Typ 8 Isolate aus 2012/13

- monophyletisches Cluster von Typ 8 HAdV mit >99.85% Sequenz-Identität
- Zwei Sub-Cluster A & B
- Co-Zirkulation
- Ausnahme: Eine Probe aus Heidelberg, Dezember 2013



# Was macht Kertokonjunktivitis epidemisch? Hinweise auf nosokomiale Übertragung?

- Sehr hohe Viruskonzentration im Augen-Sekret/Abstrich
- Die Patienten der HAdV-D8 Epidemie waren älter als die Kontrollgruppe:  
65 (47.5-75) vs. 50 (22-70) Jahre,  $p=0,000$ :  
*Hinweis auf bevorzugt nosokomiale Übertragung?*



---

## 2. Adenovirus Gastroenteritis

- Dritthäufigste virale Gastroenteritis (nach Noro & Rota)
- meist epidemisch, auch nosokomial
- Spezies HAdV-F (Typ 40&41) meist Ausbrüche bei Säuglingen und Kleinkindern
- Spezies HAdV-A (Typ 12, 18, 31,61): sporadisch & Kleinepidemien bei Kindergarten- & Schulkindern

---

## 2. Adenovirus Gastroenteritis

- sehr hohe Virusmengen im Stuhl....
- Übertragungsweg und Hygienemaßnahmen wie bei Rota & Noro - *Gähnen?*

---

## 2. Adenovirus Gastroenteritis

### Diagnostik

- kommerzielle Antigenteste erhältlich (diagnostisch mäßig gut), alternativ:
- PCR sehr gute Sensitivität und Spezifität

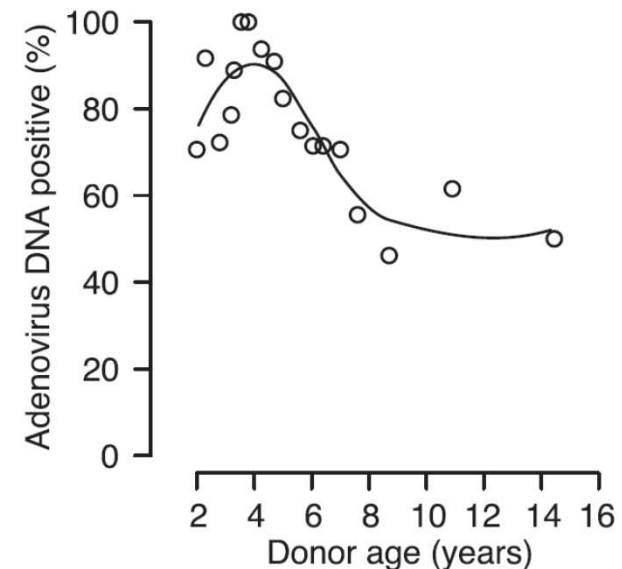
*Jetzt wirds aber kompliziert:*

*nicht jeder PCR-Adenovirusnachweis im Stuhl ist die Ätiologie*

## 2. Adenovirus Gastroenteritis

Warum kompliziert?

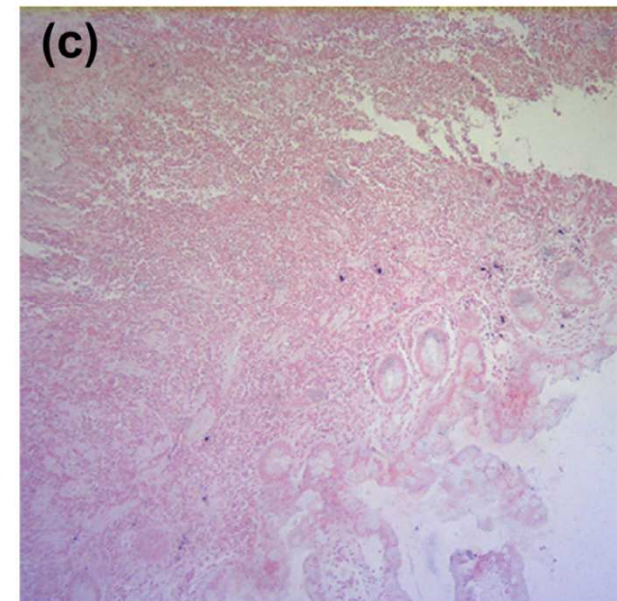
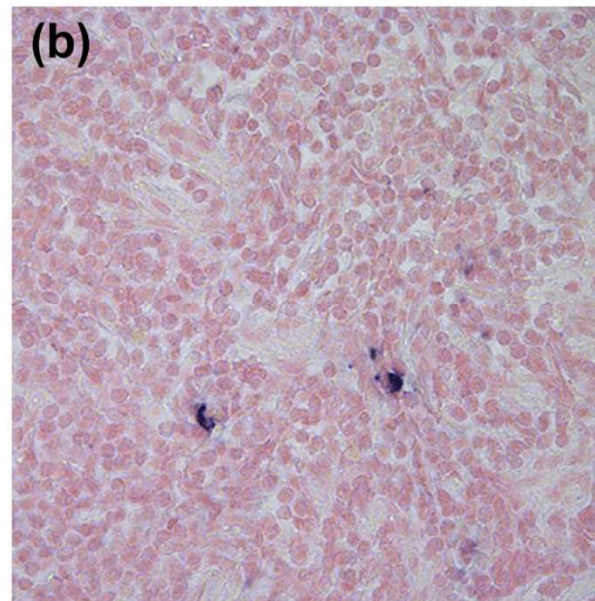
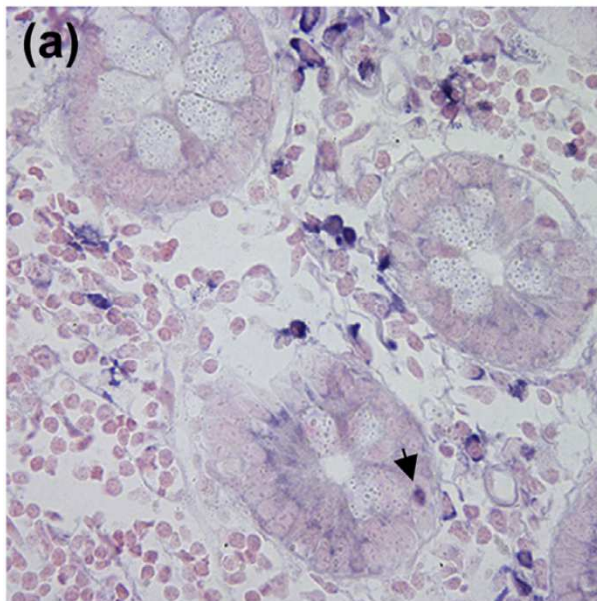
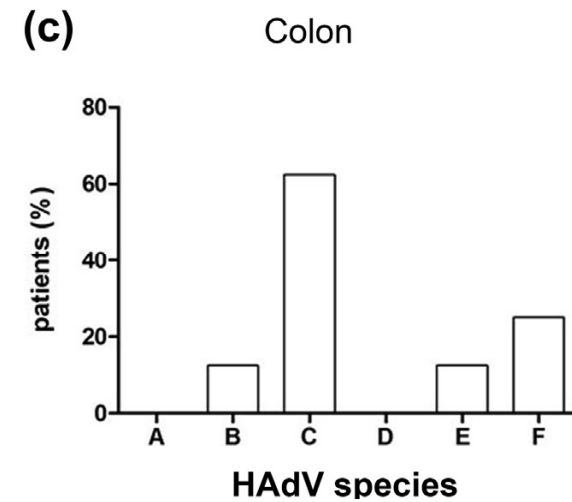
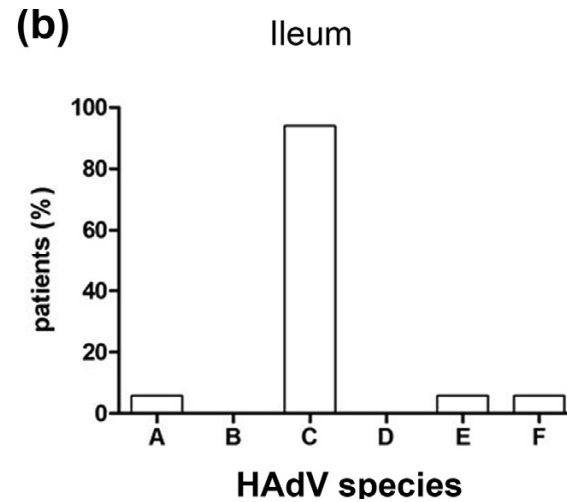
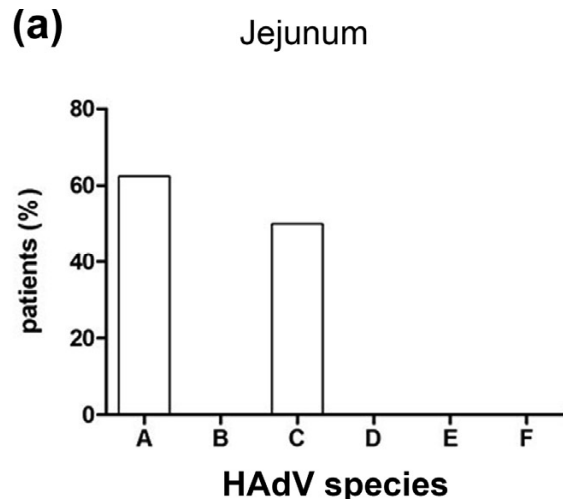
1. Manchmal Begleitenteritis bei den häufigen respiratorischen Infektionen mit Spezies HAdV-C
2. danach HAdV Persistenz (mit sporadischer Ausscheidung kleiner Virusmengen!) im Stuhl nach HAdV-C, (-B, -D, -E) Infektionen



HAdV DNA in Lymphozyten  
(potentielle/sporadische Ausscheider)  
Garnett et al. 2009



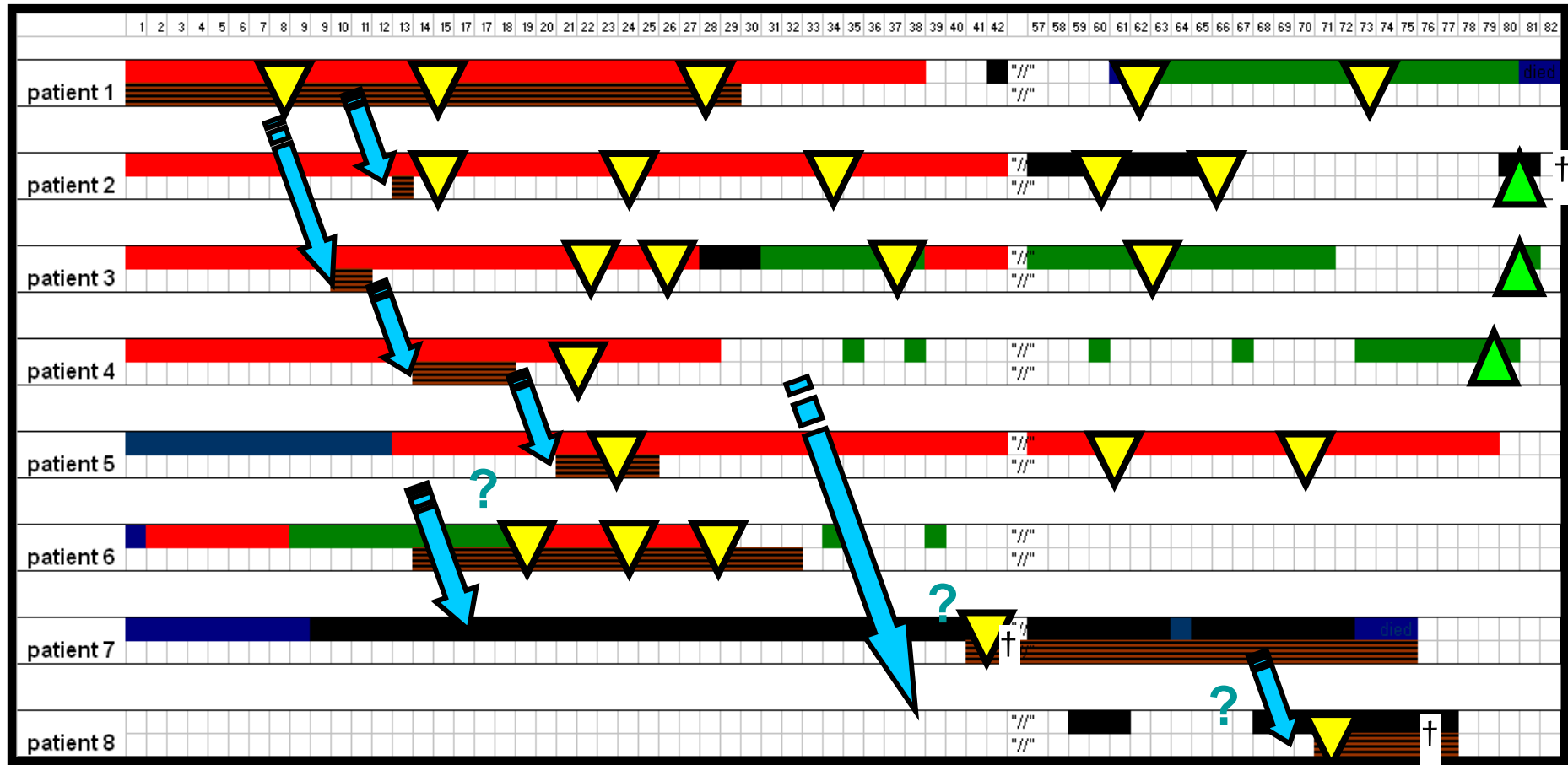
# Exkurs C: Wo und wie persistieren Adenoviren?



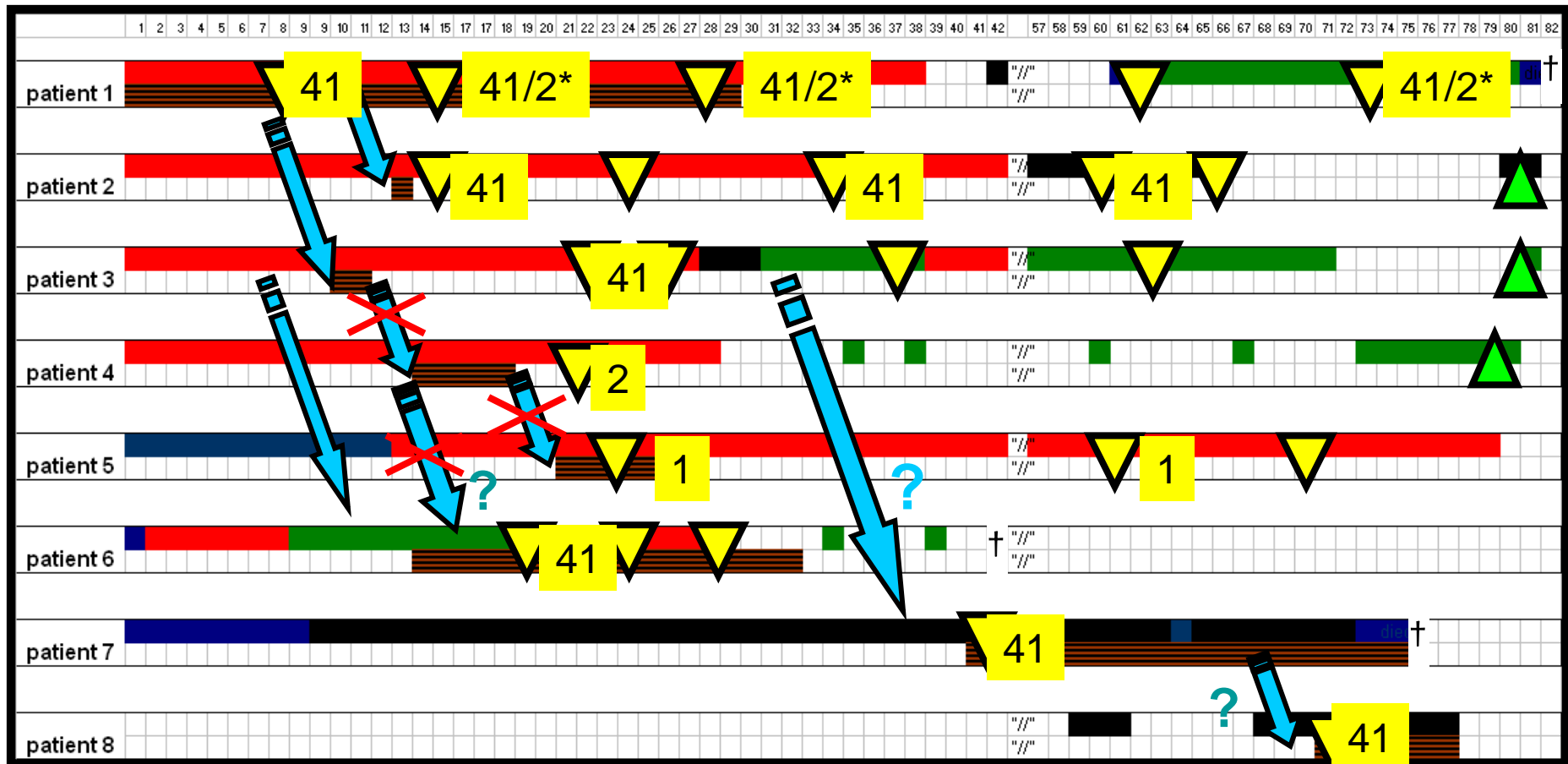
## Exkurs D: Adenovirus Gastroenteritis Outbreak

- 6 of 6 patients of a 6 bed pediatric BMT ward presented with diarrhoea and vomiting
- 2 other pediatric patients also affected
  - patients 1 to 6: pediatric allogenic BMT recipients, immunosuppression as GVHD prophylaxis
  - patient 1,2,5,6: T cell depletion, lymphopenic  $< 0.3 \times 10^9/L$  (high risk for adenovirus dissemination)
  - patient 7: complex cardiac surgery (malformation), not immunosuppressed
  - patient 8: pediatric liver recipient, sclerosing therapy of esophageal varices, immunosuppressed with CSA and steroids
- Diagnostics: HAdV DNA detection positive in feces samples of all 8 patients (highly positive)

# Exkurs D: Patients and putative transmissions



# Exkurs D: Adenovirus Typing



*\*type 2 in blood samples*

	Adenovirus detection		Adenovirus negative
	BMT ward		ward A
	intensive care unit		any other ward
			diarrhoea

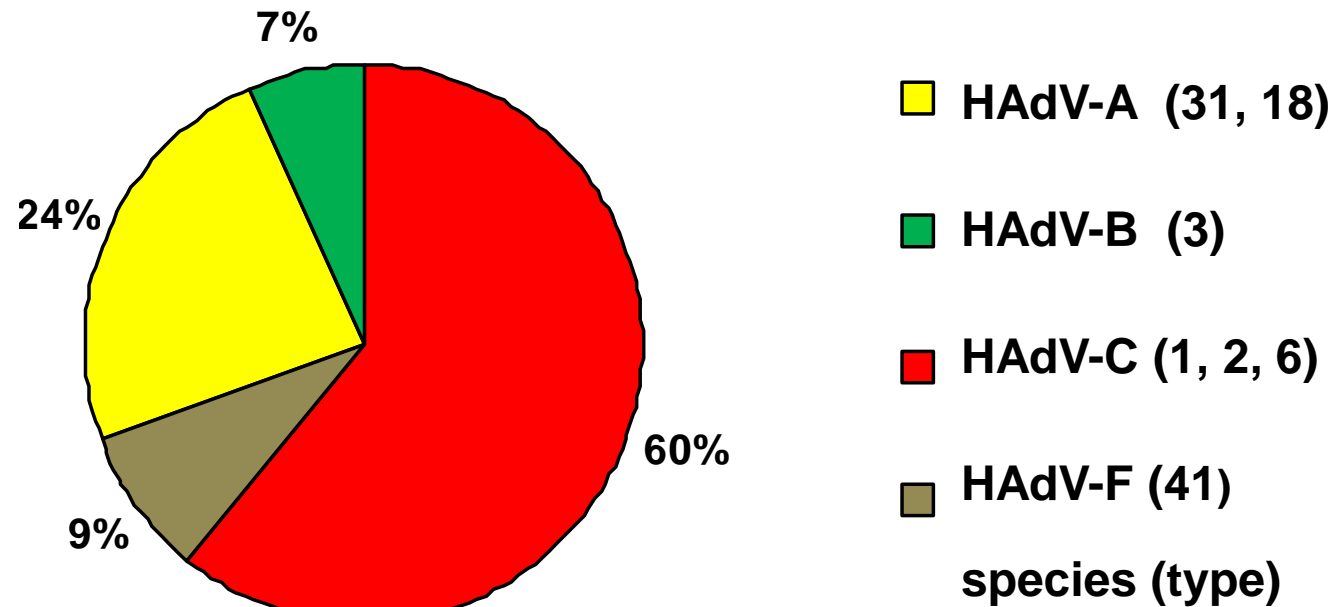


---

### 3. Adenovirusinfektionen bei HSCT Patienten

- Lebensbedrohliche disseminierte Infektionen
- häufig bei Kindern, selten bei Erwachsenen
- ca. 5% der transplantationsassoziierten Mortalität bei Kindern (1% bei Erwachsenen)
- hohe Viruslasten im Blut, meist auch in allen anderen Körperflüssigkeiten
- meist beginnend mit Gastroenteritis (extrem viel Virus im Stuhl)
- oft mehrere Patienten auf einer Station betroffen
- nosokomiale Übertragung erscheint hochwahrscheinlich
- *oder doch nicht?*

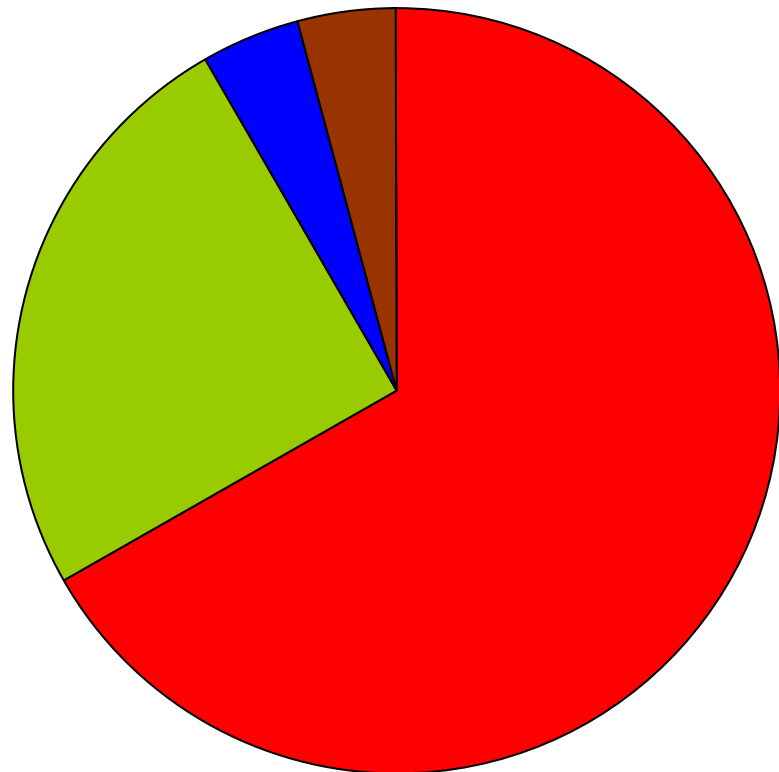
### 3. Results of HAdV typing (pediatric HSCT)



- Data from 42 patients
- Partial sequencing of the hexon gene (Madisch et al. 2006)
- HAdV-associated deaths: both HAdV-C2 (one co-infection with F41)
- Potentially HAdV-associated fatal cases: HAdV-C2,- C1; -B3

### 3. Adult HSCT recipients: HAdV Typing

more HAdV-B types found compared to pediatric SCT!

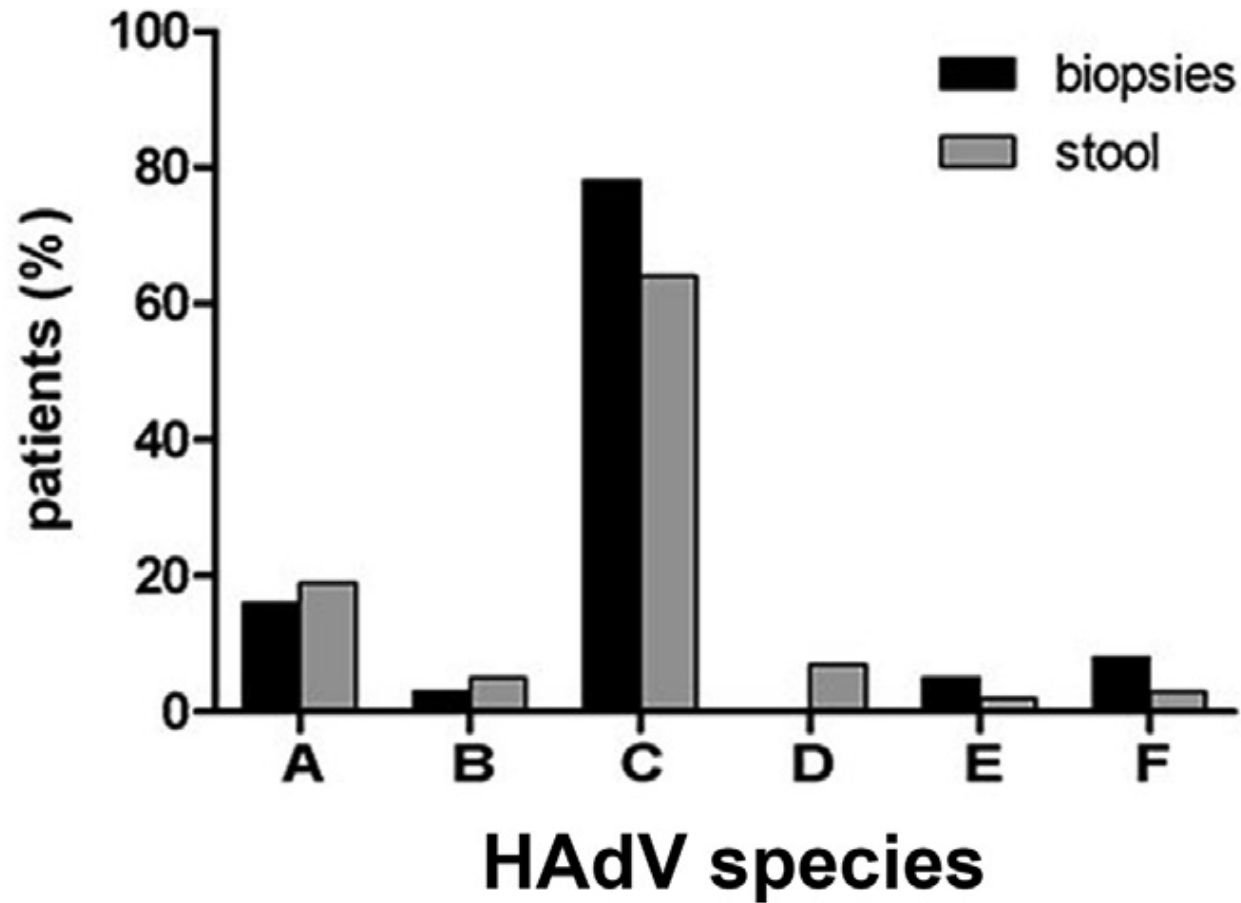


- species (types)
- HAdV-C (1, 2, 5, 6)
  - HAdV-B (3, 11, 35)
  - HAdV-D (30)
  - HAdV-F (41)

**HAdV-A (e. g. type 31)  
was not found in adults!**

n=24, in 3 samples typing failed

### 3. Adenovirusinfektionen bei HSCT Kindern



Vergleich: HAdV-DNA Persistenz in Biopsien/OP Materialien vs. Adenovirus Nachweis im Stuhl



---

### 3. Adenovirusinfektionen bei HSCT Kindern

## High Titers of Pre-existing Adenovirus Serotype-Specific Neutralizing Antibodies in the Host Predict Viral Reactivation After Allogeneic Stem Cell Transplantation in Children

Louise A. Veltrop-Duits,<sup>1</sup> Tamara van Vreeswijk,<sup>1</sup> Bianca Heemskerk,<sup>1,a</sup> Joyphi C. P. Thijssen,<sup>2</sup> Ragad El Seady,<sup>1,a</sup> Els M. Jol-van der Zijde,<sup>1</sup> Eric C. J. Claas,<sup>2</sup> Arjan C. Lankester,<sup>2</sup> Maarten J. D. van Tol,<sup>1</sup> and Marco W. Schilham<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics and <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

**Conclusions.** Together, these data suggest that adenoviral complications after SCT are caused by reactivation of endogenous persistent HAdV rather than by de novo infection from the donor or environment. This finding may

---

### 3. Adenovirusinfektionen bei HSCT Kindern

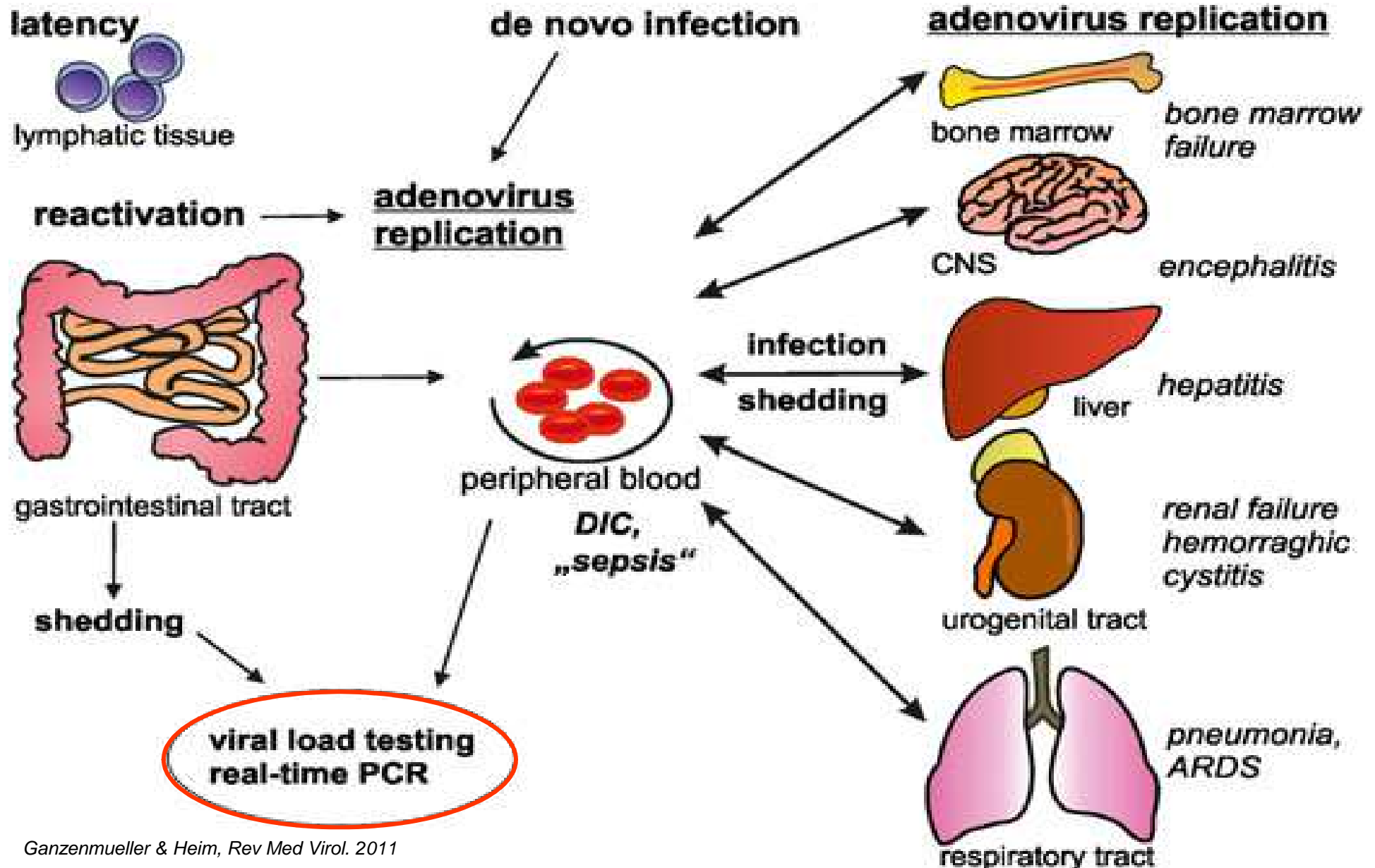
## High Titers of Pre-existing Adenovirus Serotype-Specific Neutralizing Antibodies in the Host Predict Viral Reactivation After Allogeneic Stem Cell Transplantation in Children

Louise A. Veltrop-Duits,<sup>1</sup> Tamara van Vreeswijk,<sup>1</sup> Bianca Heemskerk,<sup>1,a</sup> Joyphi C. P. Thijssen,<sup>2</sup> Ragad El Seady,<sup>1,a</sup> Els M. Jol-van der Zijde,<sup>1</sup> Eric C. J. Claas,<sup>2</sup> Arjan C. Lankester,<sup>2</sup> Maarten J. D. van Tol,<sup>1</sup> and Marco W. Schilham<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics and <sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Leiden University Medical Center, Leiden, the Netherlands

**Conclusions.** Together, these data suggest that adenoviral complications after SCT are caused by reactivation of endogenous persistent HAdV rather than by de novo infection from the donor or environment. This finding may

# HAdV in immunosuppressed patients



---

# Zusammenfassung

- Adenovirusnachweis allein oft diagnostisch nicht ausreichend
- Quantifizierung hilfreich zur Differenzierung akutes Geschehen (Replikation) vs. Persistenz
- Typisierung hilfreich um Infektketten auszuschließen
- Beweis von nosokomialen Infektketten durch Typisierung kaum möglich
  - Kozyklulation in der Normalbevölkerung, Einschleppungen ins KH
  - Persistenz und Reaktivierung häufig nachgewiesener Typen
- Kompletengenomische Sequenzierung kann hilfreich sein, ein epidemisches Geschehen nachzuweisen