

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA.
ESCUELA DE BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
TESIS
“CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE ADENOVIRUS
ASOCIADAS A INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS QUE
HAN CIRCULADO EN PANAMÁ DURANTE LOS AÑOS 2011 - 2019
EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS”

AUTORES:

GABRIELA ESTEFANY MORÁN BONICHE
CIP: 8-963-1178

EMMANUEL OSCAR NÚÑEZ SEGUNDO
CIP: 8-991-1713

DIRECTOR:
LEYDA ÁBREGO, PhD

CONSULTORES:
ZEUZ CAPITAN, MSc
HUMBERTO CORNEJO, MSc

Trabajo de graduación,
presentado como requisito
para optar por el título de
Licenciatura en Biología
con orientación en
Microbiología y
Parasitología.

REPÚBLICA DE PANAMÁ

2026



TRIBUNAL EXAMINADOR

Título:

"Caracterización Molecular de cepas de Adenovirus asociadas a Infecciones Respiratorias Agudas que han circulado en Panamá durante los años 2011-2019 en niños menores de 5 años"

Por:

GABRIELA MORÁN BONICHE
8-963-1178

Gabriela Morán Boniche

EMMANUEL OSCAR NÚÑEZ SEGUNDO
8-991-1713

Emmanuel Núñez

Trabajo de Graduación presentado a consideración de la Escuela de Biología como requisito parcial para optar por el título de Licenciatura en Biología con Orientación en Microbiología y Parasitología.

Dr. Leyda Ábrego Sánchez

Leyda Ábrego Sánchez

MSc. Zeuz Capitan Barrios

Zeuz Capitan Barrios

MSc. Humberto Cornejo

Humberto Cornejo

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, fruto de años de esfuerzo y sacrificio:

Primeramente, a Dios Todopoderoso, por ser la luz inagotable en el camino, por la sabiduría, la fortaleza diaria y el don de la perseverancia que me ha permitido culminar con éxito esta importante etapa.

A mi amada familia, especialmente a mis padres y a mi hermana, que han sido pilares fundamentales para el desarrollo de este trabajo de graduación. Dedico este logro a su sacrificio constante, al amor incondicional y al apoyo que me sostuvieron en cada momento de adversidad. Su fe en mí hizo posible transformar el esfuerzo en esta profunda alegría. Esta tesis se convierte en la celebración de la gratitud que les tengo y de la inmensa felicidad de un sueño que logramos juntos.

Emmanuel Núñez Segundo

Con la mayor gratitud sincera y profunda, deseo expresar mis agradecimientos:

Primeramente, a Dios por darme salud, fuerza y sabiduría para llegar hasta donde estoy.

A mi madre, Yamileth Boniche quien ha sido mi motor y pilar en la vida. Quien con su amor, dedicación, consejos y apoyo incondicional han hecho de mí una mujer de bien, desde que supiste de mi existencia estuviste en buenos y malos momentos y siempre estaré agradecida por eso. Te amo con todo mi ser y este logro es tuyo.

A mi hermana Alexandra, mi cómplice y amiga, gracias por tu alegría, tus palabras de aliento y por recordarme que nunca estoy sola. Te amo hermanita.

A mis abuelos Edilma, Prospero y Dominga que desde el cielo me acompañan. Gracias por su amor infinito y cuidados. Aunque sus voces ya no se escuchen, su amor sigue siendo el eco que guía mis pasos para seguir adelante.

A Luis Hidalgo, por su presencia firme y cariñosa en mi vida desde que tenía tres años, me aceptaste como parte de tu vida, me diste tu apoyo y cariño. Gracias por creer en mí y demostrarme que la familia también se construye con amor y compromiso.

Y por último a mis amigos team vibrando alto, maravillosas personas, gracias por tantas risas, locuras y momentos increíbles. Los quiero Fátima, Ana, Angélica, Kiria, María, Ariel, Aldair y Víctor.

Gabriela Morán Boniche

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a nuestro creador fuente inagotable de nuestra perseverancia, dedicamos este logro por infundirnos la fortaleza necesaria ante cada desafío y por guiar nuestros pasos en la búsqueda de la excelencia.

Expresamos también nuestra profunda gratitud a nuestras familias, quienes son y serán nuestro pilar fundamental y fuente de inspiración. Su apoyo incondicional, su aliento constante y su amor diario han sido, sin duda, el motor esencial que nos ha permitido alcanzar esta meta todos nuestros sueños.

A la Dra. Leyda Elizabeth Ábrego, quien nos recibió en su laboratorio con una calidez y cariño excepcionales. Su entrega al enseñarnos, su disposición para orientarnos y la manera generosa en que compartió su experiencia marcaron profundamente nuestra formación. Siempre nos ofreció un espacio seguro y abierto, y por ello le guardamos un sincero cariño, admiración y un respeto infinito.

Al Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, por brindarnos sus instalaciones y equipos para que lográramos aportar nuestro granito de arena a la ciencia en Panamá.

A el Sistema Nacional de Investigación, quién proporcionó fondos para este trabajo, al igual que al Ministerio de Economía y Finanzas.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
ÍNDICE GENERAL.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS	9
ABREVIATURAS.....	10
RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	13
INTRODUCCIÓN.....	15
OBJETIVOS.....	17
Objetivo general.....	17
Objetivos específicos.....	17
CAPÍTULO I.....	18
1.1 Generalidades.....	19
1.2 Taxonomía y clasificación.	20
1.3 Características estructurales y organización.....	21
1.4 Ciclo replicativo viral.....	23
1.5 Transmisión, infección y contagio.....	24
1.6 Epidemiología molecular y manifestación clínica.....	25
1.7 Estacionalidad del virus.....	27
1.8 Tratamiento y prevención.....	29
CAPÍTULO II.....	30
2.1 Tipo de investigación.....	31
2.2 Diseño.....	31
2.3 Universo.....	31
2.4 Tamaño y selección de muestra.....	32
2.5 Información general y variable.....	32

2.6 Metodología Molecular.....	32
2.6.1 Extracción de ácidos nucleicos.....	32
2.6.2 Amplificación de ácidos nucleicos por PCR punto final para el gen de la fibra.....	34
2.6.3 Amplificación de ácidos nucleicos por PCR anidada para el gen del hexón.....	36
2.6.4 Métodos de purificación previos a la secuenciación.....	38
2.7 Reacción de Secuenciación.....	39
2.8 Purificación de la reacción de secuenciación.....	40
2.9 Análisis de las secuencias y caracterización molecular.....	40
CAPÍTULO III.....	41
CAPÍTULO IV.....	56
DISCUSIÓN.....	57
CONCLUSIONES.....	65
RECOMENDACIONES.....	66
BIBLIOGRAFÍA.....	68
ANEXOS.....	75
Anexo 1.....	75
Anexo 2.....	77
Anexo 3.....	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Dibujo esquemático del Adenovirus humano.....	22
Figura 2: Micrografía electrónica con tinción de partículas de adenovirus.....	22
Figura 3: Ciclo de replicación del adenovirus.....	24
Figura 4: Manifestación clínica del adenovirus.....	27
Figura 5: Patrón estacional de los principales virus respiratorios humanos.....	28
Figura 6: Lugar de estudio. Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), Panamá.....	31
Figura 7: MagMax™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit (A). Colocación de las muestras en los platos de extracción (B).....	33
Figura 8: Procesamiento de las muestras, extracción automatizada de material genético (ADN) mediante el equipo KingFisher.....	33
Figura 9: Ciclo de temperatura para el proceso de amplificación (gen de la fibra).....	35
Figura 10: Electroforesis de las muestras AdVh (A). Visualización de muestras amplificadas mediante el fotodocumentador (B).....	36
Figura 11: Ciclo de temperatura para el proceso de amplificación (gen del hexón) Primera PCR.....	37
Figura 12: Ciclo de temperatura para el proceso de amplificación (gen del hexón) Segunda PCR.....	38
Figura 13: Ciclo de temperatura para la purificación de las muestras.....	39
Figura 14: Porcentajes de detección de AdVh por región en el país.....	44
Figura 15: Visualización por electroforesis en gel de agarosa de las muestras amplificadas del gen de la fibra mediante PCR convencional.....	49
Figura 16: Visualización por electroforesis en gel de agarosa de las muestras amplificadas del gen hexón mediante PCR Anidada	49
Figura 17: Árbol Filogenético que incluye las 33 secuencias obtenidas en este estudio a partir de la amplificación del gen hexón.....	54
Figura 18: Árbol Filogenético que incluye las 8 secuencias obtenidas en este estudio a partir de la amplificación del gen de la fibra.....	55

Figura 19: Magma Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher, Scientific,USA).....	75
Figura 20: Taq PCR Master Mix (QIAGEN).....	75
Figura 21: Kit ExoSAP-IT™ de Applied Biosystems.....	76
Figura 22: Kit de secuenciación de ciclos BigDye™ Terminator v3.1.....	76
Figura 23: Applied Biosystems™ Kit de purificación BigDye XTerminator™	77
Figura 24: Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex Purification System.....	77
Figura 25: SimpliAmp Thermal Cycler (Applied Biosystems).....	78
Figura 26: ChemiDoc MP Imaging System (Applied Biosystems).....	78
Figura 27: Eppendorf 5804R Refrigerated Centrifuge.....	79
Figura 28: 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems).....	79
Figura 29. XX Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología APANAC 2025.....	80
Figura 30: Congreso Gorgas 2025, Rumbo 100 años.....	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Especies y genotipos de adenovirus humano asociados a infecciones respiratorias agudas	26
Tabla 2: Componentes de la mezcla de reacción para la extracción del material genético de las muestras de diagnóstico.....	34
Tabla 3: Reactivos para la amplificación del ADN del virus.....	35
Tabla 4: Reactivos para la primera amplificación del ADN del virus.....	37
Tabla 5: Reactivos para la segunda amplificación del ADN del virus.....	38
Tabla 6: Reactivos para la purificación previa a la secuenciación.....	39
Tabla 7: Reactivos del mix de secuenciación.....	40
Tabla 8: Reactivos del control positivo pGEM.....	40
Tabla 9: Género de pacientes positivos por AdVh.....	43
Tabla 10: Principales virus presentes en coinfección con AdVh.....	46
Tabla 11: Diagnósticos clínicos reportados en los formularios médicos	48

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Condición clínica de los pacientes positivos por AdVh.....	42
Gráfica 2: Frecuencia del AdVh en los 9 años de estudio.....	43
Gráfica 3: Rangos de edades principales de pacientes positivos AdVh.....	45
Gráfica 4: Porcentajes de mono infecciones y coinfecciones por año.....	45
Gráfica 5: Síntomas reportados en los formularios médicos.....	47
Gráfica 6: Secuencias obtenidas para el gen del hexón.....	50
Gráfica 7: secuencias obtenidas para el gen de la fibra.....	51
Gráfica 8: frecuencia de genotipos de AdVh por edad.....	51
Gráfica 9: Frecuencia Anual de los Genotipos del AdVh Registrados.....	52
Gráfica 10: Evolución de la Carga Viral de Genotipos de AdVh en Panamá durante los años 2011 – 2019.....	53

ABREVIATURAS

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AdVh o HAdV: Adenovirus humano o Human adenovirus (siglas en inglés)

AdVh-B3: Adenovirus humano genotipo B3

AdVh-B7: Adenovirus humano genotipo B7

AdVh-C1: Adenovirus humano genotipo C1

AdVh-C2: Adenovirus humano genotipo C2

AdVh-C5: Adenovirus humano genotipo C5

AdVh-E4: Adenovirus humano genotipo E4

RVh: Rinovirus humano

VSRh: Virus Sincitial Respiratorio humano

MPVh: Metapneumovirus humano

H1N1: Influenzavirus A subtipo H1N1

H3N2: Influenzavirus A subtipo H3N2

FLU B: Influenzavirus B

PIV-1: Parainfluenza Virus tipo 1

PIV-2: Parainfluenza Virus tipo 2

PIV-3: Parainfluenza Virus tipo 3

ICGES: Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudio de la Salud

IRA: Infecciones respiratorias agudas

MINSA: Ministerio de Salud

PCR: Polimerase Chain Reaction (siglas en inglés de Reacción en Cadena de la Polimerasa)

CDC: Centers for Disease Control and Prevention (siglas en inglés)

Kb: kilobase

RESUMEN

Las infecciones respiratorias agudas continúan siendo una de las principales causas de atención médica en el mundo, representando un desafío persistente para los sistemas de salud, principalmente en países en desarrollo. Entre los agentes virales destaca el adenovirus humano (AdVh). Actualmente, este virus se clasifica en siete especies (A-G) de las cuales las especies B, C y E se asocian con mayor frecuencia con infecciones respiratorias, mientras que las restantes se han vinculado con gastroenteritis y queratoconjuntivitis. Los genotipos B3, B7, C1, C2, C5 y E4 han sido reportados como causantes de infecciones respiratorias, siendo el genotipo B3 el de mayor circulación en niños menores de 5 años, en quienes provoca fiebre, dolor de garganta, bronquiolitis, neumonía e incluso, en algunos casos, la muerte. Por lo anterior, este virus fue incluido en un análisis retrospectivo de nueve años (2011–2019) utilizando muestras respiratorias con el objetivo de identificar la diversidad genotípica de AdVh asociada a infecciones respiratorias en Panamá. Se seleccionaron 332 muestras positivas recibidas en el Departamento de Investigación en Virología y Biotecnología del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud a través del programa de vigilancia de influenza y otros virus respiratorios. El ADN viral fue extraído con un equipo automatizado y se les realizó una PCR convencional para amplificar la región de la fibra y una PCR anidada para la región del hexón. Los productos amplificados fueron posteriormente secuenciados para llevar a cabo los análisis filogenéticos. El total de muestras positivas correspondió a 332 de 14,678 analizadas, equivalente a una prevalencia del 2.3% en la población estudiada, de la cual el 81% provenía de pacientes hospitalizados y el 19% de pacientes ambulatorios. Además, la presencia del virus se detectó en los nueve años analizados.

Con respecto a la edad, el mayor número de casos se registró en niños de 6 a 11 meses (33.1%), seguido de niños de 1 año (29.4%). Se observó monoinfección en el 56% de los casos y coinfección en el 44%. Entre las coinfecciones más frecuentes se encontraron AdVh/RVh (33%), AdVh/VSRh (24%) y AdVh/PIV-3 (12%). De los 188 historiales clínicos revisados, el 43% correspondió a pacientes masculinos, el 33% a femeninos y el 24% a registros sin información disponible. Los síntomas más

reportados en las 248 muestras analizadas fueron tos (15%), fiebre $>38^{\circ}\text{C}$ (14%), rinorrea (12%) y dificultad respiratoria (9.5%). También se registraron síntomas menos frecuentes como disnea, diarrea, vómitos y debilidad. Las muestras procedían de diversas regiones del país, siendo las áreas con mayor número de muestras positivas Panamá Metro (76/248), San Miguelito (32/248) y Panamá Oeste (30/248). El análisis filogenético determinó que las muestras secuenciadas pertenecían al genotipo AdVh-B3, responsable de las infecciones respiratorias identificadas. Estos hallazgos subrayan la necesidad de mantener una vigilancia molecular continua del AdVh en Panamá, dada su circulación sostenida y su impacto clínico en la población pediátrica.

ABSTRACT

Acute respiratory infections continue to be a leading cause of medical visits worldwide, posing a persistent challenge to health systems, particularly in developing countries. Human adenovirus (HAdV) is a prominent viral agent. Currently, this virus is classified into seven species (A-G), of which species B, C, and E are most frequently associated with respiratory infections, while the remaining species have been linked to gastroenteritis and keratoconjunctivitis. Genotypes B3, B7, C1, C2, C5, and E4 have been reported as causing respiratory infections, with genotype B3 being the most prevalent in children under 5 years of age, in whom it causes fever, sore throat, bronchiolitis, pneumonia, and even, in some cases, death. Therefore, this virus was included in a nine-year retrospective analysis (2011–2019) using respiratory samples to identify the genotypic diversity of HAdV associated with respiratory infections in Panama. A total of 332 samples received by the Department of Virology and Biotechnology Research at the Gorgas Memorial Institute for Health Studies through the influenza and other respiratory virus surveillance program were selected. Viral DNA was extracted using automated equipment, and positive samples underwent conventional PCR to amplify the Fiber region and nested PCR for the Hexon region. The amplified products were subsequently sequenced for phylogenetic analysis. The overall prevalence of positive samples in the studied population reached 2.3%, of which 81% were identified in hospitalized patients and the remaining 19% in ambulatory patients. Moreover, the virus was consistently detected throughout the nine-year period analyzed.

Regarding age, the highest number of cases was recorded in children aged 6 to 11 months (33.1%), followed by children aged 1 year (29.4%). Monoinfection was observed in 56% of cases and coinfection in 44%. Among the most frequent coinfections were HAdV/RHINO (33%), HAdV/RSV (24%) and HAdV/PIV-3 (12%) were the most frequently identified genotypes. Of the 188 medical records reviewed, 43% corresponded to male patients and 33% to female patients. The most frequently reported symptoms were cough (15%), fever $>38^{\circ}\text{C}$ (14%), rhinorrhea (12%), and

respiratory distress (9.5%). Less frequent symptoms included dyspnea, diarrhea, vomiting, and weakness. The samples came from various regions of the country, with the areas having the highest number of positive cases being Panama Metro (76/248), San Miguelito (32/248), and Panama Oeste (30/248). Phylogenetic analysis determined that the sequenced samples belonged to the HAdV-B3 genotype, responsible for the identified respiratory infections. These findings highlight the importance of continuing to investigate this virus and maintaining continuous molecular surveillance, given its significant impact on children's respiratory health in Panama.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones respiratorias (IRA) afectan cada año a millones de personas a nivel mundial debido a su elevada morbilidad, distribución estacional y capacidad de afectar a poblaciones vulnerables, especialmente a niños pequeños, quienes presentan un sistema inmunológico inmaduro. Dentro de los virus que provocan estas infecciones se encuentran los adenovirus humanos (AdVh) los cuales causan desde un resfriado común hasta neumonías graves que requieren hospitalización. La variabilidad genética permite comprender por qué los adenovirus no se limitan a causar enfermedades respiratorias, sino que también afecta al sistema gastrointestinal, infecciones oculares (queratoconjuntivitis) (Viaño Nogueira et al., 2019).

Este virus pertenece a la familia Adenoviridae, la cual presenta una diversidad genética notable, con más de 110 genotipos descritos y líneas evolutivas que han favorecido la emergencia de variantes con mayor virulencia como se ha documentado en diversas regiones del mundo como China, Brasil y Estados Unidos (Qin et al., 2023). Otro aspecto importante de los AdVh es su patrón de circulación. Aunque pueden detectarse durante todo el año, en regiones templadas se ha descrito un aumento de casos durante los meses fríos del invierno y a inicios de la primavera. En contraste, en climas tropicales, como el de Panamá, la circulación tiende a ser más constante, con incrementos asociados a factores locales como la temporada lluviosa, el hacinamiento en espacios cerrados y la dinámica poblacional. Estas condiciones favorecen la aparición de brotes, especialmente en entornos de convivencia cercana como escuelas, guarderías u hospitales. La transmisión ocurre fácilmente mediante secreciones respiratorias, gotas expulsadas al hablar o toser, la vía fecal-oral o el contacto con superficies contaminadas, ya que el virus puede mantenerse viable en el ambiente por períodos prolongados (Viaño Nogueira et al., 2019).

Estudios internacionales han demostrado que los genotipos 3,4,7,14,21 y 55

pueden asociarse con cuadros respiratorios más severos relacionados con brotes globales y con cuadros de neumonía grave en varios países (Qin et al., 2023). En países de América Latina como Brasil y Argentina se ha evidenciado la presencia de AdVh-B3, AdVh-B7, AdVh-C2, AdVh-C5 asociados a hospitalizaciones (Souza et al., 2021).

A pesar de que varios países han avanzado en el estudio de la diversidad de los adenovirus humanos, en Panamá existe poca información. Los informes de vigilancia de virus respiratorios solo registran la presencia constante (casos positivos) y no en la caracterización genética del adenovirus. No obstante, los informes de vigilancia ayudan a estimar cuán cuan frecuentes son los adenovirus, no ofrecen detalles de que genotipos estuvieron presentes en los años de estudio de esta investigación (Esquivel, 2024).

Identificar qué genotipos estuvieron presentes durante esos años ayudaría a entender de manera más clara cómo se comportan las infecciones respiratorias ocasionadas por este virus en el país, además de permitirnos comparar la realidad panameña con la de otros lugares de la región. Esta información también es clave para fortalecer la vigilancia epidemiológica, tanto en el presente como en los años siguientes. Su valor no se limita al ámbito científico, ya que también aporta elementos que pueden mejorar los métodos de diagnóstico y las acciones de control frente a estos virus. El estudio se plantea precisamente como una respuesta a esa necesidad: analizar desde el punto de vista molecular las cepas de adenovirus que provocaron infecciones respiratorias agudas en niños menores de cuatro años entre 2011 y 2019.

A partir del procesamiento de muestras respiratorias y del uso de técnicas moleculares actuales, se busca generar datos que permitan comprender mejor la dinámica y el comportamiento epidemiológico del AdVh en Panamá.

Los hallazgos de esta investigación harán posible reconocer los genotipos que circularon en el país, observar cómo variaron con el tiempo y determinar si alguno de ellos estuvo relacionado con cuadros clínicos más severos. De igual forma, este trabajo servirá como base para futuros estudios y contribuirá a fortalecer las estrategias de vigilancia enfocadas en la población infantil.

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Identificar la diversidad genotípica de adenovirus humano (AdVh) asociados a infecciones respiratorias agudas (IRA) durante los años 2011 – 2019 en Panamá.

Objetivos Específicos:

- Caracterizar molecularmente las cepas de AdVh durante los años 2011- 2019
- Analizar la asociación entre los genotipos de AdVh identificados y las características clínicas de los pacientes, para determinar posibles correlaciones entre genotipo y severidad de la enfermedad.
- Comparar la diversidad genética de los AdVh en Panamá con datos epidemiológicos y genéticos de otros países de la región y del mundo, para contextualizar los hallazgos en un marco global.
- Determinar los rangos de edad donde sean más frecuentes los contagios mediante análisis de las bases de datos.
- Describir la frecuencia de los casos de AdVh que se registraron en Panamá durante los años 2011 al 2019.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Generalidades.

Las infecciones respiratorias agudas continúan siendo una de las principales causas de enfermedad a nivel mundial, con un estimado de cuatro millones de fallecimientos anuales, afectando de manera desproporcionada a lactantes y niños pequeños debido a la mayor vulnerabilidad de este grupo etario. Este escenario evidencia la elevada transmisibilidad de los agentes etiológicos, así como la influencia de factores sociales, ambientales y biológicos que incrementan la susceptibilidad de determinados grupos poblacionales. Las infecciones respiratorias, tanto agudas como crónicas, son altamente frecuentes en adultos y niños, representando una carga significativa para los sistemas de salud y contribuyendo a una mayor morbilidad y mortalidad (L.Wang et al., 2023).

Los adenovirus fueron identificados por primera vez en 1953, cuando William Rowe y su equipo del National Institutes of Health aislaron un agente citopático a partir de tejido adenoideo humano cultivado in vitro. Los investigadores intentaban esclarecer las causas virales de diversas enfermedades respiratorias que afectaban a niños y adultos, un tema que cobraba importancia en la posguerra debido al aumento de las infecciones comunitarias (Rowe et al., 1953).

Los adenovirus humanos (AdVh) son virus de ADN bicatenario, no envueltos, capaces de infectar a seres humanos a través de múltiples vías. Estos virus pueden causar desde cuadros leves, similares a un resfriado, hasta infecciones broncopulmonares más graves, conjuntivitis, enfermedades gastrointestinales y en casos de inmunosupresión, formas más severas o sistémicas (Lion, 2014).

En Panamá, los adenovirus son conocidos por ser una causa frecuente de infecciones respiratorias agudas, afectando especialmente a los niños durante las temporadas de alta circulación viral. De tal manera las autoridades sanitarias y los hospitales pediátricos han notificado un aumento en las consultas por enfermedades respiratorias, siendo los adenovirus una parte común del panorama

etiológico. Esta situación recalca lo crucial que es mantener una vigilancia local constante y contar con la capacidad de diagnosticar y clasificar rápidamente estos virus (MINSA, 2022).

1.2 Taxonomía y clasificación.

Los adenovirus son agrupados en la familia Adenoviridae, que comprende un grupo de virus que contiene un genoma ADN y que infecta a diferentes especies animales. Dentro de esta familia, los virus que infectan a los seres humanos se agrupan en un solo género: el género Mastadenovirus. Este género agrupa a ciertos virus capaces de causar infecciones tanto en el aparato respiratorio, en el aparato digestivo como en la superficie ocular. Puede observarse el tropismo tisular de este tipo de virus. Las especies del género humano muestran asociación preferencial con síndromes clínicos: así, las especies B, C y E presentan sobreabundancia y prevalencia asociadas a enfermedades respiratorias; la especie D puede asociarse con queratoconjuntivitis y la especie F (tipos 40 y 41) se puede asociar con gastroenteritis pediátrica. La asociación entre taxonomía y tropismo es útil para orientar la investigación y la estrategia de diagnóstico (Russell, 2009).

La clasificación se ha basado en métodos serológicos, especialmente en la capacidad de aglutinación eritrocitaria y las pruebas de neutralización anticuerpos, durante décadas. Pero este enfoque no conseguía explicar adecuadamente las variantes estrechamente relacionadas, lo que limitaba la comprensión epidemiológica del virus. La modernidad de la clasificación se basa en el análisis del ADN vírico completo a partir del momento en que fue posible realizar comparaciones genómicas; esto ha permitido detectar recombinaciones naturales y genotipos emergentes que no podían ser detectados con serología. Esto ha hecho posible cruzar de una manera más precisa las especies, tropismos y brotes (Forqué et al., 2025). Hoy se reconocen más de 90 tipos de adenovirus humanos, lo que revela la diversidad genética de este grupo. Esta variabilidad constituye una de las principales razones por las que desarrollar vacunas universales ha sido un desafío y por las que continúan apareciendo nuevos tipos responsables de brotes regionales.

1.3 Características estructurales y organización.

Los adenovirus presentan una estructura icosaédrica simétrica la cual no contiene envoltura de aproximadamente 70-90 nm de diámetro, lo que aumenta la resistencia a cambios de pH, temperatura y desinfectantes comunes. Su cápside está formada por proteínas: Hexón, Pentón y la Fibra, las cuales determinan el tropismo viral y la respuesta inmune del hospedero (Russell, 2009).

El hexón es la proteína más abundante y contiene regiones variables que permiten diferenciar genotipos, además actúa como principal blanco para anticuerpos neutralizantes, el pentón participa en la internalización y la fibra determina la unión inicial de receptores celulares específicos lo cual define qué tejidos pueden infectar los distintos tipos virales. El genoma del adenovirus es un ADN de doble cadena, lineal, con aproximadamente 35 kilobases. Está organizado en regiones tempranas y tardías que se expresan de forma ordenada durante el ciclo replicativo. Las regiones tempranas regulan la replicación, modulan el ciclo celular y facilitan la evasión inmune, mientras que las tardías codifican proteínas estructurales necesarias para el ensamblaje del virión (Kajon, 2024).

La arquitectura genómica del virus le permite replicarse eficientemente en células humanas y mantenerse estable en el ambiente. Esta combinación de resistencia, precisión replicativa y flexibilidad genética explica por qué los adenovirus se encuentran entre los virus ADN más estudiados en ámbitos clínicos y biotecnológicos (Khanifar, 2023).

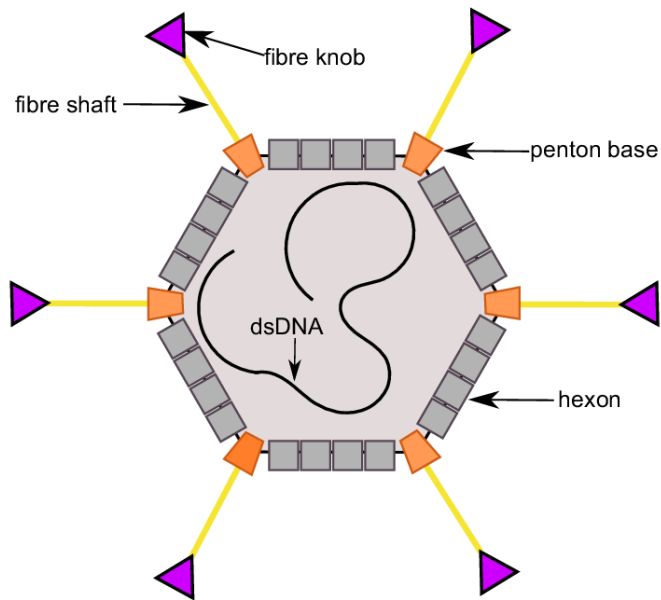


Figura 1: Dibujo esquemático del Adenovirus humano que muestra las principales proteínas de la cápside que interactúan con los receptores. El botón de la fibra está en morado, el eje de la fibra en amarillo, la base del pentón en naranja y el hexón en gris. Tomado de: (Stasiak & Stehle, 2020).

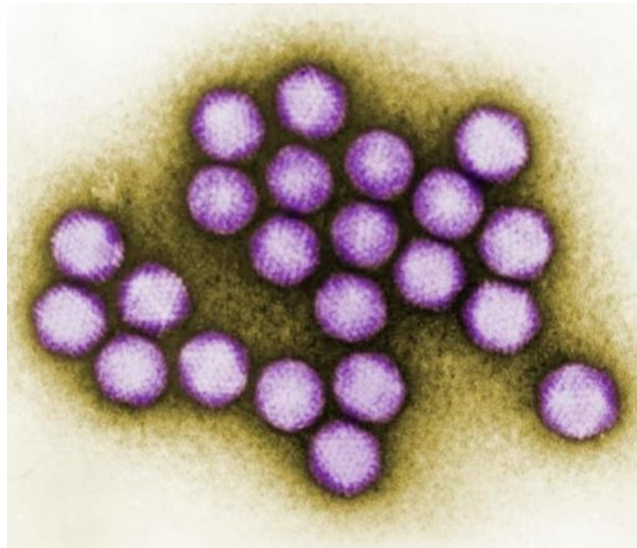


Figura 2: Micrografía electrónica con tinción de partículas de adenovirus Tomado de: (Adenovirus-Lectura, 2025).

1.4 Ciclo replicativo viral

El ciclo replicativo del adenovirus se desarrolla en una serie de etapas secuenciales, las cuales se ilustran en la Figura 3. La infección comienza con la unión de la fibra del virión a receptores de superficie, seguida por la interacción de la base del Pentón con integrinas que desencadenan la endocitosis mediada por clatrina. Estos pasos iniciales determinan la tropicidad y la eficiencia de entrada. Tras la internalización, el virión sufre un desensamblaje parcial en los endosomas y utiliza el transporte mediado por microtúbulos para llegar al núcleo. El ADN viral se libera en el núcleo, donde se expresan los genes tempranos (E1–E4), los cuales subvierten el ciclo celular, inhiben la apoptosis y suprimen respuestas antivirales, preparando el entorno para la replicación del genoma viral. Posteriormente, se transcriben y traducen los genes tardíos que codifican las proteínas estructurales; los viriones se ensamblan y maduran en el núcleo y finalmente son liberados mediante lisis celular, contribuyendo al daño tisular y a la inflamación local observada clínicamente (Khanifar, 2023). Variaciones en las etapas de entrada, desensamblaje y control de la respuesta del hospedero explican las diferencias observadas en virulencia y capacidad de persistencia entre los distintos genotipos de adenovirus (Cunliffe et al., 2020).

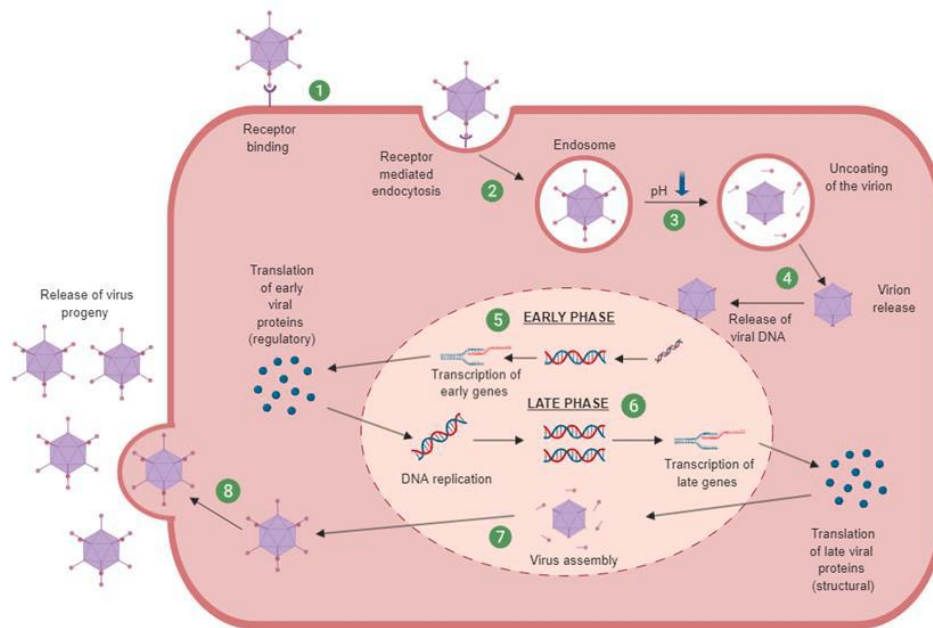


Figura 3: Ciclo de replicación del adenovirus. 1) Adhesión del virus a receptores en la superficie de la célula hospedero. 2) Internalización del virus por endocitosis. 3) Un pH bajo provoca la acidificación endosómica y el desensamblaje parcial del virión. 4) El virión se libera del endosoma y se transporta al complejo del poro nuclear, donde libera ADN viral en el núcleo. 5) Fase temprana: transcripción y posterior traducción de genes tempranos a las proteínas reguladoras tempranas. 6) Fase tardía: transcripción y posterior traducción de genes tardíos a las proteínas estructurales tardías. 7) Ensamblaje del virión progenie. 8) Lisis celular que resulta en la liberación del virus maduro. Tomado de : (Cunliffe et al., 2020).

1.5 Transmisión, infección y contagio.

La transmisión de los adenovirus ocurre, fundamentalmente, mediante contacto directo con secreciones respiratorias, a través de las gotas provenientes de hablar, toser o estornudar y a través de superficies contaminadas. Su estabilidad ambiental favorece que puedan permanecer viables a lo largo de varios días, lo cual incrementa las posibilidades de contagio (CDC, 2024).

Cuando el virus accede al organismo, se replica en células epiteliales del sitio de entrada, provocando inflamación local y síntomas como fiebre, congestión nasal, faringitis o conjuntivitis, dependiendo del tipo viral. En algunos casos, el virus puede diseminarse a otros tejidos, produciendo cuadros sistémicos. La infección puede ser asintomática o subclínica, lo cual resulta complicado para la vigilancia epidemiológica, ya que estas personas aparentemente sanas pueden transmitir el virus sin dar lugar a ningún tipo de sospechas. En los niños,

el tiempo de excreción viral es prolongado, lo cual favorece la diseminación comunitaria. La combinación de transmisión por múltiples rutas, persistencia ambiental y excreción prolongada contribuye a que los adenovirus mantengan una circulación sostenida en poblaciones humanas y a que los programas de vigilancia deban contemplar distintas matrices (respiratorias, fecales, ambientales) para una detección integral (Zambrana & Boehm, 2023).

1.6 Epidemiología molecular y manifestación clínica.

La epidemiología molecular utiliza secuenciación dirigida (hexón y fibra) y genómica completa para identificar genotipos circulantes, detectar recombinantes y rastrear cadenas de transmisión, permitiendo respuestas de salud pública más precisas ante brotes. La genotipificación es esencial para distinguir reintroducciones de la aparición de variantes locales (Marccone et al., 2021).

La introducción de técnicas como PCR y secuenciación permite realizar una caracterización de los genotipos que originan brotes, así como identificar variantes recombinantes que suelen ser responsables de brotes más amplios. La presentación clínica depende del tipo de virus, del estado inmunológico y de la edad de los pacientes y, en niños pequeños y lactantes, pueden presentar cuadros graves: bronquiolitis, neumonía, fiebre alta y dificultad respiratoria, mientras que en adultos sanos suele ser ligera (Saha et al., 2023).

Los adenovirus producen una gran variedad de cuadros clínicos: faringitis, fiebre, tos, bronquitis, bronquiolitis, neumonía y conjuntivitis. La severidad del cuadro depende del tipo, la edad, y del estado inmunológico del hospedero, siendo los lactantes e inmunodeprimidos los grupos de mayor riesgo de presentar cuadros más graves (Marccone et al., 2021).

Tabla 1: Especies y genotipos de adenovirus humano asociados a infecciones respiratorias agudas.

Especie de AdVh	Genotipos asociados a IRA	Notas clínicas y epidemiológicas	Referencia científica
AdVh-B	B3, B7, B11, B14, B21	Los genotipos B3 y B7 se asocian con brotes respiratorios severos; B14 y B21 se han vinculado a brotes comunitarios y neumonías.	X. Wang et al., (2021); Stopczynski et al., (2025)
AdVh-C	C1, C2, C5, C6	Circulación endémica en niños pequeños; asociados a infecciones respiratorias leves a moderadas con excreción viral prolongada.	Huang et al., (2021); Ukuli et al., (2023)
AdVh-E	E4	Menos frecuente, pero reportado en infecciones respiratorias y brotes, principalmente en adultos jóvenes.	X. Wang et al., (2021)
AdVh-B y AdVh-C	B3, B7, C1, C2	Cocirculación de especies B y C como principales causantes de IRA en población pediátrica hospitalizada.	Ukuli et al. (2023)

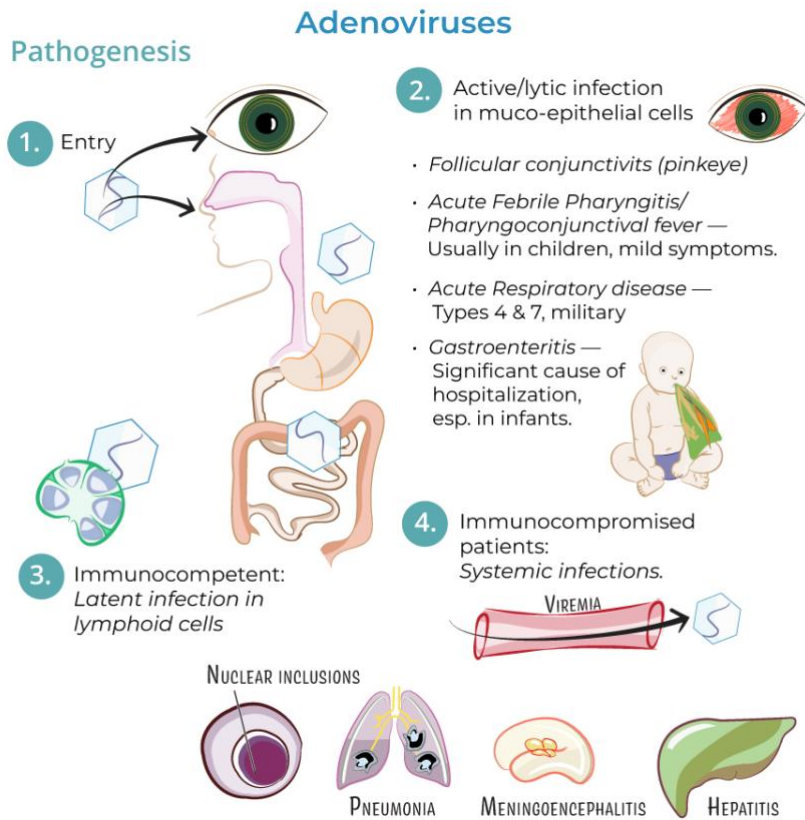


Figura 4: Manifestación clínica del adenovirus Tomado de: (Immunology / Microbiology Glossary: Adenoviruses | Ditki Medical & Biological).

1.7 Estacionalidad del virus

La estacionalidad de los adenovirus no es tan marcada como la del virus de la influenza o del virus sincicial respiratorio; en muchas regiones del mundo, estos virus circulan durante todo el año, presentando brotes o picos locales que dependen de factores sociales, climáticos y del surgimiento de nuevos genotipos. Esta diferencia en los patrones de circulación estacional entre los principales virus respiratorios se ilustra en la Figura 5, donde se observa que, a diferencia de otros virus con picos estacionales definidos, los adenovirus mantienen una circulación continua a lo largo del año. En consecuencia, la estacionalidad de los adenovirus es variable y dependiente del contexto geográfico (CDC, 2024).

En regiones tropicales, como Panamá, la circulación puede incrementarse durante la temporada lluviosa o en periodos de mayor hacinamiento en espacios cerrados; estos patrones locales deben ser evaluados mediante sistemas de vigilancia sostenida para orientar y adaptar las medidas de salud pública. La ausencia de una estacionalidad definida refuerza la consideración de los adenovirus como una amenaza persistente, lo que exige que los sistemas de salud mantengan capacidad de detección durante todo el año (MINSA, 2022).

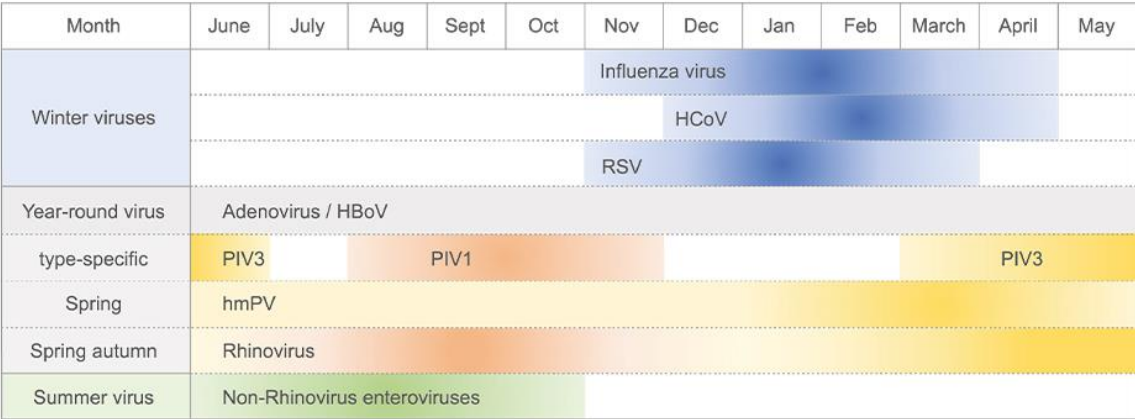


Figura 5: Patrón estacional de los principales virus respiratorios humanos. En regiones templadas, virus como influenza y el virus sincial respiratorio presentan picos estacionales bien definidos, mientras que los adenovirus pueden circular durante todo el año sin una estacionalidad marcada. Si bien estos patrones se describen principalmente a partir de datos provenientes de regiones templadas, en regiones tropicales como Panamá la circulación de adenovirus también se mantiene a lo largo del año, con variaciones locales asociadas a factores climáticos y sociales. Tomado de: (Griffin et al., 2020; CDC, 2024).

1.8 Tratamiento y prevención.

No existe un antiviral de uso general aprobado para todas las infecciones por adenovirus en población general; el manejo es mayoritariamente sintomático. En casos graves o en pacientes inmunodeprimidos se han usado fármacos como cidofovir (con monitorización por nefrotoxicidad) y análogos en situaciones compasivas o en protocolos controlados, pero la evidencia es limitada. Nuevos compuestos y estrategias están en investigación (CDC, 2024).

Existen vacunas específicas contra los tipos 4 y 7, pero su uso está restringido

a personal militar en algunos países. No existe aún una vacuna de uso general debido a la diversidad genética del virus (Gray et al., 2000).

Las medidas de prevención clásicas (higiene de manos, limpieza y desinfección de superficies, aislamiento de casos en entornos sanitarios o comunitarios) son las herramientas más efectivas para reducir la transmisión, especialmente en guarderías, hospitales y otros espacios cerrados (Khanifar, 2023).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Tipo de Investigación:

Estudio observacional con componente exploratorio de caracterización molecular.

2.2 Diseño:

Estudio retrospectivo y descriptivo.

2.3 Universo:

Se utilizaron muestras respiratorias, principalmente nasofaríngeas, recibidas entre 2011 y 2019 en el Departamento de Virología y Biotecnología del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), a través del Programa de Vigilancia de Influenza y otros Virus Respiratorios (Figura 6).



Figura 6: Lugar de estudio. Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), Panamá.

2.4 Tamaño y selección de muestra:

De 332 detecciones de AdVh registradas entre 2011 a 2019, se seleccionaron 248 muestras positivas correspondientes a niños menores de 5 años. Las muestras se conservaron a -80 °C en medio de transporte viral hasta su procesamiento.

2.5 Información general y variable

La información fue organizada en una base de datos anónimo mediante un identificador único (ID). Se creó una base de datos secundaria para el análisis estadístico de las variables que se mencionan a continuación:

- Género
- Edad
- Región (o "corregimiento") de procedencia
- Sintomatología
- Condición Clínica (paciente ambulatorio u hospitalizado).

2.6 Metodología Molecular

2.6.1 Extracción de ácidos nucleicos

El ADN del adenovirus humano (AdVh) fue extraído de manera automatizada utilizando el sistema KingFisher™ Flex (Thermo Fisher Scientific, USA). Para ello se empleó el MagMax™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit, el cual se basa en tecnología de perlas magnéticas que permite la recuperación reproducible de ácidos nucleicos de alta pureza. El kit incluye los reactivos solución de lavado, etanol al 80 %, solución de elución y mezcla de unión, los cuales se prepararon y organizaron previamente para su uso (Figura 7).

La extracción se realizó en placas de 96 pocillos, dispensándose en una placa por separado los reactivos en las siguientes cantidades: 500 µL de solución de lavado, 500 µL de etanol al 80 %, 50 µL de solución de elución y 280 µL de mezcla de unión. Posteriormente, se añadieron 200 µL de muestra a cada pocillo de la placa que contenía la mezcla de unión. En cada corrida de extracción se incluyó un control negativo (agua grado molecular), con el objetivo de monitorear posibles eventos de contaminación cruzada durante el proceso.

Las placas con los reactivos, la muestra y el respectivo control fueron colocadas en el equipo KingFisher™ Flex para ejecutar el protocolo automatizado, siguiendo las recomendaciones del fabricante (Figura 8).

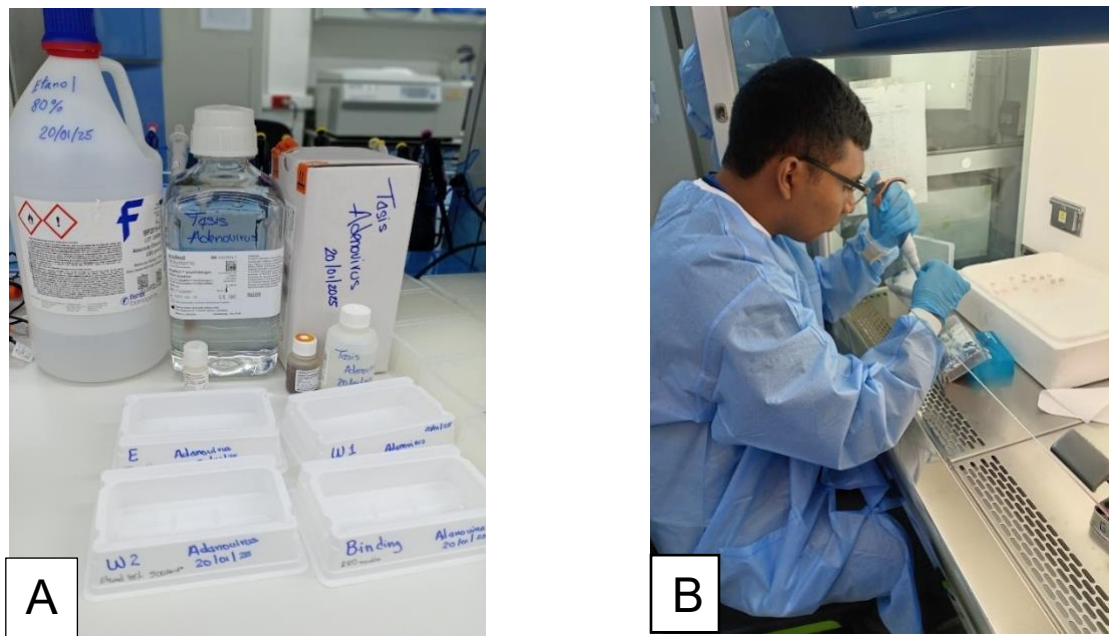


Figura 7: MagMax™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit (A). Colocación de las muestras en los platos de extracción (B).

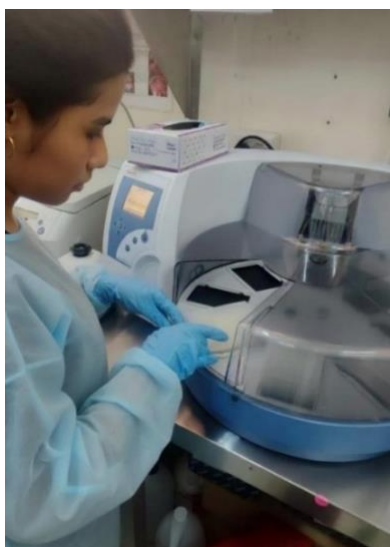


Figura 8: Procesamiento de las muestras, extracción automatizada de material genético (ADN) mediante el equipo KingFisher.

Tabla 2: Componentes de la mezcla de reacción para la extracción del material genético de las muestras de diagnóstico.

Reactivos	Volumen μL
Wash solution (1)	500 μL
Etanol 80% (wash 2)	500 μL
Elution solution	50 μL
Binding Mix	280 μL
Muestra	200 μL

2.6.2 Amplificación de ácidos nucleicos por PCR punto final para el Gen de la Fibra

Las condiciones de PCR se realizaron de acuerdo con el protocolo descrito por (Wu et al., 2022) donde las reacciones se llevaron a cabo en un volumen total de 20 μL que comprendió: 1× del kit comercial Taq Master Mix de QIAGEN (10 μL), cebador F (10 $\mu\text{mol/L}$, 0.5 μL), cebador R (10 $\mu\text{mol/L}$, 0.5 μL), muestra de ADN del virus (1 μL) y agua (8 μL). Los cebadores utilizados para la amplificación e identificación del virus corresponden a genes específicos del virus principalmente para el gen de las proteínas de la cápside del gen de la fibra. Los cebadores del gen la fibra para la amplificación mediante PCR son las siguientes: Fiber-F (5'CCCTCTTCCCAACTCTGGTA 3') y Fiber-R (5'GCTCATCAATAAAACGGAGGGG 3') se diseñaron tanto para la amplificación por PCR como para la secuenciación del producto del gen de la fibra. El proceso de amplificación se realizó en el Termociclador SimpliAmp™ (Applied Biosystems). El programa de amplificación consistió en: desnaturalización inicial 94.0°C x 3 minutos, 35 ciclos 94°C x 0:30 segundos, la hibridación 52.0°C x 0:30 segundos, la extensión 72°C x 1:40 minutos y la extensión final 72°C x 10 minutos. Los productos resultantes de la PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 1.5% teñido con Gel Red, utilizando un tampón TBE al 0.5x y un marcador de peso molecular Trackit 1Kb DNA Ladder (Invitrogen Karlsruhe, Alemania). Las imágenes de los productos fueron capturadas utilizando el sistema de imagen fotodocumentador ChemiDoc

MP.

Tabla 3: Reactivos para la amplificación del ADN del virus

Reactivos	Volumen μL
Master Mix	10 μL
Primer F	0.5 μL
Primer R	0.5 μL
Agua	6.5 μL
Muestra	2 μL

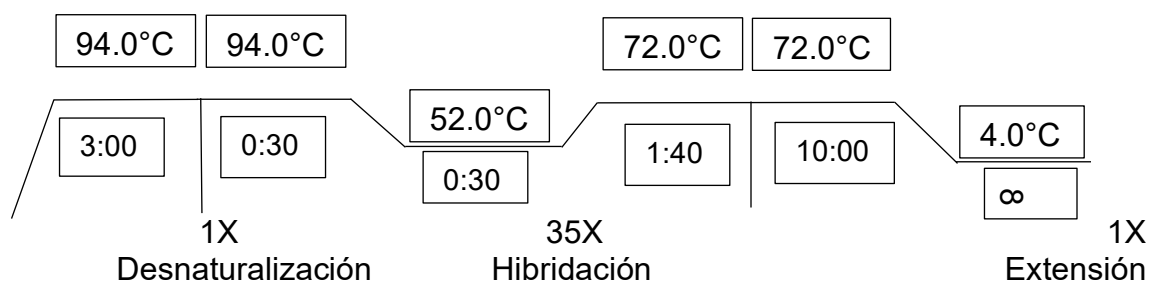


Figura 9: Ciclo de temperatura para el proceso de amplificación (gen de la fibra).

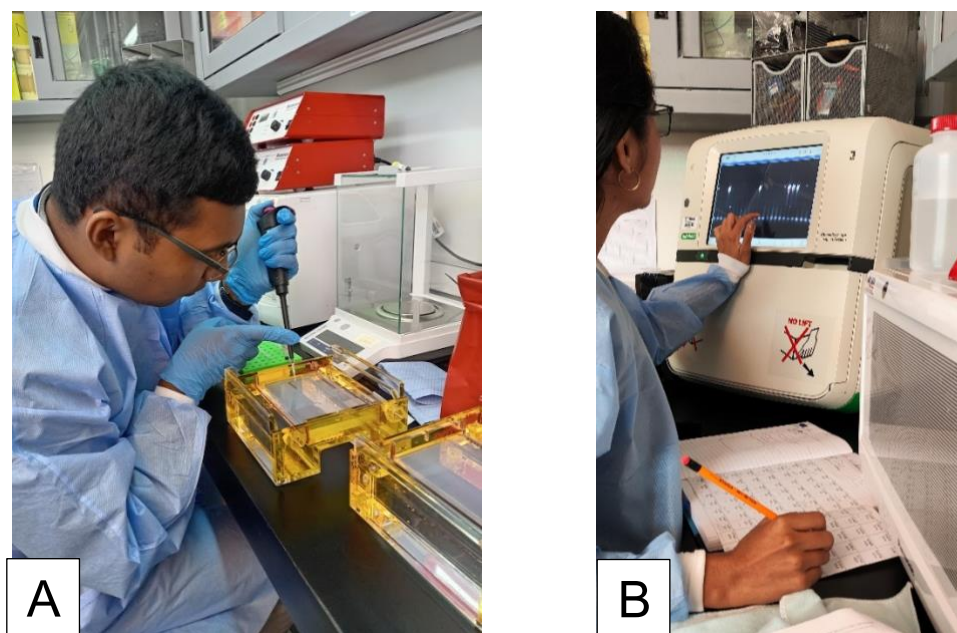


Figura 10: Electroforesis de las muestras AdVh (A). Visualización de muestras amplificadas mediante el fotodocumentador (B).

2.6.3 Amplificación de ácidos nucleicos por PCR anidada para el Gen del Hexón

Las condiciones de la PCR anidada se realizaron de acuerdo con el protocolo descrito por (X. Wang et. al., 2021) donde las reacciones se realizaron en un volumen total de 25 μL que comprendió: kit QIAamp MinElute Virus Spin Kit (kit de extracción 6.5 μL), primer adhxF1 (10 $\mu\text{mol/L}$ 0.5 μL), primer adhxF1 (10 $\mu\text{mol/L}$ 0.5 μL), muestra de ADN del virus (1 μL) y agua (6.5 μL). Los cebadores utilizados para la amplificación e identificación del virus corresponden a genes específicos del virus principalmente para el gen de las proteínas de la cápside del gen hexón. Los primers de la primera PCR fueron: AdhxF1 (5'-TGTAACGACGGCCAGT-TICTTTGA CATICGIGGIGTICTIGA-3') y AdhxF1 (5'-CTGTCTACIGCCTGRTTCCACA-3'). El proceso de amplificación se realizó en el Termociclador SimpliAmp™ (Applied Biosystems). Las condiciones que llevó a cabo el termociclador fueron para la desnaturalización inicial 94.0°C x 3 minutos, 35 ciclos 94.0°C x 1 minuto, la hibridación 45.0°C x 1 minuto, la extensión 72°C x 1 minuto y la extensión final 72°C x 5 minutos.

Para la segunda PCR se utilizó los siguientes primers: AdhexF2 (5'-GGYCCYAGYTTTAAARCCCTAYTC-3') y AdhexR2 (5'-GGTTCTGTCICCCAGA GARTCIAGCA-3') se llevó a cabo en las siguientes condiciones la desnaturalización inicial 96.0°C x 3 minutos, 45 ciclos 96.0°C x 15 segundos, la hibridación 53.0°C x 20 segundos, la extensión final 60.0°C x 4 minutos. Los productos resultantes de la PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 2% teñido con Gel Red, utilizando un tampón TBE al 0.5X y un marcador de peso molecular Ladder (Invitrogen Karlsruhe, Alemania). Las imágenes de los productos fueron capturadas utilizando el sistema de imagen fotodocumentador ChemiDoc MP.

Tabla 4: Reactivos para la primera amplificación del ADN del virus

Reactivos	Volumen μL
Master Mix	12.5 μL
Primer F	0.5 μL
Primer R	0.5 μL
Agua	6.5 μL
Muestra	5 μL

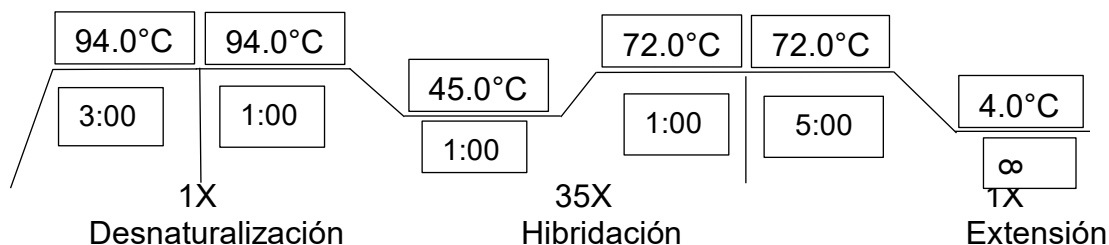


Figura 11: Ciclo de temperatura para el proceso de amplificación (gen del hexón) Primera PCR.

Tabla 5: Reactivos para la segunda amplificación del ADN del virus.

Reactivos	Volumen μL
Master Mix	12.5 μL
Primer F	0.5 μL
Primer R	0.5 μL
Agua	11 μL
Muestra	0.5 μL

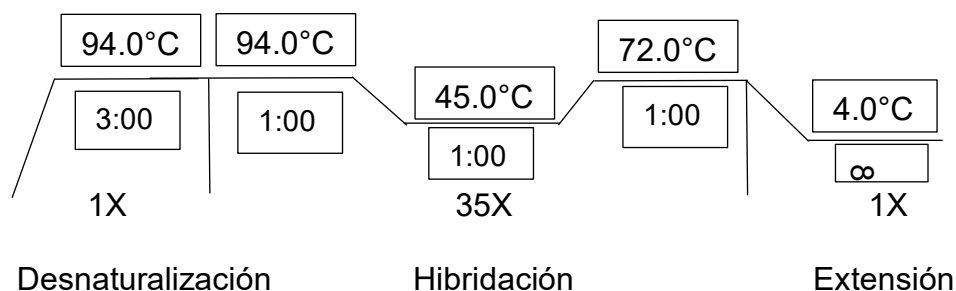


Figura 12: Ciclo de temperatura para el proceso de amplificación (gen del hexón) Segunda PCR.

2.6.4 Métodos de purificación previos a la secuenciación.

Se realizó la purificación de todas las muestras positivas para eliminar residuos de reactivos obtenidos de la PCR punto final. Utilizamos la enzima ExoSAP-IT™ de Applied Biosystems. Se utilizó 2 μL de enzima ExoSAP-IT™ y 5 μL de volumen de muestra a purificar. Las condiciones fueron las siguientes: 37.0°C x 4 minutos para que el exceso de los primers y nucleótidos se degrade y 80.0°C x 1 minuto para inactivar la enzima.

Tabla 6: Reactivos para la purificación previa a la secuenciación.

Reactivos	Volumen μL
Enzima ExoSAP-IT™	2 μL
Muestra	5 μL
Volumen total	7 μL

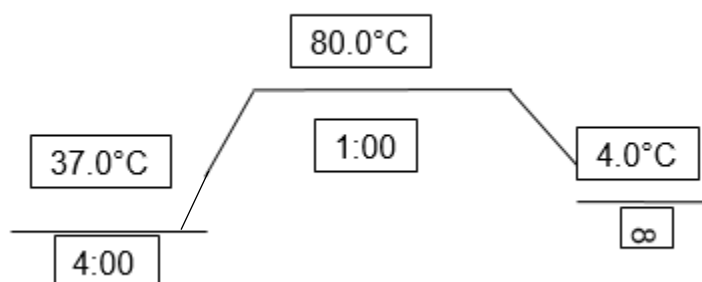


Figura 13: Ciclo de temperatura para la purificación de las muestras.

2.7 Reacción de Secuenciación

El proceso de secuenciación se llevó a cabo con el método Sanger por capilaridad el cual está basado en el mecanismo de síntesis de ADN llevado a cabo por una ADN polimerasa, utilizando nucleótidos marcados con fluorescencia incluidos dentro del kit comercial Big Dye Terminator. El mix de reacción contenía 3.5 μL de H_2O grado molecular libre de nucleasa, 3.5 μL de buffer, 1 μL de los primers F y R y 1 μL de Big Dye. Se añadió 9 μL del mix y 1 μL de la muestra purificada, el ciclo de secuenciación, realizado en el SimpliAmp Thermal Cycler (Applied Biosystems). Se preparó un control positivo utilizando una secuencia de ADN control pGEM®-3Zf(+) (Applied Biosystems) mezclada según las especificaciones del fabricante: 3.5 μL de H_2O grado molecular libre de nucleasas, 3.5 μL de Buffer 5x, 1 μL de primer de control-21M13Forward, 1 μL del pGEM®-3Zf(+) y 1 μL de BigDye.

Tabla 7: Reactivos del mix de secuenciación.

Reactivos	Volumen μL
Mix Big Dye Terminator	1 μL
Big Dye Buffer	3.5 μL
Primers F y R	1 μL
Agua libre de nucleasa	3.5 μL
Volumen total	7 μL

Tabla 8: Reactivos del control positivo pGEM.

Mix del control pGEM®-3Zf(+)	Volumen μL
Agua libre de nucleasa	3.5 μL
Buffer 5x	3.5 μL
Primer de Control-21M13	1 μL
Mix Big Dye	1 μL
pGEM	1 μL
Volumen total	10 μL

2.8 Purificación de la reacción de secuenciación.

Se realizó una segunda purificación la cual consistía en eliminar resto de sales, turbiedad o residuos que pudieron quedar tras la reacción de secuenciación. Para esta purificación se utilizó el kit Big Dye XTerminator el cual se usó los siguientes volúmenes 45 μL de solución SAM y 10 μL de Big Dye XTerminator, seguido se agitó en vórtex por 30 minutos y se culminó con la centrifugación por 2 minutos a 1800 rpm.

2.9 Análisis de las secuencias y caracterización molecular.

Una vez obtenidas las secuencias, procedimos a editarlas utilizando el programa Sequencher 4.1.4, alineamos las secuencias obtenidas con secuencias de referencia del GenBank. Para realizar el análisis filogenético y construcción del dendrograma con 5000 comparaciones (bootstrap), utilizamos el programa MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.

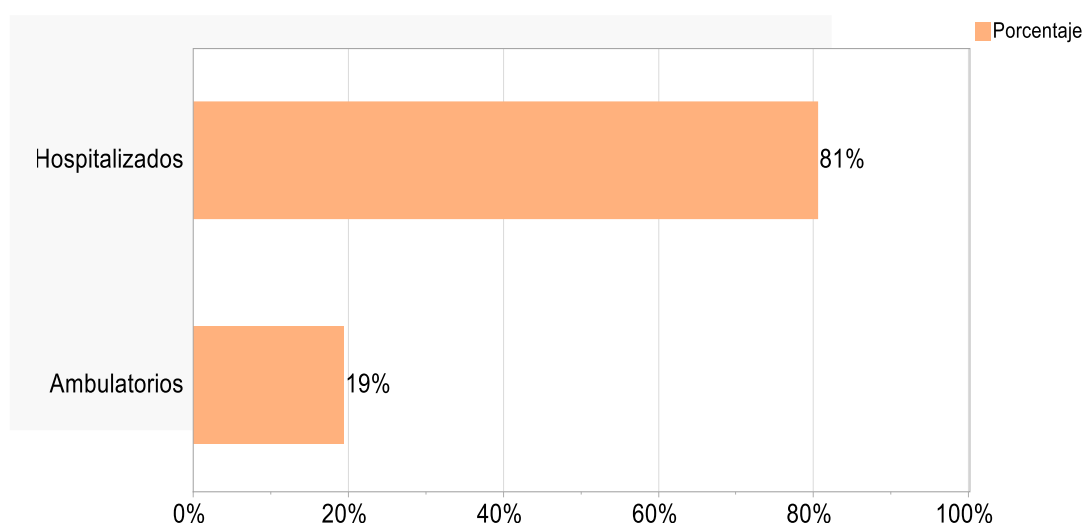
CAPÍTULO III

.

RESULTADOS

De 14, 678 muestras analizadas entre 2011 a 2019, 332 resultaron positivas para AdVh, lo que corresponde a una prevalencia del 2.3 %. De estas, 248 muestras cumplieron los criterios de inclusión para el análisis molecular.

El 81 % (200/248) de los casos positivos correspondió a pacientes hospitalizados, mientras que el 19 % (48/248) fueron ambulatorios (Grafica 1). La mayor frecuencia de hospitalización se observó en el grupo de 6 a 11 meses.



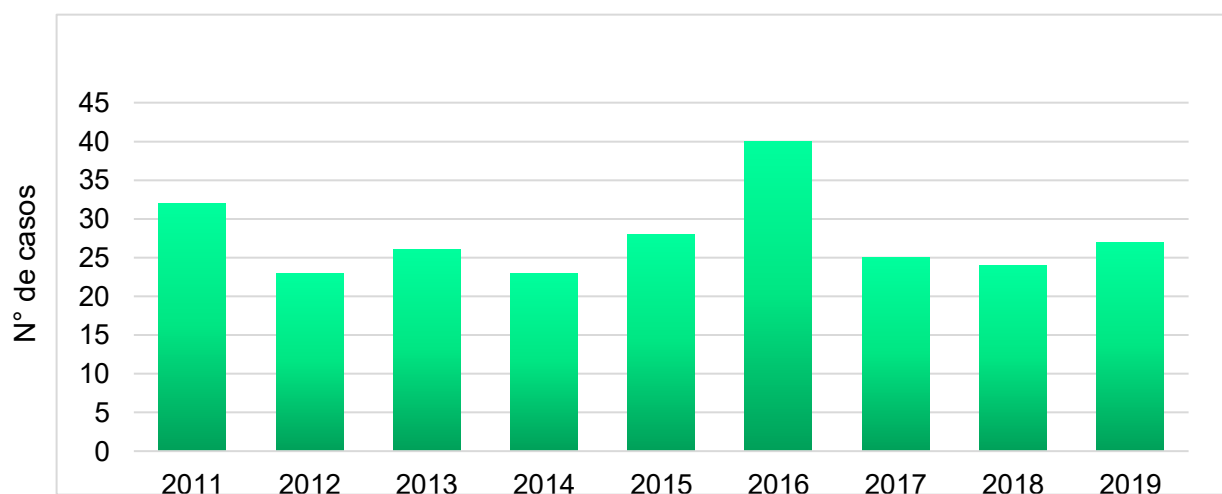
Gráfica 1: Condición clínica de los pacientes positivos por AdVh

De las 248 muestras, 188 contaban con información de género. El 43% (106/248) correspondió a pacientes masculinos, el 33% (82/248) a femeninos y el 24% (60/248) carecía de información disponible (N/D) (Tabla 9).

Tabla 9: Género de pacientes positivos por AdVh.

Género	Pacientes	Porcentaje (%)
Masculino	106	43
Femenino	82	33
N/D	60	24

El análisis cronológico de los casos positivos de AdVh durante los años analizados, reveló, que el virus ha circulado de forma sostenida en Panamá. El AdVh fue detectado ininterrumpidamente a lo largo de los 9 años de estudio, registrándose casos positivos en todos los meses del periodo 2011-2019 (Gráfica 2).



Gráfica 2: Frecuencia del AdVh en los 9 años de estudio.

Las muestras positivas de Advh analizadas provinieron de diversas regiones y provincias del país, como: Bocas del Toro, Coclé, Colón, Darién, Herrera, Los Santos y Veraguas. Además, el estudio incluyó reportes provenientes de regiones relevantes como Panamá Metro y San Miguelito, junto con las Comarcas Ngäbe-Buglé y Guna Yala. Las regiones con mayor número de casos fueron Panamá Metro (76/248), San Miguelito (32/248) y Panamá Oeste (30/248) (Figura 14).

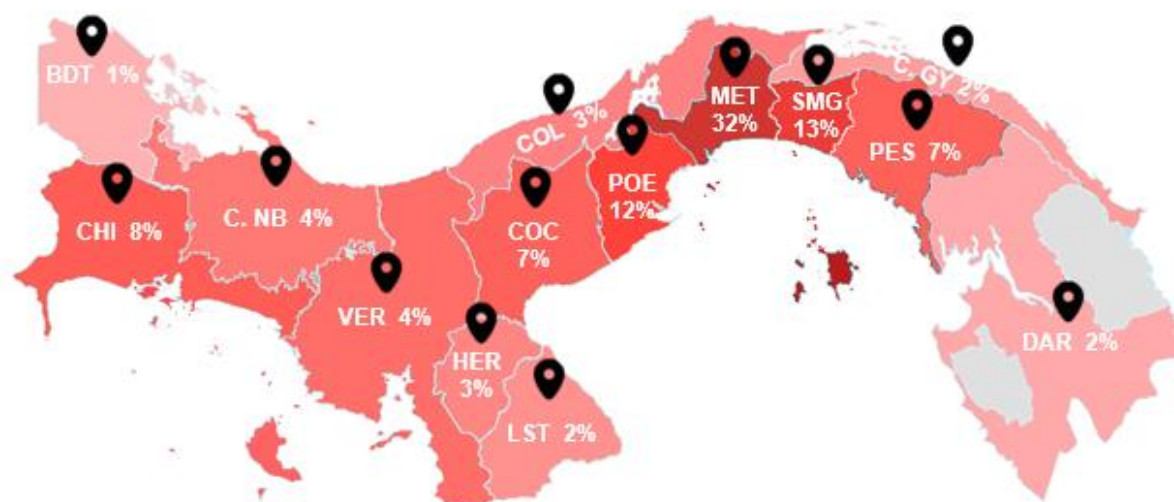
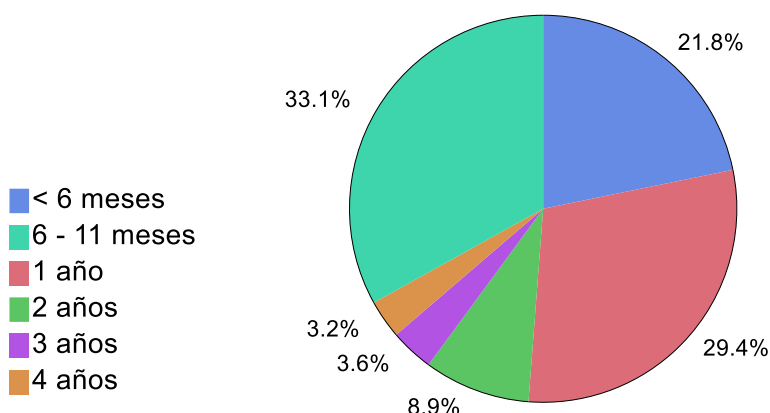


Figura 14. Porcentajes de detección de Advh por región en el país.

Los niños menores de 2 años representaron el 84.3% (209/248) de los casos positivos.

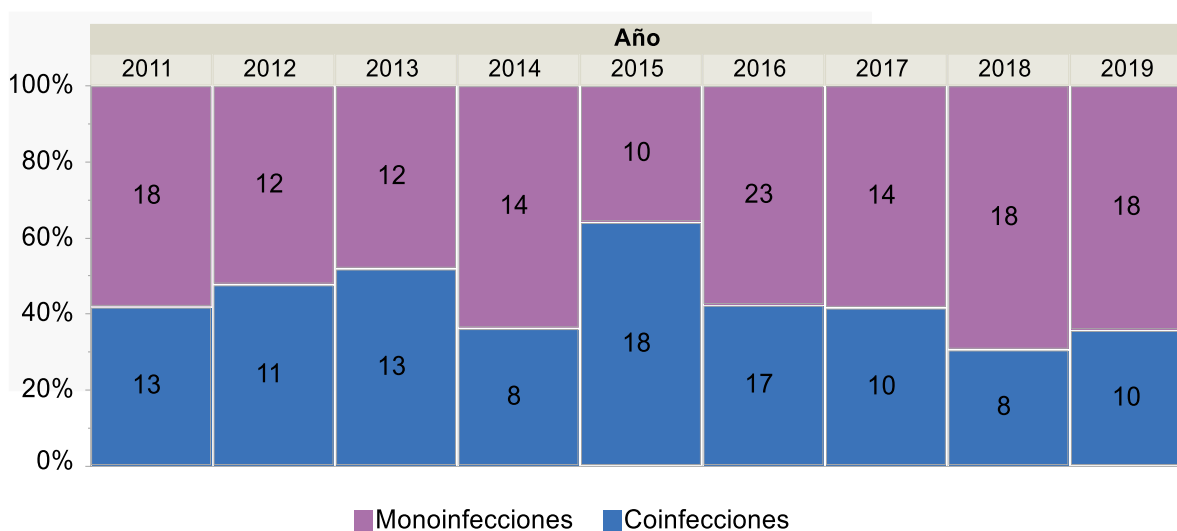
Dentro de ese grupo la mayor cantidad de casos correspondió a infantes de 6 a 11 meses (82 casos) representando el 33.1%, seguidos por los de 1 año (73 casos) con 29.4% (Gráfica 3).



Gráfica 3: Rangos de edades principales de pacientes positivos AdVh

Por otro lado, el 56% (139/248) correspondió a mono infecciones, mientras que el 44% (109/248) presento coinfección con al menos otro virus respiratorio.

En las coinfecciones, el virus Rinovirus humano (RVh) fue el agente más frecuentemente asociado a la coinfección con AdVh, representando el 33% de todos los eventos de coinfección. El Virus Sincitial Respiratorio humano (VSRh) le siguió en frecuencia, presente en el 24% de los casos, y el Virus Parainfluenza-3 (PIV-3) contribuyó con el 12%. (Ver en la tabla 10 el resto del listado de coinfecciones).

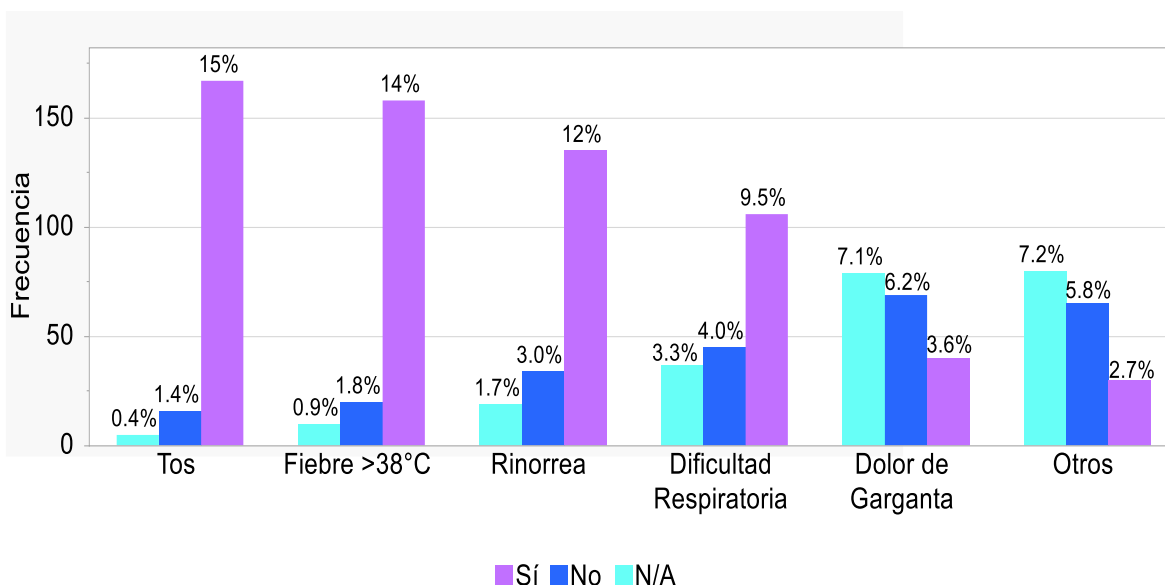


Gráfica 4: Porcentajes de mono infecciones y coinfecciones por año.

Tabla 10: Principales virus presentes en coinfección con AdVh.

Coinfección	Cantidades	Porcentaje (%)	Año Registrado
AdVh/RVh	36	33	2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019
AdVh/VSRh	27	24	2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019
AdVh/PIV-3	13	12	2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019
AdVh/MPVh	7	6	2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2018
AdVh/H1N1	6	5	2016, 2019
AdVh/PIV-1	2	2	2014, 2018
AdVh/PIV-2	1	1	2012
AdVh/H3N2	1	1	2013
AdVh/FLU B	1	1	2017
Coinfección Múltiple			
AdVh/VSRh/RVh	4	4	2011, 2013, 2014
AdVh/PIV-3/RVh	2	2	2012, 2013
AdVh/MPVh/RVh	1	1	2017
AdVh/MPVh/PIV-2	1	1	2012
AdVh/PIV-1/RVh	1	1	2012
AdVh/PIV-2/RVh	1	1	2018
AdVh/H1N1/RVh	1	1	2016
AdVh/FLU B/PIV-1	1	1	2014
AdVh/VSRh/MPVh	1	1	2019
AdVh/VSRh/PIV-2	1	1	2015
AdVh/VSRh/PIV-3	1	1	2015

Los síntomas más frecuentes reportados fueron tos (167/248), fiebre > 38 °C (158/248), rinorrea (135/248) y dificultad respiratoria (106/248) (Gráfica 5). Se incluyeron también síntomas menos frecuentes, de los cuales podemos mencionar disnea (10 casos), diarrea (7 casos), vómitos (5 casos) y astenia o debilidad (2 casos).



Gráfica 5: Síntomas reportados en los formularios médicos.

Se registró que 60 pacientes de los 248, no contaban con un diagnóstico clínico registrado en su historial médico.

75 pacientes fueron diagnosticados con algún subtipo de Neumonía (incluyendo Bronconeumonía y Neumonía Bilateral/Derecha/Izquierda), representando el 39.9% de los diagnósticos específicos. 26 pacientes padecieron de Bronquiolitis Aguda/Severa, y 8 pacientes presentaron Insuficiencia Respiratoria Aguda. El resto de los diagnósticos, como Faringitis, Asma y Síndrome Gripal, se presentaron en frecuencias menores (Tabla 11).

Tabla 11: Diagnósticos clínicos reportados en los formularios médicos.

Diagnóstico clínico	Cantidad de pacientes
N/D	60
Neumonía	69
Bronquiolitis aguda/severa	26
Insuficiencia respiratoria aguda	8
Neumonía bilateral	4
Bronconeumonía	3
Displasia broncopulmonar	3
Hiperreactividad bronquial	3
Faringitis/Faringoamigdalitis	2
Síndrome viral	2
Asma	2
Exantema viral	2
Neumonía derecha	1
Neumonía izquierda	1
Neumonía/Síndrome de Down	1
Síndrome coqueluchoide	1
Total General	188

La amplificación de los ácidos nucleicos del adenovirus humano (AdVh) se realizó mediante dos metodologías distintas, adaptadas a las regiones de interés del genoma del virus. Para obtener la región que codifica el gen de la fibra, se optó por la PCR convencional con los cebadores publicados por Wu et al. (2022) (Figura 14) mientras que, para la amplificación de la región que codifica el gen hexón, se empleó la técnica de PCR anidada, utilizando los cebadores de referencia publicados por X. Wang et al. (2021) (Figura 15).

De las 248 muestras positivas seleccionadas, 41 (16.5%) lograron amplificación y secuenciación exitosa, de las cuales 33 fueron obtenidas a través de la amplificación del gen hexón y 8 mediante el gen de la fibra.

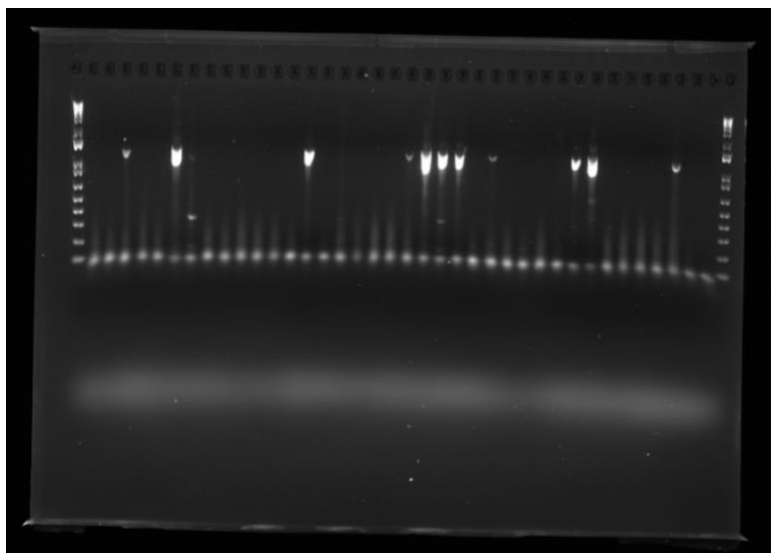


Figura 15: Visualización por electroforesis en gel de agarosa de las muestras amplificadas del gen de la fibra mediante PCR convencional.

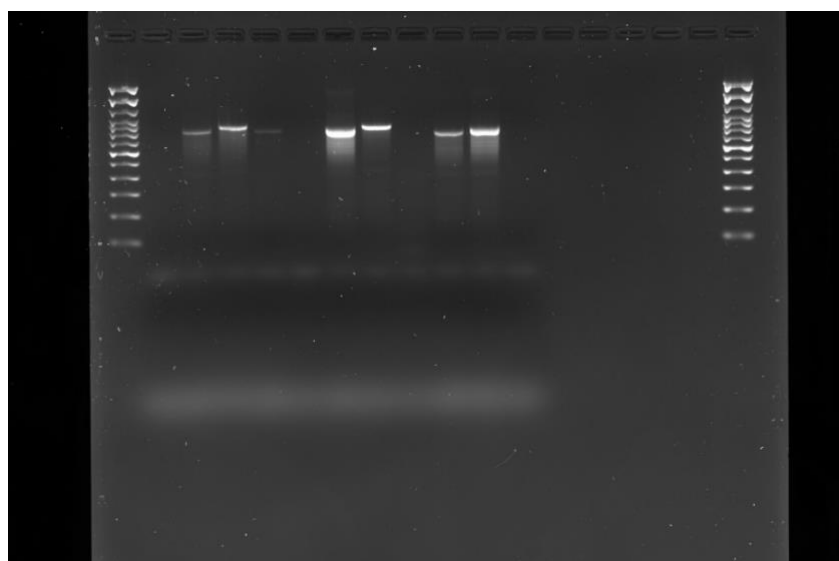
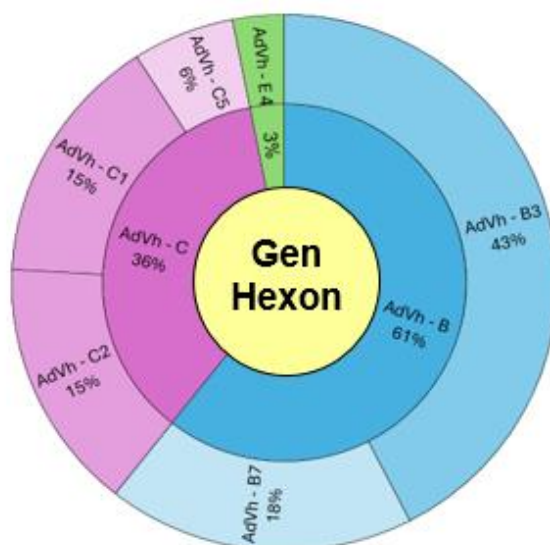


Figura 16: Visualización por electroforesis en gel de agarosa de las muestras amplificadas del gen hexón mediante PCR Anidada.

Una vez amplificados, los productos de ambas reacciones fueron purificados y posteriormente secuenciados mediante el método de Sanger, lo cual permitió la identificación y caracterización de los genotipos circulantes.

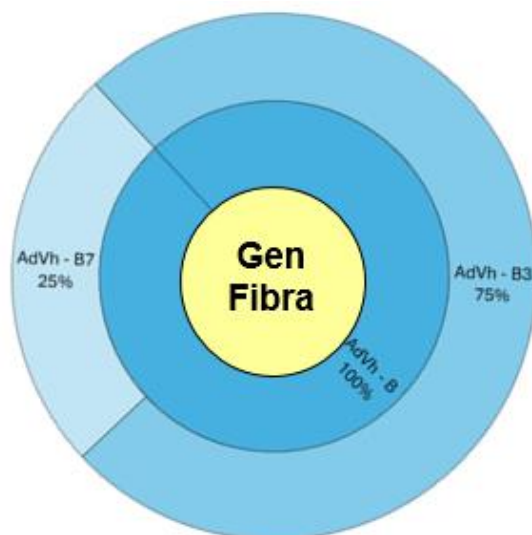
El análisis molecular de las 33 secuencias del gen hexón reveló la circulación de tres especies de AdVh (AdVh-B, AdVh-C y AdVh-E). La especie AdVh-B fue la predominante con un 61%, siendo el genotipo AdVh-B3 el agente más frecuente (43%) seguido del genotipo AdVh-B7 (18%). La especie C (AdVh-C) mostró una co-circulación significativa, donde el genotipo AdVh-C1 (15%) y AdVh-C2 (15%) mostraron una frecuencia idéntica, mientras que el genotipo AdVh-C5 contribuyó con un 6%. La especie AdVh-E (genotipo AdVh-E4) con tan solo un caso registrado, representó el 3% (Gráfica 6).



Gráfica 6: Porcentaje de secuencias obtenidas a partir del gen del hexón.

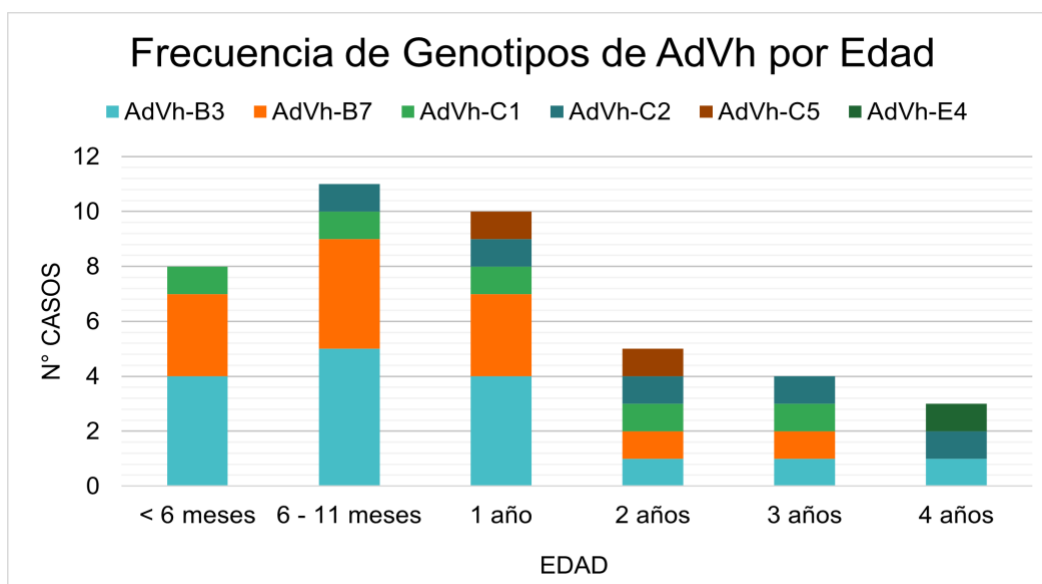
Por otro lado, las 8 secuencias obtenidas por el gen de la fibra correspondieron exclusivamente a genotipos de la especie AdVh-B.

En este subgrupo, el genotipo AdVh-B3 fue el ampliamente mayoritario, detectado en 6 de las 8 secuencias, lo que representa el 75%. Las 2 secuencias restantes se atribuyeron al genotipo AdVh-B7, constituyendo el 25% del subgrupo (Gráfica 7).



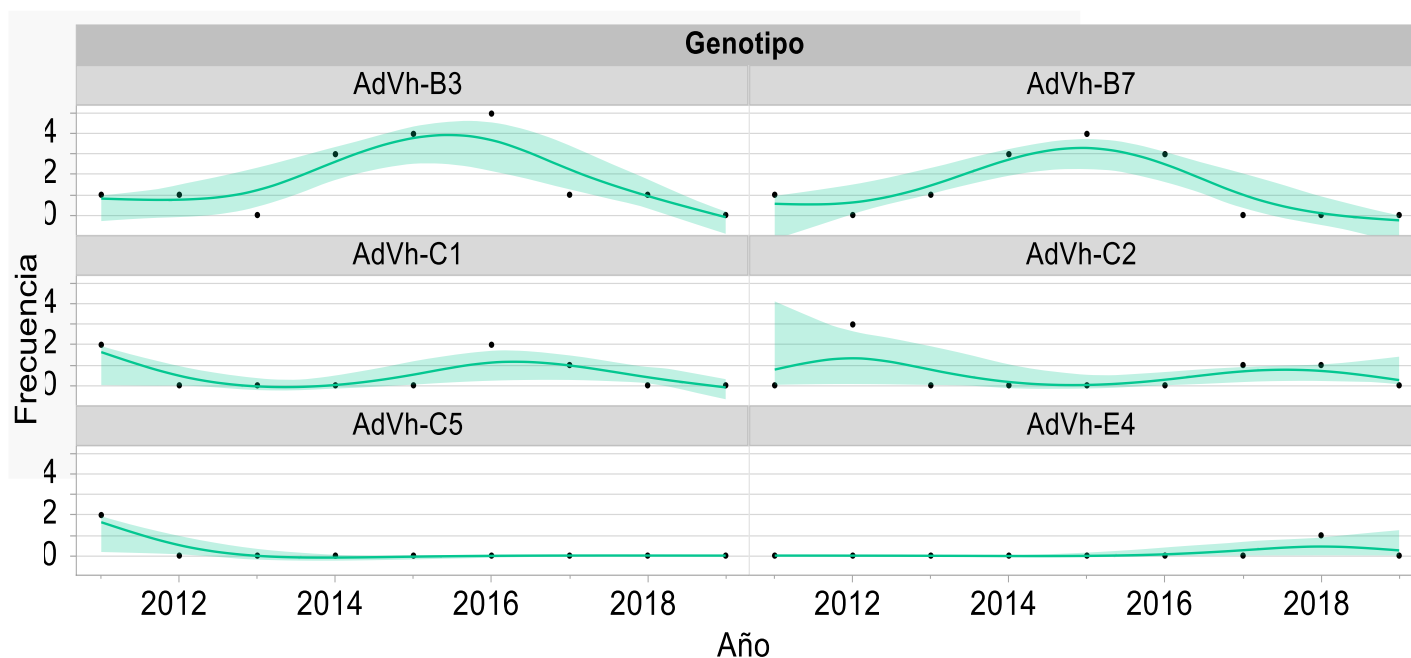
Gráfica 7: Porcentaje de secuencias obtenidas a partir del gen de la fibra.

La distribución de genotipos por edad en las 41 secuencias obtenidas muestra una clara concentración en niños menores de 2 años, especialmente en los bebés de 6 a 11 meses (11/41) y 1 año (10/41). Los genotipos de la especie B (AdVh-B3 y AdVh-B7) son los que más se encuentran en estos grupos de mayor vulnerabilidad, mientras que los genotipos de especie C se distribuyen de forma más amplia (Gráfica 8).



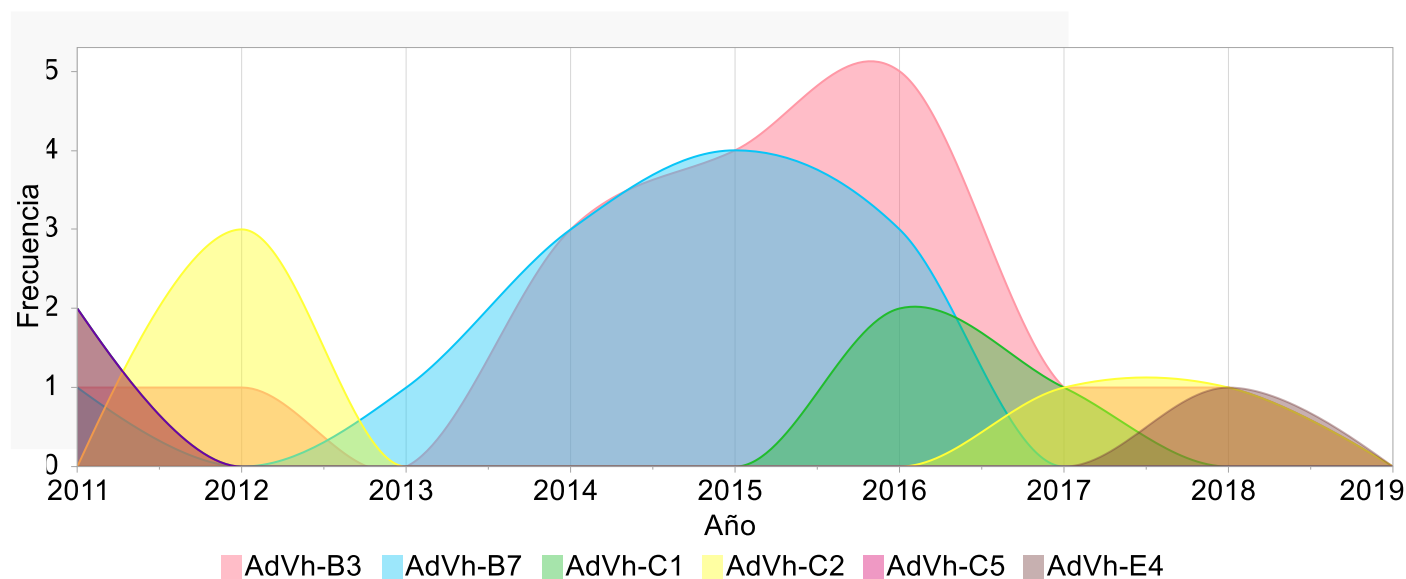
Gráfica 8: Frecuencia de genotipos de AdVh por edad.

La distribución anual de los genotipos de AdVh muestra que la circulación molecular más intensa se registró entre el año 2016 (10 secuencias) y 2015 (8 secuencias). Este patrón fue impulsado principalmente por los genotipos de la especie B (AdVh-B3 y AdVh-B7). El genotipo AdVh-B3 dominó consistentemente los picos de actividad, mientras que la especie C (C1, C2, C5) y la especie E (E4) mostraron una circulación esporádica a lo largo de los años (Gráfica 9).



Gráfica 9: Frecuencia Anual de los Genotipos del AdVh Registrados.

La gráfica 10 complementa este hallazgo al mostrar la evolución de la carga viral en su conjunto. Se evidencia que, a pesar de los picos de intensidad ya mencionados, la circulación molecular de los genotipos de AdVh fue continua y persistente a lo largo de los 9 años analizados.



Gráfica 10: Evolución de la Carga Viral de Genotipos del AdVh en Panamá durante los años 2011 – 2019.

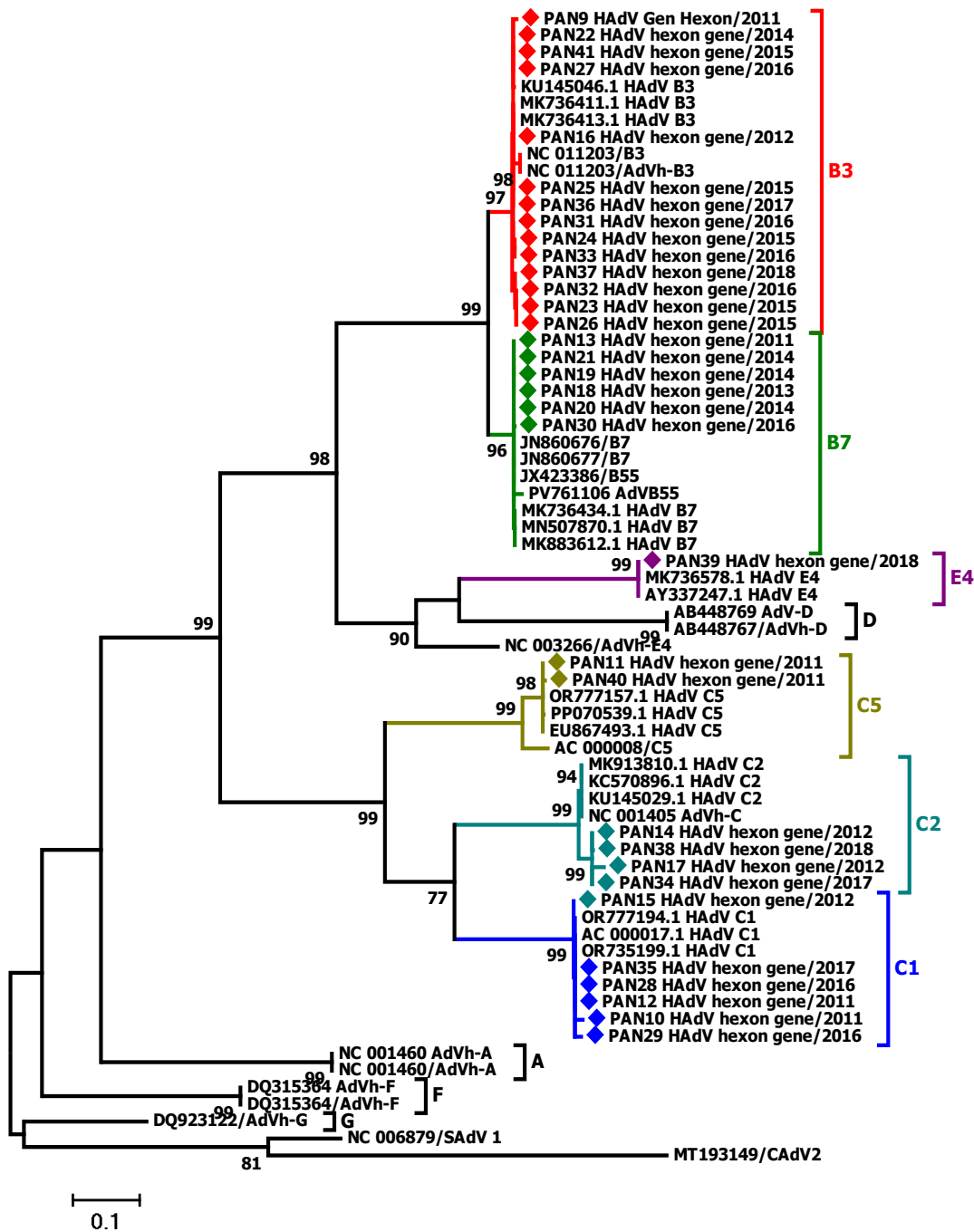


Figura 17: Árbol Filogenético que incluye las 33 secuencias obtenidas en este estudio a partir de la amplificación del gen hexón (◆). Las secuencias se agruparon dentro de los clados correspondientes a los genotipos B3, B7, C1, C2, C5 y E4, con valores de Bootstrap $\geq$ a 90%.

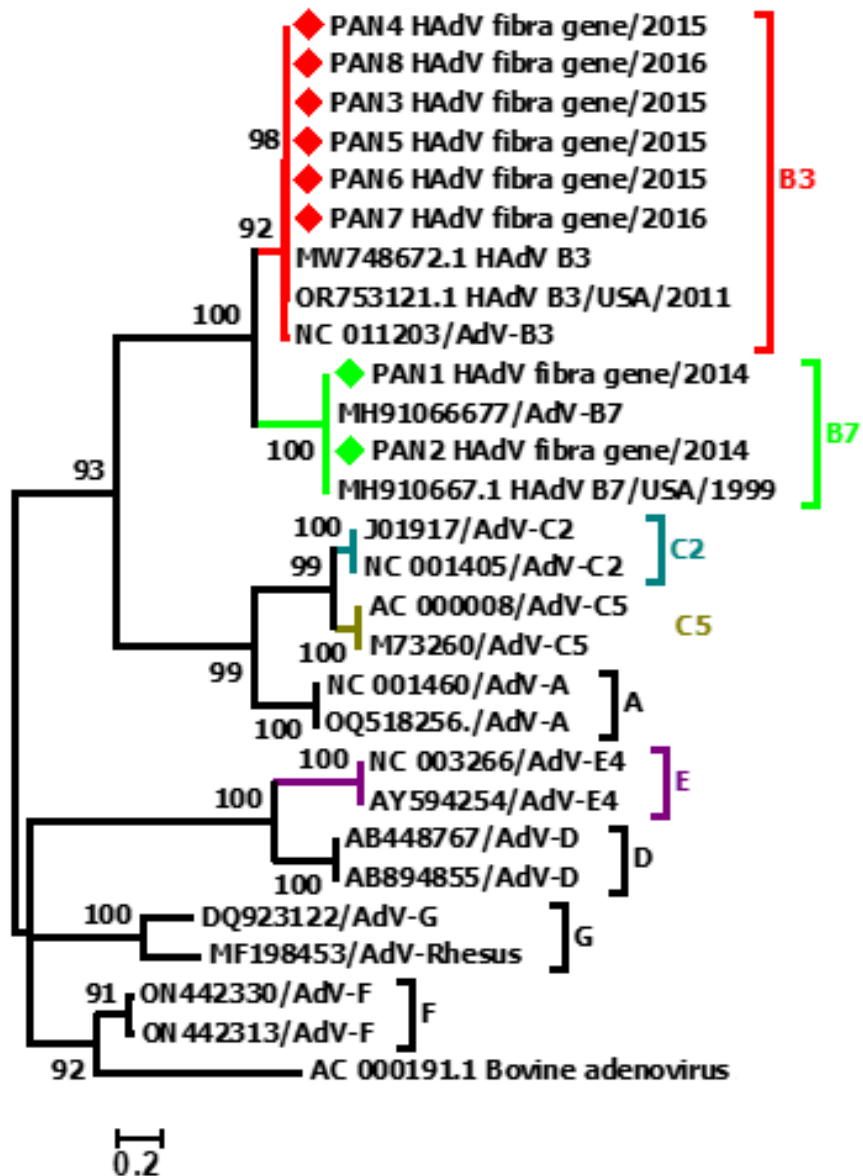


Figura 18: Árbol Filogenético que incluye las 8 secuencias obtenidas en este estudio a partir de la amplificación del gen de la fibra (♦)as secuencias de referencia obtenidas del GenBank, donde se demuestra que todas se agruparon exclusivamente con los clados de la especie AdVh-B (genotipos B3 y B7) con valores de Bootstrap $\geq$ a 90%.

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

La investigación realizada sobre la caracterización molecular, clínica y epidemiológica del Adenovirus Humano (AdVh) en Panamá durante el periodo 2011-2019 proporciona datos valiosos que contextualizan con precisión la carga de esta infección en la población pediátrica. Los hallazgos revelan una prevalencia molecular del 2.3% en la población analizada, una cifra que muestra una notable consistencia con los reportes previos de vigilancia en Latinoamérica. Por ejemplo, en el amplio estudio de vigilancia en Perú (2000–2010), la tasa de aislamiento de AdVh osciló entre 0.4% y 4.4% (Ampuero et al., 2012). De igual manera, en Colombia (1997–2003), se identificó al AdVh en el 2.6% de los pacientes (Herrera-Rodríguez et al., 2007), lo que sitúa a los resultados dentro del rango epidemiológico esperado para la región, a diferencia de los reportes en Chile (1988–1996) donde la tasa de aislamiento alcanzó un 12.6% (Larrañaga et al., 2000).

Esta convergencia en los datos de prevalencia se debe a diversos factores metodológicos y biológicos. Un factor determinante es el uso de la PCR, la cual posee una sensibilidad superior frente a métodos tradicionales como la Inmunofluorescencia (IF), cuya capacidad de detección es reportada entre un 30% y 50% (Avendaño, 2019; Savón et al., 2003). Al respecto, Hernández-González et al. (2021) sostienen que el empleo de técnicas moleculares en entornos hospitalarios permite reportar tasas de detección significativamente superiores a la vigilancia tradicional por inmunofluorescencia, especialmente cuando se analiza población pediátrica internada con sintomatología respiratoria aguda grave. En este contexto, el uso de PCR, técnica de mayor sensibilidad que la inmunofluorescencia, probablemente permitió una detección más precisa de casos positivos en la población estudiada.

Asimismo, la variación observada respecto a otros estudios responde a las condiciones específicas de cada investigación y, fundamentalmente, a la naturaleza del grupo estudiado, ya que la prevalencia tiende a variar significativamente.

Esta consistencia en los índices de prevalencia refleja la variabilidad geográfica y la relevancia de entender la dinámica de circulación del AdVh en el país. Basados en los datos registrados, los hallazgos resaltan la importancia de una detección viral eficaz para establecer estrategias de vigilancia epidemiológica sostenidas y continuas. Esto permite dimensionar el impacto real del virus en la región, el cual, a pesar de presentar una prevalencia porcentual moderada, mantiene una presencia constante y una carga significativa en los servicios de salud hospitalarios.

Una importante observación es la alta proporción de pacientes hospitalizados entre las muestras positivas, que representan el 81% (200 casos) del total (Gráfica 1). Este hallazgo indica que el AdVh está asociado con enfermedades respiratorias graves que requieren hospitalización, lo cual representa una carga significativa para el sistema de salud en la población pediátrica. Este patrón revela la necesidad de una vigilancia activa para proporcionar atención médica adecuada a la población vulnerable, un punto crucial considerando que, diversos estudios han reportado que determinados genotipos de AdVh pueden asociarse con IRA graves y riesgo de complicaciones, especialmente en poblaciones pediátricas hospitalizadas (Avendaño, 2019; Carballal et al., 2002).

Además, es necesario señalar que el gran número de casos positivos en pacientes hospitalizados refleja una muestra condicionada por el sistema de vigilancia. Dado que los paneles de detección molecular completos se aplican prioritariamente a los niños internados debido a la severidad de sus síntomas, esta población aparece como mayoritaria en el conjunto total de la muestra.

El análisis de la distribución por género de los casos positivos reveló un ligero, pero observable, predominio en pacientes masculinos (43%) en comparación con los femeninos (33%) (Tabla 9). Si bien esta diferencia no constituye un hallazgo estadísticamente abrumador, la mayor frecuencia de casos en varones es un patrón recurrente en la epidemiología de las IRA por AdVh. Este resultado guarda similitud con reportes regionales, como el estudio de vigilancia en Colombia, que documentó un 71.4% de los casos en el sexo masculino (Herrera-Rodríguez et al., 2007). Sin embargo, el margen de diferencia estrecho en Panamá sugiere que la afectación en la población local es cercana a la igualdad proporcional entre géneros, un patrón

que es consistente con otros estudios que encuentran una distribución equitativa del virus (Girardi et al., 2019). Este hallazgo implica que, aunque algunos estudios han sugerido diferencias inmunológicas relacionadas con el sexo, en este estudio la distribución fue relativamente equilibrada.

El análisis cronológico de los casos de Advh (Gráfica 2) confirmó que el virus fue detectado todos los meses del año a lo largo del periodo de estudio, un patrón que no sugiere la existencia de un pico estacional con una circulación significativamente mayor en una época específica. Diversos estudios respaldan estos hallazgos de falta de estacionalidad, siendo este un comportamiento común para el Advh en regiones tropicales (Herrera-Rodríguez et al., 2007). Sin embargo, esta realidad contrasta con la dinámica observada en otras latitudes, donde se reporta una mayor detección durante las épocas de invierno o primavera (Girardi et al., 2019). Esta variabilidad subraya que la circulación del Advh está fuertemente influenciada por factores geográficos y climáticos locales, lo que justifica la necesidad de una vigilancia activa y continua durante todo el año en el contexto panameño.

En cuanto a la distribución geográfica, la concentración de casos positivos en Panamá Metro (32%), San Miguelito (13%) y Panamá Oeste (12%) señala que la mayor actividad viral está focalizada en las áreas urbanas del país. La concentración se puede atribuir principalmente a factores como la alta densidad poblacional y la interacción social más intensa de las regiones metropolitanas, lo que facilita la transmisión rápida del virus entre individuos (Comité Técnico Interinstitucional et al., 2007). También es importante considerar que la mayoría de las muestras positivas provienen de la ciudad capital debido a la accesibilidad a las instalaciones hospitalarias de referencia que manejan los casos más severos, lo cual sesga la vigilancia hacia estas áreas de detección (Esquivel, 2024). Sin embargo, los casos confirmados en áreas remotas (como las comarcas) sirven de evidencia para demostrar que la infección por Advh no se limita a los entornos poblados, sino que también afecta a las áreas geográficamente más dispersas del país (Figura 13).

En cuanto a la presentación clínica, el análisis reveló una marcada vulnerabilidad por edad, con la mayoría de los casos positivos concentrados en niños menores de 2 años (84.3%). Este hallazgo es consistente con la dinámica de la vigilancia respiratoria en Panamá, donde la población de lactantes y niños pequeños representa el grupo del cual se recibe el mayor volumen de muestras, debido a que presentan cuadros clínicos más severos que ameritan atención hospitalaria. Esta representatividad en el muestreo es altamente consistente con estudios previos que han identificado a esta población como la más susceptible a las complicaciones del Advh (Ampuero et al., 2012; Herrera-Rodríguez et al., 2007; Girardi et al., 2019). El pico de morbilidad en lactantes de 6 a 11 meses (33.1%) y de 1 año (29.4%) es particularmente significativo, confirmando que, dentro de la población pediátrica analizada, la primera infancia constituye el grupo crítico donde el monitoreo y la intervención clínica deben ser priorizados para mitigar el riesgo de enfermedad severa (Gráfica 3).

El análisis de los casos reveló una alta tasa de coinfección, alcanzando el 44% (109 casos) en pacientes positivos para Advh (Gráfica 4). Esta cifra es notablemente superior al 24.5% reportado en estudios de pacientes hospitalizados en España (Viaño Nogueira et al., 2019) o al 21.9% de infecciones mixtas en Camerún (Kenmoe et al., 2018), lo que sugiere una alta complejidad viral en la población pediátrica panameña. Hallazgos recientes en Europa, como los documentados por Reina & Suárez (2020), destacan que estas variaciones en las tasas de co-detección son frecuentes y dependen en gran medida de la sensibilidad de las plataformas moleculares utilizadas y la epidemiología local.

Es importante señalar que la detección de múltiples virus no siempre implica que todos actúen como agentes etiológicos de la enfermedad grave (Avendaño, 2019). Esta cautela es necesaria porque la alta sensibilidad de la PCR podría detectar material genético persistente o virus inactivos; no obstante, la complejidad molecular hallada justifica el estudio de la virulencia de tipos específicos como Advh-B3 y Advh-B7 (Ma et al., 2024). En este estudio, el Rinovirus humano (RVh, 33%) y el Virus Sincitial Respiratorio humano (VSRh, 24%) fueron los agentes más asociados. La co-detección con RVh es la más reportada en la literatura actual, un patrón

reafirmado por estudios de la cohorte ORCHESTRA (Bochkov et al., 2023), que atribuyen esta frecuencia a la capacidad de persistencia prolongada de ambos virus en el tracto respiratorio superior.

La relevancia clínica de estos hallazgos es alta debido a la identificación de coinfecciones múltiples con tres o más agentes, siendo las combinaciones más frecuentes AdVh/VSRh/RVh (4%) y AdVh/PIV-3/RVh (2%) (Tabla 10). La asociación específica entre AdVh y VSRh se ha vinculado consistentemente con una mayor severidad clínica y complicaciones respiratorias, una observación alineada con reportes en el Cono Sur y Europa que señalan a esta dupla como un factor crítico en el pronóstico del paciente (Bochkov et al., 2023; Nguyen et al., 2023). Esta conclusión es fundamental, ya que la literatura asocia la coinfección no solo a un riesgo incrementado de enfermedad respiratoria baja, sino también a una estancia hospitalaria más prolongada (Viaño Nogueira et al., 2019).

Es crucial destacar la sintomatología reportada en los expedientes médicos. La tos (88.8%) y la fiebre (84%) resaltaron como las manifestaciones más frecuentes, como un producto de la respuesta inmunitaria del organismo frente a la infección. Nuestros hallazgos son consistentes con la literatura que analiza la alta incidencia de estos síntomas en pacientes con AdVh-B7 y AdVh-B3 (Ma et al., 2024). La presencia de rinorrea (71.8%) también fue significativa, un síntoma que respalda la evidencia de que el AdVh afecta primariamente el tracto respiratorio superior (Katz, 2024).

Además de estos síntomas comunes, se registraron manifestaciones menos frecuentes, pero igualmente importantes, ya que ofrecen información sobre la variabilidad clínica de la infección. En este estudio, 10 casos reportaron disnea, 7 casos presentaron diarrea, 5 casos tuvieron vómitos, y 2 casos mostraron astenia, representando un 2.7% del total de casos (Gráfica 5). Por otro lado, la dificultad respiratoria (56.4%) en el estudio, particularmente, es un indicador de compromiso pulmonar severo, hallazgo que se alinea con estudios que asocian el AdVh - B7 con una mayor dificultad respiratoria y derrame pleural (L. Wang et al., 2023).

Con respecto a los diagnósticos reportados, los síndromes clínicos predominantes fueron la Neumonía (40%) y la Bronquiolitis Aguda/Severa (14%). Estos hallazgos concuerdan con diversos estudios donde el AdVh se identifica como un agente causal frecuente de infecciones del tracto respiratorio inferior (Herrera-Rodríguez et al., 2007). Esta severidad es respaldada por evidencia global reciente, como la de Dhingra et al. (2021), quienes confirman que el AdVh es responsable de hasta el 10% de las neumonías infantiles que requieren ventilación mecánica, lo que valida la alta proporción de cuadros neumónicos hallados en nuestra población. De igual manera, a nivel regional, Argüelles Martín et al. (2010) en Costa Rica han documentado el impacto crítico de este virus en las Unidades de Cuidados Intensivos Pediátricos (UCIP), lo que refuerza la relevancia de nuestros resultados y destaca la importancia de considerar al AdVh como un patógeno determinante en la carga de enfermedad respiratoria grave en la región.

En la caracterización molecular se logró la amplificación óptima de 41 secuencias de AdVh, el cual es el principal aporte de este estudio. El detalle metodológico es crucial, 33 secuencias fueron obtenidas a partir de la región que codifica el gen hexón, mientras que las 8 restantes fueron obtenidas a partir del gen de la fibra. La diferencia en la eficiencia de amplificación es un factor por considerar en el diseño de protocolos futuros. No obstante, el uso de múltiples marcadores (hexón y fibra) es consistente con las directrices internacionales, las cuales enfatizan la necesidad de evaluar los genes de la base del pentón, hexón y fibra para detectar eventos de recombinación o variabilidad genética del virus (Saint-Pierre Contreras et al., 2023; Kajon et al., 2023; Wu et al., 2022). El tipado molecular es fundamental, ya que la detección de AdVh sin tipificación ofrece información clínica limitada (Kajon et al., 2023).

La tipificación reveló el predominio del genotipo AdVh-B3 (43% a partir del gen hexón, 75% a partir del gen de la fibra), seguido por AdVh-B7 (18% a partir del gen hexón, 25% a partir del gen de la fibra) (Gráficas 6 y 7, respectivamente). El predominio de la especie B (B3 y B7) es de alto riesgo clínico, ya que son genotipos asociados con brotes severos de neumonía y alta letalidad (Avendaño, 2019).

Relacionado a esto, los resultados de la frecuencia de genotipos por edad muestran

una alta vulnerabilidad en niños menores de 2 años, con la mayoría de las secuencias positivas concentradas entre los 6 meses y 1 año (Gráfica 8). Este patrón está dominado por los genotipos de la especie B (AdVh-B3 y AdVh-B7). Es interesante este hallazgo, ya que, al realizar la comparación entre los números obtenidos de la tipificación con los de la frecuencia por edad, se obtiene un resultado clínicamente significativo, estableciendo una posible tendencia a una fuerte asociación entre esta población de alto riesgo y la circulación de genotipos de la especie B, conocidos por su vínculo con enfermedades respiratorias severas.

El AdVh-B7 fue asociado con alta letalidad en niños hospitalizados en Argentina (Carballal et al., 2002) y mostró mayor severidad en Chile (Larrañaga et al., 2000), donde el AdVh – B7 fue predominante (55.6%) y se asoció con una mayor necesidad de oxígeno y estancias hospitalarias más largas que los genotipos de la especie C. Además, estudios en China confirman el predominio de AdVh-B3 y B7 en pacientes hospitalizados con IRA (X. Wang et al., 2021; Zhao et al., 2020).

El análisis temporal de los genotipos obtenidos revela que la circulación viral fue continua y persistente a lo largo de los 9 años estudiados. La mayor actividad molecular se concentró en los años 2015 y 2016 (Gráfica 9). Es importante destacar que esta intensidad estuvo impulsada por los genotipos de alto riesgo clínico AdVh-B3 y AdVh-B7, los cuales dominaron consistentemente los picos de actividad. Esta concentración de genotipos de alto riesgo en picos específicos demuestra la necesidad de una vigilancia molecular que opere en tiempo real, permitiendo a las autoridades de salud anticipar el riesgo de IRA grave asociado a la especie B (World Health Organization, 2014). La especie C (C1, C2, C5) y E (E4) circularon de forma más esporádica e intermitente.

En cuestión, los genotipos AdVh-B3 y AdVh-B7 conocidos por su alta letalidad y severidad (Carballal et al., 2002) se convierten en el foco de atención. La tipificación de genotipos es requerida para la investigación epidemiológica (Kajon et al., 2023), y la necesidad de monitorear estas concentraciones específicas es vital para la salud pública.

Finalmente, el análisis filogenético de las 41 secuencias (Figuras 16 y 17) demostró que los genotipos obtenidos se agruparon de forma diversa con todas las cepas de

referencia global, con una similitud entre 94% y 99%. Esta amplia dispersión y la agrupación con múltiples linajes globales sugieren un alcance intenso y co-circulación amplia de diversos linajes de AdVh en Panamá. Este fenómeno refuerza la idea del país como un puente que recibe constantemente nuevos linajes, lo que subraya la importancia crítica de mantener un programa de vigilancia molecular sostenida y continua (Esquivel, 2024).

CONCLUSIONES

Entre 2011 y 2019, el adenovirus humano representó una proporción de detección del 2.3% en las muestras respiratorias analizadas dentro del programa de vigilancia nacional.

El virus fue detectado de forma continua durante los nueve años estudiados, lo que indica una circulación endémica sostenida en la población pediátrica.

La mayor proporción de casos se registró en niños menores de 2 años, especialmente en el grupo de 6 a 11 meses, lo que confirma la mayor vulnerabilidad de estos niños.

De las muestras amplificadas y secuenciadas (16.5%), la especie AdVh-B fue predominante, siendo el genotipo AdVh-B3 el más frecuente, seguido de AdVh-B7 y genotipos de la especie C.

Se evidenció una proporción significativa de coinfección (44%), destacando la asociación con rinovirus humano y virus sincitial respiratorio.

Los hallazgos refuerzan la importancia de mantener vigilancia molecular continua para caracterizar los genotipos circulantes y monitorear posibles cambios epidemiológicos.

RECOMENDACIONES

Se recomienda ampliar la caracterización molecular del AdVh incluyendo el último gen (base del pentón), completando así el análisis de los tres genes principales de la cápside del virus (hexón, fibra y base del pentón). Es fundamental superar las limitaciones de la tipificación basada en uno o dos genes, dada la evidencia de la existencia de genotipos de alto riesgo (como AdVh-B3 y B7) que circulan en la región. Adicional, además de los tipos que causan problemas respiratorios, los estudios deben ampliar el espectro para incluir las variantes gastrointestinales (AdVh-40 y AdVh-41) mediante la recolección de muestras de heces. De esta forma, la caracterización exhaustiva del genoma viral y la ampliación del espectro permitirán la identificación precisa de nuevos genotipos y la exploración de la infección junto a otros agentes, lo cual proporcionará una visión completa del AdVh en el país.

Es esencial investigar la detección del material genético del AdVh en individuos inmunocomprometidos y en pacientes con enfermedades crónicas, dada la alta morbilidad asociada a la Especie B. Se necesitan más estudios para comprender los mecanismos de interacción de los genotipos virulentos con el sistema inmunitario para explicar por qué la infección por AdVh conduce a una alta tasa de hospitalización (81%) en lactantes, con el objetivo de desarrollar estrategias eficaces para prevenir y manejar las infecciones en estas poblaciones vulnerables.

Es necesario realizar estudios en una población más amplia y con una representación geográfica más completa para obtener una comprensión más exacta de la epidemiología del virus. Esto implica incluir una muestra que sea representativa a nivel nacional, abarcando todas las provincias, lo cual permitirá entender mejor la dinámica de los genotipos de alto riesgo (B3 y B7) a nivel de país y su verdadero impacto en la salud pública.

La falta de priorización en la detección de AdVh como patógeno viral respiratorio, o permitir que el virus pase desapercibido, lleva a diagnósticos inconclusos que prolongan innecesariamente la estancia hospitalaria y provocan el uso indiscriminado de antibióticos, siendo este un problema de resistencia antimicrobiana de alta relevancia mundial. Además, se sugiere realizar estudios que evalúen la gravedad de la enfermedad, considerando el impacto de las coinfecciones documentadas, lo cual permitirá determinar la importancia relativa de las interacciones virales en la presentación clínica de los cuadros severos.

Finalmente, se deben enfocar los esfuerzos en potenciar la investigación destinada a comprender mejor la epidemiología y la patogénesis de los genotipos predominantes de AdVh, así como en el desarrollo de vacunas y medicamentos antivirales específicos que puedan ayudar a prevenir el contagio y mejorar el manejo de la enfermedad. Estas medidas son fundamentales para proteger la salud de la población.

Bibliografía

Acerca del adenovirus | Adenovirus | CDC. (n.d.). Retrieved February 18, 2026, from <https://www.cdc.gov/adenovirus/es/about/acerca-del-adenovirus.html#print>

Adenovirus - Lecturio. (2025). <https://app.lecturio.com/#/article/3303>

Ampuero, J. S., Ocaña, V., Gómez, J., Gamero, M. E., Garcia, J., Halsey, E. S., & Laguna-Torres, V. A. (2012). Adenovirus respiratory tract infections in Peru. *PloS one*, 7(10), e46898. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046898>

Argüelles Martín, F., García Novo, M. D., Pavón Belinchón, P., Román Riechmann, E., Silva García, G., & Sojo Aguirre, A. (Eds.). (2010). Tratado de gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica aplicada de la SEGHNP. Ergon <https://www.seghnp.org/sites/default/files/2017-06/Trat%20SEGHNP.pdf>

Avendaño, L. (2019). *INFECCION_RESPIRATORIA_POR_ADENOVIRUS_EN_PEDIATRIA*. https://www.researchgate.net/publication/348783291_INFECCION_RESPIRATORIA_POR_ADENOVIRUS_EN_PEDIATRIA_DE_AYER_A_HOY

Bochkov, Y. A., Devries, M., Tetreault, K., Gangnon, R., Lee, S., Bacharier, L. B., Busse, W. W., Camargo, C. A., Choi, T., Cohen, R., De, R., DeMuri, G. P., Fitzpatrick, A. M., Gergen, P. J., Grindle, K., Gruchalla, R., Hartert, T., Hasegawa, K., Khurana Hershey, G. K., Holt, P., ... program collaborators for Environmental influences on Child Health Outcomes (2023). Rhinoviruses A and C elicit long-lasting antibody responses with limited cross-neutralization. *Journal of medical virology*, 95(8), e29058. <https://doi.org/10.1002/jmv.29058>

Carballal, G., Videla, C., Misirlian, A., Requeijo, P. V., & Aguilar, M.delC. (2002). Adenovirus type 7 associated with severe and fatal acute lower respiratory infections in Argentine children. *BMC pediatrics*, 2, 6. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-2-6>

Comité Técnico Interinstitucional, OPS, OMS, MINSA, CSS, TE, & MIDES. (2007). *silo.tips_diagnostico-del-sistema-de-informacion-de-salud-de-panama*. *Silo.Tips*. <https://silo.tips/download/diagnostico-del-sistema-de-informacion-de-salud-de->

panama

Cunliffe, T. G., Bates, E. A., & Parker, A. L. (2020). Hitting the Target but Missing the Point: Recent Progress towards Adenovirus-Based Precision Virotherapies. *Cancers*, 12(11), 3327. <https://doi.org/10.3390/cancers12113327>

Dhingra, A., Hage, E., Ganzenmueller, T., Böttcher, S., Hofmann, J., Hamprecht, K., Obermeier, P., Rath, B., Hausmann, F., Dobner, T., & Heim, A. (2019). Molecular Evolution of Human Adenovirus (HAdV) Species C. *Scientific reports*, 9(1), 1039. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37249-4>

Esquivel, R. (2024). *Informe-anual-de-vigilancia-2023-final*. <https://hn.sld.pa/wp-content/uploads/2024/02/Informe-anual-de-vigilancia-2023-final.pdf>

Forqué, L., Fox, V., Scutari, R., Mastropaolo, M., Merli, P., Di Maio, V. C., Fini, V., Linardos, G., Coltella, L., Ranno, S., Russo, C., Villani, A., Perno, C. F., & Colagrossi, L. (2025). Whole-Genome Sequencing of Adenovirus Genotypes and Clinical Implications in Pediatric Patients. *Viruses*, 17(11), 1480. <https://doi.org/10.3390/v17111480>

Girardi, V., Gregianini, T. S., Gularte, J. S., Demoliner, M., Seadi, C. F., Straliootto, S. M., Martins, L. G., & Spilki, F. R. (2019). Correction to: Temporal dynamics of Human mastadenovirus species in cases of respiratory illness in southern Brazil. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 50(4), 1145. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00115-0>

Gray, G. C., Goswami, P. R., Malasig, M. D., Hawksworth, A. W., Trump, D. H., Ryan, M. A., & Schnurr, D. P. (2000). Adult adenovirus infections: loss of orphaned vaccines precipitates military respiratory disease epidemics. For the Adenovirus Surveillance Group. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 31(3), 663–670. <https://doi.org/10.1086/313999>

Griffin, G., Hewison, M., Hopkin, J., Kenny, R., Quinton, R., Rhodes, J., Subramanian, S., & Thickett, D. (2020). Vitamin D and COVID-19: evidence and recommendations for supplementation. *Royal Society Open Science*, 7(12), 201912. <https://doi.org/10.1098/rsos.201912>

Hernández-González, D. G., Rodríguez-Muñoz, L., & Solórzano-Santos, F. (2021). Impact of the use of multiplex PCR on etiological diagnosis and treatment of acute respiratory infections in a private hospital of the north of the country. Impacto del uso de PCR múltiple en diagnóstico etiológico y tratamiento de infecciones respiratorias agudas en un hospital privado del norte del país. *Gaceta medica de Mexico*, 157(2), 154–159. <https://doi.org/10.24875/GMM.M21000544>

Herrera-Rodríguez, D. H., de la Hoz, F., Mariño, C., Ramirez, E., López, J. D., & Vélez, C. (2007). Adenovirus en Niños Menores de Cinco Años. Patrones de Circulación, Características Clínicas y Epidemiológicas en Colombia, 1997-2003 [Adenovirus in children under five years of age. Circulation patterns and clinical and epidemiological characteristics in Colombia, 1997-2003]. *Revista de salud publica (Bogota, Colombia)*, 9(3), 420–429. <https://doi.org/10.1590/s0124-00642007000300010>

Huang, Y., Wang, C., Ma, F., Guo, Q., Yao, L., Chen, A., Luo, X., & Zheng, L. (2021). Human adenoviruses in paediatric patients with respiratory tract infections in Beijing, China. *Virology journal*, 18(1), 191. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01661-6>

Immunology / Microbiology Glossary: Adenoviruses | ditki medical & biological sciences. (n.d.). Retrieved February 28, 2026, from <https://ditki.com/course/immunology/glossary/immunology-microbiology/adenoviruses>

Kajon A. E. (2024). Adenovirus infections: new insights for the clinical laboratory. *Journal of clinical microbiology*, 62(9), e0083622. <https://doi.org/10.1128/jcm.00836-22>

Kajon, A. E., Lamson, D. M., & George, K. S. (2023). Characterization of Human Adenoviruses of Medical Importance: Isolation of Infectious Virus from Clinical Specimens and Molecular Typing. *Current protocols*, 3(11), e916. <https://doi.org/10.1002/cpz1.916>

Katz, S. (2024). *Infecciones por adenovirus - Enfermedades infecciosas - Manual Merck versión para profesionales*. <https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/enfermedades-infecciosas/virus-respiratorios/infecciones-por-adenovirus>

Kenmoe, S., Vernet, M. A., Le Goff, J., Penlap, V. B., Vabret, A., & Njouom, R. (2018). Molecular characterization of human adenovirus associated with acute respiratory infections in Cameroon from 2011 to 2014. *Virology journal*, 15(1), 153. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-1064-x>

Khanifar, A. (2023). *Adenovirus: Structural Components to Clinical Virology: Current Research Commentary*. <https://doi.org/10.37421/2736-657X.2023.S4.005>

Larrañaga, C., Kajon, A., Villagra, E., & Avendaño, L. F. (2000). Adenovirus surveillance on children hospitalized for acute lower respiratory infections in Chile (1988-1996). *Journal of medical virology*, 60(3), 342–346. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(200003\)60:3<342::AID-JMV14>3.0.CO;2-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(200003)60:3<342::AID-JMV14>3.0.CO;2-0)

Lion T. (2014). Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clinical microbiology reviews*, 27(3), 441–462. <https://doi.org/10.1128/CMR.00116-13>

Ma, X., Wu, Y., De, R., Yao, H., He, F., Wang, Y., Wang, W., Yan, C., Song, Q., Guo, C., Wen, L., Zhao, L., Cao, L., & Zhu, C. (2025). Impact of co-infections and immune responses on clinical severity of human adenovirus 3 and 7 infections in hospitalized children with lower respiratory tract infections: a comparative study. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 14, 1482787. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1482787>

Marcone, D. N., Culasso, A. C. A., Reyes, N., Kajon, A., Viale, D., Campos, R. H., Carballal, G., & Echavarría, M. (2021). Genotypes and phylogenetic analysis of adenovirus in children with respiratory infection in Buenos Aires, Argentina (2000-2018). *PloS one*, 16(3), e0248191. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248191>

MINSA. (2022, October 13). *Repunte de afecciones respiratorias es propio de la temporada lluviosa*. Ministerio de Salud . <https://www.minsa.gob.pa/noticia/repunte-de-afecciones-respiratorias-es-propio-de-la-temporada-lluviosa>

Nguyen, D. D., Phung, L. T., Thanh Tran, H. T., Ly, H. T. T., Vo, A. H. M., Dinh, N. P., Doan, P. M., Nguyen, A. T., Dang, L. D., Doan, T. T., Pham, K. T., Pham, H. L., Hoang, D. X., Pham, T. N., Tran, B. T., Tran, T. T. T., Le, H. T. M., Pham, A. N., Antoniou, A., & Ho, N. T. (2023). Molecular subtypes of Adenovirus-associated acute respiratory infection outbreak in children in Northern Vietnam and risk factors of more severe cases. *PLoS neglected tropical diseases*, 17(11), e0011311. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011311>

Qin, J., Yan, T., Yin, L., Yang, C., Wang, L., Qiu, H., Hu, Y., & Xu, B. (2023). Detection of human adenoviruses in influenza-negative patients with respiratory tract infections in Nanning, China. *Virology journal*, 20(1), 171. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02093-0>

Reina, J., & Suárez, A. (2024). Current situation of intranasal attenuated vaccines against respiratory syncytial virus in the child population. *Vacunas (English Edition)*, 25(1), 140–146. <https://doi.org/10.1016/j.vacune.2024.02.016>

ROWE, W. P., HUEBNER, R. J., GILMORE, L. K., PARROTT, R. H., & WARD, T. G. (1953). Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. *Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 84(3), 570–573. <https://doi.org/10.3181/00379727-84-20714>

Russell W. C. (2009). Adenoviruses: update on structure and function. *The Journal of general virology*, 90(Pt 1), 1–20. <https://doi.org/10.1099/vir.0.003087-0>

Saha, R., Majumdar, A., Chaudhuri, R. D., Chatterjee, A., Lo, M., Dutta, S., & Chawla-Sarkar, M. (2023). Molecular epidemiology of circulating human adenoviruses among acute respiratory infection patients seeking healthcare facilities in West Bengal, India. *Virology*, 588, 109912. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2023.109912>

Saint-Pierre Contreras, G., Conei Valencia, D., Lizama, L., Vargas Zuñiga, D., Avendaño Carvajal, L. F., & Ampuero Llanos, S. (2023). An Old Acquaintance: Could Adenoviruses Be Our Next Pandemic Threat?. *Viruses*, 15(2), 330. <https://doi.org/10.3390/v15020330>

Savón, C., Goyenechea, A., Acosta, B., Oropesa, S., Valdés, O., González, G., Pérez, L., Palerm, L., & Piñón, A. (2003). Manual de procedimientos para el diagnóstico de laboratorio de las infecciones respiratorias agudas de etiología viral. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK) / Organización Panamericana de la Salud (OPS). https://www.paho.org/sites/default/files/2021-03/labs_IPK-completo.pdf

Souza, E. V., de Souza, Y. F. V. P., Medeiros, R. S., de Azevedo, L. S., de Queiroz, T. G. A., Sanz-Duro, R. L., Marinho, R. D. S. S., Komninakis, S. V., Timenetsky, M. D. C. S. T., & Luchs, A. (2021). Diversity of enteric and non-enteric human adenovirus strains in Brazil, 2006-2011. *Archives of virology*, 166(3), 897–903. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04946-3>

Stasiak, A. C., & Stehle, T. (2020). Human adenovirus binding to host cell receptors: a structural view. *Medical microbiology and immunology*, 209(3), 325–333. <https://doi.org/10.1007/s00430-019-00645-2>

Stopczynski, T., Probst, V., Gailani, A., Amarin, J. Z., Hamdan, O., Hayek, H., Stewart, L. S., Rahman, H. K., Selvarangan, R., Schuster, J. E., Harrison, C. J., Moffatt, M. E., Michaels, M. G., Williams, J. V., Boom, J. A., Sahni, L. C., Avadhanula, V., Staat, M. A., Schlaudecker, E. P., Quigley, C., ... Halasa, N. B. (2025). Adenovirus Types in US Children Hospitalized or Seen in the Emergency Department With Acute Respiratory Illness, 2016-2019. *Open forum infectious diseases*, 12(12), ofaf692. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaf692>

Ukuli, Q. A., Erima, B., Mubiru, A., Atim, G., Tugume, T., Kibuuka, H., Mworzi, E., Ducatez, M. F., Wabwire-Mangen, F., & Byarugaba, D. K. (2023). Molecular characterisation of human adenoviruses associated with respiratory infections in Uganda. *BMC infectious diseases*, 23(1), 435. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08403-9>

Viaño Nogueira, P., Moral Larraz, A., Tomé Masa, I., Sánchez Bayle, M., Villalobos Pinto, E., Bascuas Arribas, M., Ecclesia, F., Viaño Nogueira, P., Moral Larraz, A., Tomé Masa, I., Sánchez Bayle, M., Villalobos Pinto, E., Bascuas Arribas, M., & Ecclesia, F. (2019). Infección por adenovirus que requiere ingreso hospitalario: epidemiología, datos analíticos y manejo. *Pediatría Atención Primaria*, 21(82), 149–157. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322019000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Wang, L., Hu, X., Huang, Z., Zhang, Y., Zhao, X., Liu, X., Mao, H., Hao, H., & Xue, W. (2023). Analysis of the typing of adenovirus and its clinical characteristics in children with acute respiratory tract infection. *BMC pediatrics*, 23(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s12887-023-03840-6>

Wang, X., Wang, D., Umar, S., Qin, S., Ling, Q., Gray, G. C., & Liu, Y. (2021). Molecular typing of human adenoviruses among hospitalized patients with respiratory tract infections in a tertiary Hospital in Guangzhou, China between 2017 and 2019. *BMC infectious diseases*, 21(1), 748. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06412-0>

World Health Organization. (2014). *Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory infections in health care: WHO guidelines*. Pandemic and Epidemic Diseases, World Health Organization. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112656/9789241507134_eng.pdf

Wu, X., Zhang, J., Lan, W., Quan, L., Ou, J., Zhao, W., Wu, J., Woo, P. C. Y., Seto, D., & Zhang, Q. (2022). Molecular Typing and Rapid Identification of Human Adenoviruses Associated With Respiratory Diseases Using Universal PCR and Sequencing Primers for the Three Major Capsid Genes: Penton Base, Hexon, and Fiber. *Frontiers in microbiology*, 13, 911694. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.911694>

Zambrana, W., & Boehm, A. B. (2023). Occurrence of Human Viruses on Fomites in the Environment: A Systematic Review and Meta-analysis. *ACS environmental Au*, 3(5), 277–294. <https://doi.org/10.1021/acsenvironau.3c00025>

Zhao, M. C., Guo, Y. H., Qiu, F. Z., Wang, L., Yang, S., Feng, Z. S., & Li, G. X. (2020). Molecular and clinical characterization of human adenovirus associated with acute respiratory tract infection in hospitalized children. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 123, 104254. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2019.104254>

Anexos

Anexo 1.

Reactivos Utilizados



Figura 19. MagMAX Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit (Thermo Fisher, Scientific, USA) Tomado de: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A48383>,



Figura 20. Taq PCR Master Mix (QIAGEN)
Tomado de: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/pcr-qpcr-dpcr/pcr-enzymes-and-kits/end-point-pcr/taq-pcr-master-mix-kit>



Figura 21. Kit ExoSAP-IT™ de Applied Biosystems

Tomado de: <https://www.fishersci.com/shop/products/exosap-it-pcr-product-clean-up-reagent-4/782011ML>



Figura 22. Kit de secuenciación de ciclos BigDye™ Terminator v3.1

Tomado de: <https://equipamientocientifico.com/en/shop/product/kit-de-secuenciacion-de-ciclo-bigdye-terminator-v3-1-applied-biosystems-4337455-4981#attr=>



Figura 23. Applied Biosystems™ Kit de purificación BigDye XTerminator™

Tomado de: <https://www.fishersci.es/shop/products/bigdye-xterminator-purification-kit-4/15899816>

Anexo 2.

Equipos utilizados



Figura 24. Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex Purification System

Tomado de: <https://www.fishersci.es/shop/products/kingfisher-flex-magnetic-particle-processors/11839520>



Figura 25. SimpliAmp Thermal Cycler (Applied Biosystems)
 Tomado de: <https://www.fishersci.es/shop/products/simpliamp-thermal-cycler-extended-warranty-package-5/15224438>



Figura 26. ChemiDoc MP Imaging System (Applied Biosystems)
 Tomado de: <https://www.bio-rad.com/en-us/product/chemidoc-mp-imaging-system?ID=NINJ8ZE8Z>



Figura 27. Eppendorf 5804R Refrigerated Centrifuge

Tomado de: <https://www.marshallscientific.com/Eppendorf-5804R-Refrigerated-Centrifuge/ep5804r.htm?srsId=AfmBOor0k8RTnwzSINSGhAv4E1nUINseQD95WU1qboTCr4YxsCkUbRxX>



Figura 28. 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems)

Tomado de: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4405633>

Anexo 3

Presentaciones en Congresos Científicos



Caracterización molecular del adenovirus humano (AdVh) asociado a infecciones respiratorias agudas en niños menores de cinco años en Panamá, durante el periodo 2011-2019, mediante el análisis de los genes del hexón y la fibra.



G. Morán Boniche^{1,2}; E. Núñez Segundo^{1,2}; D. Franco²; B. Moreno^{2,3}; L. Ábrego^{1,2,4}

¹Universidad de Panamá, Ciudad de Panamá, Panamá; ²Departamento de Virología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Ciudad de Panamá, Panamá; ³Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Enfermería, Universidad Interamericana, Ciudad de Panamá, Panamá; ⁴ Sistema Nacional de Investigación, SENACYT, Panamá. Correo: gmoranb08pty@gmail.com

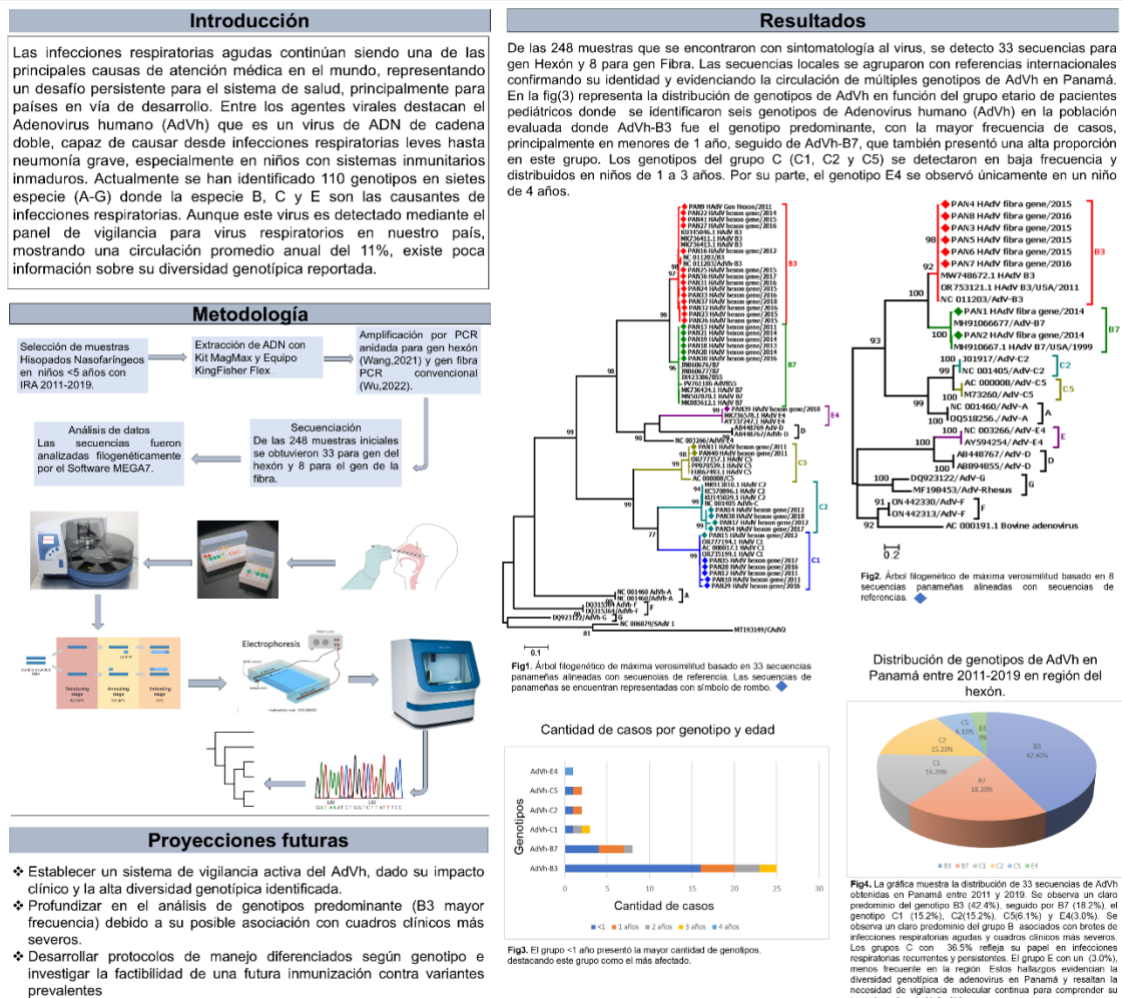


Figura 29. XX Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología APANAC 2025.

Análisis y Caracterización Molecular del Adenovirus Humano asociado a Infecciones Respiratorias Agudas en Panamá durante los años 2011-2019 en niños <5 años mediante Secuenciación del Gen Hexón

Núñez, Emmanuel^{1,2}; Morán, Gabriela^{1,2}; Franco, Danilo¹; Moreno, Brechla^{1,3}; Ábrego, Leyda^{1,2,4}

¹Departamento de Virología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Ciudad de Panamá, Panamá, ²Universidad de Panamá, Ciudad de Panamá, Panamá, ³Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Enfermería, Universidad Interamericana, Ciudad de Panamá, Panamá, ⁴Sistema Nacional de Investigación, Ciudad de Panamá, Panamá.

INTRODUCCIÓN

El adenovirus humano (AdVh) es un virus que puede causar infecciones respiratorias, especialmente en niños pequeños debido a su sistema inmune inmaduro. Hay más de 100 genotipos (A-G), agrupados en siete especies, siendo las especies B (genotipo 3 y 7) y C (genotipo 1, 2 y 5) las más asociadas a infecciones respiratorias. Este estudio analizó, entre 2011 y 2019, la diversidad genética del AdVh en niños <5 años con infección respiratoria aguda, usando el gen hexón para identificar los genotipos presentes en el país.

METODOLOGÍA



Fig. 1. A. Muestras de hisopados nasofaríngeos conservados. B. Búsqueda de muestras.

1. Selección de Muestras

Se procesaron $n = 248$ muestras de hisopados nasofaríngeos recibidas por el ICGES (Fig. 1).

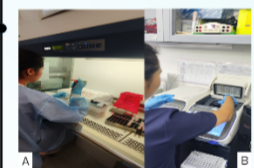


Fig. 2. A. Extracción del ADN viral. B. Preparación de muestras para la amplificación por PCR anidada.

2. Extracción y Amplificación de ADN viral

Se extrajo el ADN viral y se amplificó por PCR anidada con cebadores específicos del Gen Hexón del AdVh (Wang *et al.*, 2021) (Fig. 2)

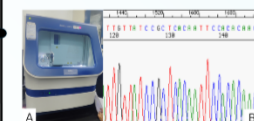


Fig. 3. A. Secuenciación de las muestras a través del Genetic Analyzer 3500xL. B. Análisis de las secuencias.

3. Secuenciación y Análisis de Datos

De las muestras iniciales ($n = 248$) se obtuvieron 33 secuencias, adquiridas por el método de Sanger y analizadas filogenéticamente por el Software MEGA7 (Fig. 3).

REFERENCIAS

Wang, X., Wang, D., Umar, S. *et al.* Molecular typing of human adenoviruses among hospitalized patients with respiratory tract infections in a tertiary Hospital in Guangzhou, China between 2017 and 2019. *BMC Infect Dis* 21, 748 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06412-0>

RESULTADOS

Las secuencias locales se agruparon con referencias internacionales, confirmando su identidad y evidenciando la co-circulación de múltiples genotipos de AdVh en Panamá (Fig. 4).

Se identificaron las especies B (60.6%), C (36.3%) y E (3%), con predominio del genotipo B3 (Fig. 5).

El mayor número de genotipos correspondieron a niños <1 año, con una disminución progresiva en los grupos de mayor edad (Fig. 6). Los síntomas más frecuentes fueron fiebre, tos y rinorrea, con algunos casos graves que presentaron hipoxia y cianosis.

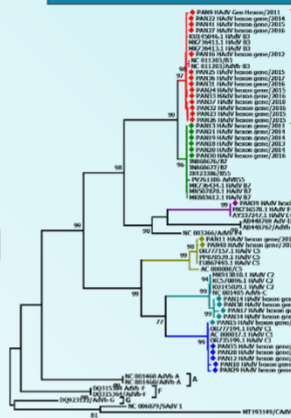


Fig. 4. Árbol filogenético de máxima verosimilitud basado en 33 secuencias panameñas alineadas con secuencias de referencia. Las secuencias panameñas se encuentran representadas con un símbolo de rombo (v).

Frecuencia de Especies de AdVh encontrados durante los años 2011-2019

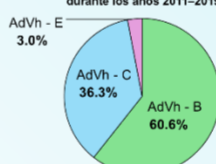


Fig. 5. Los porcentajes indican la proporción de especies de AdVh encontrados, donde el AdVh - B (fracción verde) tuvo el mayor.

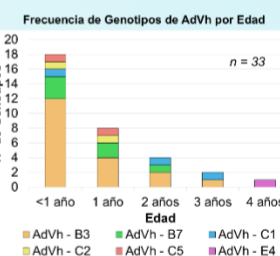


Fig. 6. El grupo <1 año presentó la mayor cantidad de genotipos (18), destacando este grupo como el más afectado.

CONCLUSIONES

El AdVh mostró una alta diversidad genética en el país, con predominio del genotipo B3. Se detectó co-circulación de variantes de las especies B, C y E, relacionadas con cepas internacionales. Los casos presentaron síntomas respiratorios comunes y algunos graves, lo que resalta la importancia de vigilancia molecular continua para mejorar el control y diagnóstico en la población infantil.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), especialmente a la Dra. Leyda Ábrego y a todo el Departamento de Virología y Biotecnología que hizo posible la realización de este estudio. Al Ministerio de Economía y Finanzas (MEF) y al Sistema Nacional de Investigación (SNI) por los fondos otorgados para esta investigación.