

Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**CLÍNICA E EPIDEMIOLOGIA DAS
INFECÇÕES AGUDAS POR VIRUS RESPIRATÓRIOS
EM CRIANÇAS ATENDIDAS EM UM HOSPITAL PÚBLICO
DE UBERLÂNDIA - MG**

Hélio Lopes Silveira

**Uberlândia
Julho - 2013**

Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**CLÍNICA E EPIDEMIOLOGIA DAS
INFECÇÕES AGUDAS POR VIRUS RESPIRATÓRIOS
EM CRIANÇAS ATENDIDAS EM UM HOSPITAL PÚBLICO
DE UBERLÂNDIA – MG**

Tese apresentada ao Colegiado do
Programa de Pós-graduação em
Imunologia e Parasitologia Aplicadas
como requisito parcial para obtenção
do título de Doutor.

Hélio Lopes Silveira
(candidato ao doutorado)

Profa.Dra.Divina Aparecida Oliveira Queiróz
(orientadora)

Prof. Dr. Orlando Cesar Mantese
(co-orientador)

**Uberlândia
Julho - 2013**

Universidade Federal de Uberlândia
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Aluno: Hélio Lopes Silveira

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Banca examinadora:

Profa. Dra. Divina Aparecida Oliveira Queiróz

Profa. Dra. Meri Bordignon Nogueira

Prof. Dr. Otávio Augusto Leite Cintra

Prof. Dr. Miguel Tanus Jorge

Prof. Dr. Gesmar Rodrigues Silva Segundo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S587a

2013

Silveira, Hélio Lopes da, 1950-

Aspectos clínico-epidemiológicos das infecções agudas por vírus

respiratórios em crianças atendidas em um hospital público de Uberlândia

- MG / Hélio Lopes da Silveira. -- 2013.

83 f.

Orientadora: Divina Aparecida Oliveira Queiróz.

Co-orientador: Orlando Cesar Mantese.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Ciências biomédicas - Teses. 2. Crianças - Infecções respiratórias agudas - Uberlândia, MG - Teses. 3. Crianças - Doenças respiratórias agudas - Uberlândia. 4. Infecção hospitalar - Uberlândia, MG. I. Queiróz, Divina Aparecida Oliveira. II. Mantese, Orlando Cesar. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. IV. Título.

CDU: 612.017

“Não sabendo que era impossível foi lá e fez”.

Jean Cocteau

Agradecimentos:

À minha esposa Elaine, e filhos Flávio e Bruno, pelo incentivo constante em toda minha carreira.

À Profa. Dra. Divina Aparecida Oliveira Queiróz, orientadora deste trabalho, mas, mais que isto, pelos ensinamentos, incentivo constante, amizade, imenso entusiasmo no cumprimento do seu papel de líder e docente e excepcional colaboração.

Ao Prof. Dr. Orlando Cesar Mantese, coorientador, pela amizade, incentivo constante e imensa colaboração.

Aos docentes do Departamento de Pediatria do Curso de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, pela tolerância, colaboração e incentivo.

Aos companheiros do Laboratório de Virologia do ICBIM, Jonny, Thelma, Lourenço, Guilherme e outros, que foram os responsáveis, alguns por coleta de material, outros por processamento dos espécimes e aplicação dos testes para identificação de vírus, todos muito responsáveis nas suas tarefas, sempre muito colaborativos, simpáticos e amigos.

Às crianças que participaram deste trabalho doando o material, sem o qual nada poderia ser feito, e seus pais, pela compreensão e colaboração.

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos:

AdV	adenovírus
ANF	aspirado de nasofaringe
cDNA	ácido desoxirribonucléico complementar
DRA(s)	doença(s) respiratória(s) aguda(s)
ENF	enfermaria de pediatria
FLU	vírus da influenza
HRV	rinovírus humano
hBoV	bocavírus humano
hMPV	metapneumovírus humano
IFI	imunofluorescência indireta
IFN I	interferon tipo I
IRA(s)	infecção(s) respiratória(s) aguda(s)
ITRI	infecção do trato respiratório inferior
ITRS	infecção do trato respiratório superior
NEO	unidade de neonatologia – berçário e UTI neonatal
PAC	pneumonia adquirida na comunidade (PAC)
PAP	pronto atendimento pediátrico
PIV	parainfluenzavírus
PS	pronto-socorro de pediatria
RNA	ácido ribonucléico
RRP	receptores de reconhecimentos de padrões
RT-PCR	“reverse transcription of polymerase chain reaction” (transcrição reversa da reação em cadeia pela polimerase)
SARS-CoV	severe acute respiratory syndrome-coronavirus - SARS-CoV
TRS	trato respiratório superior
TRI	trato respiratório inferior
TBE	Tris-Borate-EDTA
UTI	unidade de terapia intensiva
VRS	vírus respiratório sincicial
χ^2	qui-quadrado

SUMÁRIO	Pag.
1. Introdução	12
1.1 Epidemiologia	12
1.2 Etiologia viral	15
1.3 Fatores de risco	18
1.4 Manifestações clínicas	22
1.5 Diagnóstico viral	23
1.6 Justificativa	25
2. Objetivos	27
3. Material e métodos	18
3.1 População de estudo	28
3.2 Espécimes clínicos	28
3.2.1 Coleta	28
3.2.2 Processamento	29
3.3 Ensaio de imunofluorescência indireta	29
3.4 Extração do RNA viral	30
3.5 Teste de amplificação por RT-PCR	30
3.6 Diagnósticos clínicos e avaliação de gravidade	30
3.7 Análise estatística	32
4. Resultados	33
4.1 Características demográficas e clínicas	33
4.2 Pesquisa de vírus	35
4.3 Distribuição das amostras positivas por faixa etária e diagnóstico	36
4.4 Doentes não internados	39
4.5 Doentes internados	41
4.6 Crianças que adquiriram infecção dentro do hospital	45
4.7 Sazonalidade	47
5. Discussão	49
6. Conclusão	63
7. Considerações finais	65
8. Referências bibliográficas	66
9. Anexos	
9.1 Anexo I – Termo de consentimento livre e esclarecido	82
9.2 Anexo II – Ficha clínica	83

RELAÇÃO DE TABELAS E GRÁFICOS

Pag.

<i>Tabela 1. Número de amostras coletadas por trimestre durante os anos de estudo.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 2. Dados clínicos e demográficos das crianças com doença respiratória aguda, incluídas no estudo.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabela 3. Síndromes clínicas em crianças não internadas e internadas de acordo com a faixa etária dos 430 casos de doença respiratória aguda com agente viral identificado</i>	<i>37</i>
<i>Tabela 4. Distribuição dos doentes não internados por faixa etária, vírus identificados e diagnósticos clínicos.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabela 5. Distribuição das amostras de doentes internados de acordo com diagnóstico, gravidade do quadro clínico e relação com vírus isolado.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabela 6. Dados clínicos dos doentes internados com comorbidade e/ou prematuridade e os previamente saudáveis.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabela 7. Crianças portadoras de comorbidades que adquiriram infecção intrahospitalar, com amostras positivas por IFI e/ou (RT)-PCR.....</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 8 - Amostras positivas para vírus respiratórios, agrupadas de acordo com o mês de coleta.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 1 – Sinais e sintomas das IRAs e principais e síndromes clínicas.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 2 – Fluxograma da coleta ao processamento dos espécimes de ANF.....</i>	<i>29</i>
<i>Fig. 3. Número de amostras coletadas por ano de estudo (A) e de acordo com o trimestre de coleta (B).....</i>	<i>33</i>
<i>Figura 4. Porcentagem dos casos de crianças menores de cinco anos de idade com doença respiratória aguda, investigados para presença de vírus (IFI + RT-PCR).....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 5. Porcentagem de casos internados vs. Não internados para cada agente de infecção respiratória aguda viral em crianças menores de cinco anos de idade.....</i>	<i>38</i>
<i>Figura 6. Identificação de vírus respiratórios em casos de infecções simples e coinfeções em crianças menores de 5 anos de idade hospitalizados no HCU-UFU, usando IFA e/ou (RT)-PCR.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 7. Distribuição sazonal das infecções respiratórias agudas em crianças de até cinco anos de idade atendidas no HC-UFU, no período de 2000 a 2010.....</i>	<i>46</i>
<i>Figura 8. Distribuição sazonal dos vírus respiratórios.....</i>	<i>48</i>

Resumo

A infecção respiratória aguda (IRA) representa importante carga de doença para o ser humano e os vírus são os causadores de 50 a 90% destas infecções em crianças menores de cinco anos de idade, que apresentam seis a nove destas infecções por ano.

Assim, objetivou-se descrever os aspectos clínicos, fazer correlação clínico-etiológica, avaliar a gravidade e evolução clínica das infecções respiratórias agudas (IRA) por vírus em crianças menores de cinco anos de idade; avaliar fatores de risco intrínsecos ao hospedeiro quanto à frequência e gravidade das IRAs virais e delinear medidas preventivas e de tratamento adequadas para estas infecções.

No período de 2000 a 2010, aspirados de nasofaringe (ANF) de crianças menores de cinco anos de idade com quadro clínico de IRA foram coletados até o quinto dia de sintomas. Dados demográficos, sinais e sintomas, presença de comorbidades, evolução clínica, avaliação de gravidade e diagnóstico de alta foram obtidos através de uma ficha clínica e revisão dos prontuários médicos. Os espécimes foram analisados por ensaio de imunofluorescência indireta (IFI) para detecção dos vírus respiratórios comuns e/ou reação em cadeia da polimerase (RT)-PCR. Durante o período do estudo, 535 espécimes de ANF foram coletadas sendo 46,5% de doentes internados (idade média de 6,6 meses) e 53,5% de doentes não internados (idade média de 17,8 meses). Infecção do trato respiratório superior (ITRS) respondeu por 28% dos casos enquanto infecção do trato respiratório inferior (ITRI) por 72%. De 430 amostras positivas para vírus, em 85,1% delas foi detectado um único vírus e 14,9% foram casos de coinfeção. Rinovírus (HRV) foi identificado em 37,9% das amostras (em infecção simples e codetecção), seguido pelo vírus respiratório sincicial (VRS - 35,6%), parainfluenza vírus (PIV - 9,3%), vírus da influenza (FLU - 7,3%), adenovírus (AdV- 6,3%) e metapneumovírus humano (hMPV- 3,4%). Em 64 codetecções, o HRV esteve presente 62 vezes, sendo metade com o VRS.

HRV e o VRS foram os vírus respiratórios identificados com maior frequência tanto em pacientes não internados quanto nos internados. As crianças de menor idade mostraram ser o grupo com maior frequência de infecção respiratória aguda (IRA) e com doenças mais graves e, portanto, são aqueles que foram mais hospitalizados. VRS e HRV em infecções simples e coinfeções foram os mais importantes agentes identificados. Doença moderada a grave tem sido associada ao VRS, HRV e coinfeções em frequência semelhante. Estes resultados reforçam a importância dos vírus respiratórios em crianças, associados a infecção nosocomial grave ou agravando doença coexistente. Identificar grupos de pacientes com alto risco de doença grave pode permitir a implementação de medidas preventivas e a adoção de cuidados adequados de assistência, reduzindo o ônus das IRAs virais em crianças. Cuidadores de pacientes devem ser alertados para o uso desnecessário de antibióticos em muitas situações em que os vírus são os agentes da infecção.

Palavras chave: Crianças - Infecções respiratórias agudas; Crianças - Doenças respiratórias agudas; Vírus respiratórios; Infecção hospitalar.

Abstract

Acute respiratory infection (ARI) have an important disease burden for humans and viruses are causes of 50-90% of these infections in children up to five years of age who usually presents 6 to 9 infections per year. The objectives of this study was to describe the clinical aspects and its clinical-etiological correlation, assessment of severity and clinical progressives outcomes of viral ARI in children under five years of age; to assess patient's risk factors related to the frequency and severity of viral ARI, and outline preventive measures and appropriate treatment for these infections. From 2000 to 2010, nasopharyngeal aspirate (NPA) from children up to five years old with ARI was collected within the 5th day of symptoms. Demographic data, signs and symptoms, comorbidities, clinical evaluation, assessment of severity and discharge diagnosis were obtained through a questionnaires and review of medical records. The specimens were analyzed by indirect immunofluorescence assay for the detection of common respiratory viruses and/or polymerase chain reaction (RT)-PCR. During the study period 535 specimens of NPA were collected: 46.5% inpatients (mean age 6.6 months) and 53.5% outpatients (mean age 17.8 months). Upper respiratory tract infection (URTI) represented 28% of the cases whereas lower respiratory tract infection (LRTI) for 72%. In 430 of the viral positive samples, single infection were 85.1% and 14.9% were codetections cases. Rhinovirus (HRV) was detected in 37.9% of the samples (either in single or codetections), followed by respiratory syncytial virus (RSV - 35.6%), parainfluenza virus (PIV - 9.3%), influenza virus (FLU - 7.3%), adenovirus (AdV- 6.3%) and human metapneumovirus (hMPV- 3.4%). In 64 codetections, HRV was present 62 times, half of it with RSV. For either outpatients or inpatients, HRV and RSV were the most common respiratory virus identified. Young children showed to be the group with more frequent ARI, more severe diseases and, therefore, are those that are more frequently hospitalized. RSV and HRV in single infections and coinfections were the most important agents identified. Moderate to severe disease has been linked to RSV, HRV and coinfections in a similar frequency. Our data could reinforce the importance of respiratory viruses in children causing serious nosocomial infection or aggravating coexisting disease. Identify groups of patients at high risk for severe disease may allow the implementation of preventive measures and the adoption of appropriate care assistance, reducing the burden of viral ARI in children. Caregivers of inpatients should be alerted to the unnecessary use of antibiotics in many situations.

Keywords: Children - Acute respiratory infections; Children - Acute respiratory diseases; Respiratory viruses; Nosocomial infection.

1. Introdução

1.1. Epidemiologia

As infecções respiratórias agudas (IRA) representam importante carga de doença para o ser humano, respondendo por 18% das mortes de crianças menores de cinco anos de idade, sendo a pneumonia responsável por pelo menos 90% destas mortes segundo estimativa da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005).

Os vírus causam de 50% a 90% das IRAs em crianças menores de cinco anos de idade (van den HOOGEN, 2001; PITREZ, 2005; MANOHA, 2007). No entanto, o impacto total (qualitativa e quantitativamente) das infecções causadas por vírus respiratórios comuns na comunidade é difícil de assegurar devido a dificuldade em diferenciar esses vírus com base em dados clínicos (KELLNER, 1989; FAN; HENRICKSON; SAVATSKI, 1998) e a falta de testes de diagnóstico rápidos e suficientemente sensíveis e específicos para estes vírus. Com as técnicas atuais, novos agentes e uma elevada frequência de codeteccões são descritos, mas, a importância dessas últimas permanece discutível (CILLA, 2008; BRUNSTEIN, 2008).

A frequência relativa de IRAs por vírus é muito semelhante em países desenvolvidos e em desenvolvimento, independente de condições sócio-econômicas ou sanitárias mas, o impacto destas infecções é maior em países em desenvolvimento (FISCHER, 2002; LAW, 2002), ou seja, melhores condições de vida não diminuem a incidência das doenças respiratórias agudas (DRAs), embora os coeficientes de morbidade e mortalidade sejam muito diferentes.

As IRAs são as doenças mais comuns em crianças menores de cinco anos de idade e, embora geralmente leves e auto-limitadas, levam a complicações que podem ser fatais. O número de IRAs em crianças varia de seis a nove por ano conforme diferentes estudos (LEOWSKI, 1986; SCHWARTZ, 1994; DOUGLAS, 1994; SOUZA, 2003).

Estudo realizado nos EUA encontrou uma incidência de infecção do trato respiratório inferior (ITRI) de 22,8 episódios/100 crianças/ano e a faixa etária de 7-12 meses de idade foi a mais acometida, com relação de 2:1 entre meninos e meninas (McCONNOCHIE, 1998). Henrickson e colaboradores (2004) estimam 545.000 hospitalizações por ITRI/ano nos Estados Unidos em menores de 18 anos de idade sendo 428.000 de etiologia viral com 221.000 pneumonias, 222.000 bronquiolites e

65.000 crupes com um continuado aumento nas hospitalizações por bronquiolite (47.8/1000 em menores de um ano).

Nos países em desenvolvimento como na zona rural de Nairobi, Quênia, os menores de um ano de idade apresentaram oito episódios de IRA/ano e crianças de 48-59 meses de idade, quatro episódios/ano, com duração dos episódios menor de uma semana em 60% dos casos. Devido à alta frequência nas crianças pequenas, estas estavam doentes em 23,3% do tempo (WAFULA, 1990). Um estudo no Brasil mostrou taxa média de 11,7 sintomas respiratórios/dias-semana por criança, índice maior que o de sintomas gastrintestinais e sistêmicos (2,9 e 2,14 respectivamente) com uma média de 1,46 sintomas respiratórios/dia, resultados constantes nos três anos do estudo (ARRUDA, 1991).

As IRAs causam enorme perda de dias de aulas e de faltas ao trabalho (DANNY, 1995; LANGLEY, 1997); escolares perdem em média uma a duas semanas de aula/ano/criança (BULLA, HITZE, 1978). São as principais causas de atendimentos em serviços de emergências sendo responsáveis por até 70% das internações nos meses de inverno (SILVA, 2001). Representam até 50% das consultas ambulatoriais (OLSZEWSKA; ZAMBON; OPENSHAW, 2002; SAURO, 2006) e 10% a 30% das internações (NICHOLSON, 2006; MASSIN, 2006); embora raramente constituam causa de morte em países industrializados, produzem grandes custos diretos e indiretos com assistência à saúde (GIRARD, 2005; EHLKEN, 2005; LAMBERT, 2008).

Em Montevideu, Uruguai, 15,4% das hospitalizações de lactentes e 10,4% das de pré-escolares são devido às infecções respiratórias, sendo a pneumonia responsável por 70% a 80% destas internações (HORTAL, 1990). Este mesmo autor mostrou que mais de 80% das crianças com doença grave tinham menos de 24 meses de idade, sem diferença entre gêneros; 15,3 % nasceram com baixo peso, 21,2% pesavam menos de 3000g e 30% foram internadas previamente com diagnósticos de pneumonia e bronquiolite, com letalidade de 3% (HORTAL, 1994). No Brasil, Thomazelli e colaboradores (2007) mostraram que crianças menores de cinco anos e especialmente menores de um ano, apresentam altas taxas de hospitalização devido aos vírus respiratórios.

As IRAs são responsáveis por aproximadamente 30% dos óbitos infantis (HINMAN, 1998) e cerca de 95% destes ocorrem nos países em desenvolvimento (GRAHAM, 1990; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997). Garenne e colaboradores (1992) citam que a OMS estima aproximadamente 4,3 milhões de mortes/ano de crianças

menores de cinco anos de idade por doença respiratória, 18,9% destas mortes ocorrendo no primeiro ano de vida. Já Williams e colaboradores (2002) analisaram a estimativa de mortes por IRA em 171 países membros da OMS e encontraram que estas são responsáveis por 1,6 a 2,2 milhões de mortes/ano em menores de cinco anos de idade.

Denny e Loda (1986) relataram que as DRAs são as principais causas de morte entre as crianças de países pobres, superando diarreia e desnutrição. Os mesmos autores analisaram dados mundiais e concluíram que a incidência de DRAs e os agentes causais não diferem muito entre países desenvolvidos e em desenvolvimento. A diferença está na gravidade com altas taxas de mortalidade nestes últimos, sugerindo que fatores como desnutrição, diarreia, parasitoses, poluição e aglomerações domiciliares são agravantes do episódio agudo nas crianças de condições de vida precárias.

No Brasil, as pneumopatias agudas são responsáveis por 11% das mortes em crianças menores de um ano e por 13% na faixa etária de um a quatro anos (RODRIGUES; SILVA FILHO; BUSH, 2002). Dados da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) mostram taxa de mortalidade por pneumonia no Brasil de 772,4/100 mil habitantes entre menores de um ano e de 123,6/100 mil habitantes entre crianças de um a quatro anos, no período de 1985 a 1990; na Costa Rica, estas taxas foram de 189,0 e 108,8 respectivamente e no Canadá foram de 14,8 e 1,19, respectivamente, enquanto os EUA mostraram taxas de mortalidade de 16,8 para meninos e de 12,2 para meninas abaixo de um ano, por 100 mil habitantes e 1,2 para crianças de um a quatro anos, independente do gênero (OMS, 1995). Na cidade de São Paulo, a fundação SEADE mostra que, em 1977, 1986 e 1993, as pneumonias foram responsáveis por, respectivamente, 23,2%, 21,3% e 14,3% dos óbitos de menores de um ano de idade; em 1993, foram a primeira causa de morte em menores de cinco anos (BARATA, 1996).

Dados do DATASUS de 2011 relatam 358.257 hospitalizações por pneumonia e bronquiolite sendo que para as crianças menores de um ano de idade, de um a quatro e de cinco a oito anos foram de 40%, 47% e 13%, respectivamente (<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php>.)

Leowski (1986) relatou quatro milhões de mortes por IRA de crianças menores de cinco anos/ano em todo mundo, 90% ocorrendo nos países em desenvolvimento onde crianças com menos de cinco anos representam 15% do total da população e contribuem com 50% do total de óbitos. Esse autor revisou dados das publicações da The United Nations Children's Fund (UNICEF) de 39 países desenvolvidos e em desenvolvimento, totalizando 21% da população mundial. Mostrou que as IRAs mataram 111.834 crianças

nos países estudados, 66,4% lactentes e 33,6% crianças entre 1-4 anos; no Peru, a taxa de mortalidade por gripe e pneumonia foi 37 vezes maior quando comparado a do Canadá e dos Estados Unidos e, nas Filipinas, a taxa de mortalidade por doenças respiratórias chegou a ser 24 e 73 vezes mais altas nos lactentes e crianças pré-escolares quando comparadas à Austrália.

Análise de resultados de estudos longitudinais de 13 países considerados em desenvolvimento mostrou que 20,8% das mortes por doença respiratória ocorreram antes de um mês de vida, 57,8% entre um a onze meses e 21,5% entre 12 e 59 meses, mostrando importante queda de óbitos nas crianças com mais idade. As cidades de Recife, Ribeirão Preto e São Paulo foram comparadas neste estudo, encontrando 12,4%, 10,7% e 16,6% de óbitos por IRAs na população pediátrica, respectivamente e a faixa etária mais acometida foi entre um e onze meses (GARENNE, 1992). Em Nairobi, 42% de todas as admissões hospitalares e 22% dos óbitos foram por doença respiratória (WAFULA, 1990) e na Índia, há relato de que 14,3% dos óbitos de lactentes e 15,6% entre crianças de um a cinco anos são causados por IRA, superando os óbitos por diarreia; pneumonia ocupou 75% das causas destas mortes, seguida das bronquiolites e crupes (NARAIN, 1987).

1.2. Etiologia viral

Os vírus são os principais responsáveis pelas IRAs de crianças menores de cinco anos de idade, causando surtos epidêmicos anuais com ocorrência sazonal (MONTO, 2002; STENSBALLE; DEVASUNDARAM; SIMOES, 2003; SHEK, L. PEI-CHI; LEE, BEE-WAH, 2003). Estima-se que, nos EUA, os vírus mais comumente detectados cada ano em crianças de todas as faixas etárias hospitalizadas incluem 117.000 vírus respiratório sincicial (VRS), 66.000 parainfluenza vírus (PIV) e 39.000 vírus da influenza (FLU) (HENRICKSON, 2004).

A importância relativa de cada um dos agentes virais no início da vida é motivo de debate. Nos dados publicados, o VRS, rinovírus humano (HRV), PIV e FLU são os vírus predominantes nas IRAs das crianças, mas, há limitações para se concluir sobre qual vírus é o mais comum ou importante: diferenças na técnica (PCR vs imunoenensaio) entre e dentro dos estudos e o impacto de sensibilidade do ensaio (MAHONY, 2008); diferenças no desenho dos estudos incluindo idade, critérios de recrutamento e quais vírus estudados; distorção histórica dos dados, particularmente a facilidade de detecção

“*in vitro*” de VRS comparada com HRV; alterações após a maior utilização de (RT)-PCR; e a predominância de estudos baseados em hospitais, que são distorcidos por doenças mais graves. Outro complicador é o fato de que a identificação de vírus não indica que este seja necessariamente o causador da doença (WRIGHT, 2007) pois, RNA viral pode ser detectado em crianças assintomáticas (van BENTEN, 2003; KUSEL, 2006) assim como há evidências de persistência viral (JARTTI, 2004).

No entanto, as seguintes conclusões gerais podem ser tiradas sobre a etiologia viral e hospitalização infantil devido à infecção respiratória (PAPADOPOULOS, 2002; KUSEL, 2006; NICHOLSON, 2006; COSTA, 2006; WEIGL, 2007; CHUNG, 2007; MANOHA, 2007; CHONMAITREE, 2008):

- VRS, HRV, adenovírus (AdV), metapneumovírus humano (hMPV), FLU e PIV podem causar bronquiolite suficientemente grave para levar a criança a hospitalização;
- dos vírus conhecidos, o VRS é mais comumente relatado como a principal causa de hospitalização por bronquiolite e doença grave, seguida por HRV e FLU;
- codeteção viral é comum, ocorrendo em cerca de 20% dos casos; não existe consenso sobre o efeito da codeteção na gravidade da doença e isto pode depender de quais vírus são encontrados, por exemplo, quando o AdV ou HRV foi detectado durante a infecção por VRS, não houve aumento na gravidade (ABERLE, 2005); no entanto, a codeteção do hMPV com VRS aumentou a taxa de admissão na unidade de cuidados intensivos (SEMPLE, 2005).
- o perfil de vírus detectados pode mudar com o maior uso de técnicas diagnósticas baseadas em ácido nucléico, com a descoberta de novos vírus e com os recentemente isolados.

Os vírus envolvidos nas IRAs são: VRS, PIV 1, 2, 3 e 4, AdV, HRV, FLU A, B e C, hMPV, coronavírus, vírus do sarampo, varicela-zoster, parvovírus B19 e enterovírus (echovírus, coxsackievírus) (HEMMING, 1994; HALL e HALL, 1995; TURNER, 1996; van den HOOGEN, 2001), com cerca de 220 sorotipos associados com doença respiratória humana (DANNY, 1995; LINA, 1996; MIYAO, 1999; van den HOOGEN, 2001; STOCKTON, 2002; LIN, 2004; MACKIE, 2003; FALSEY, 2003; THOMAZELLI, 2007).

"Novos" vírus foram recentemente caracterizados com o uso de novas tecnologias de diagnóstico. Além do hMPV (van den HOOGEN, 2001), encontrado em amostras de crianças com bronquiolite sugestiva de etiologia pelo VRS que estavam

negativos para o VRS, o bocavírus humano (hBoV) foi descoberto numa tela de PCR aleatória de amostras do trato respiratório (ALLANDER, 2005) e dois novos poliomavírus, Wu (GAYNOR, 2007) e KI (ALLANDER, 2007). O hMPV certamente tem impacto clínico e há evidências que sugerem que hBoV seja patogênico (CALVO, 2008; McINTOSH, 2006), mas dados de estudos anteriores sugerem que os novos poliomavírus não são patogênicos por si próprio (ABEDI, 2008).

O perfil de vírus detectados pode mudar com o maior uso de técnicas diagnósticas baseadas em ácido nucleico que ampliou muito a possibilidade de detecção de agentes virais e de coinfeções (JUVÉN, 2000; CALVO, 2010). Este último autor obteve positividade de 86,5% para vírus respiratórios comuns em 318 crianças estudadas, com vírus único em 196 doentes e codetecção em outros 79 deles.

Estudos recentes em diversas localidades em todo mundo, utilizando técnica de análise molecular mais sensível e de maior especificidade, mostram uma importância maior dos vírus respiratórios do que mostraram os estudos anteriores utilizando outros métodos de pesquisa (NOYOLA, 2004; HENRICKSON, 2004; WEIGL, 2007). Utilizando PCR do tipo “*multiplex*” pode-se detectar patógenos em grande número de infecções agudas e as coinfeção são cada vez mais detectadas (BEZERRA, 2011).

Em trabalho prospectivo com crianças hospitalizadas, García-García e outros (2012) identificaram um patógeno viral em 73,4% de 884 crianças com 30% de infecção dupla mostrando que a alta prevalência de infecções virais revela a importância dos vírus respiratórios em PAC de crianças que necessitam de internação.

Outro estudo que envolveu crianças saudáveis que foram acompanhadas no primeiro ano de vida monitoradas para ocorrência de IRA, o HRV foi o vírus predominante (55%); VRS foi a principal causa de ITRI (64%) (EDE, 2012). Em Honduras, ao menos um vírus foi identificado em 75,4% das crianças, com 7,5% de codetecções (SCHLAUDECKER, 2012).

No Brasil, estudos de isolamento e identificação foram em pequeno número e restritos a localidades, mas, relatos de diferentes áreas geográficas revelaram os vírus como importante causa de infecções respiratórias e citam taxas de identificação de vírus em ITRI que variam de 47,6% a 85,5%, utilizando técnicas diferentes de pesquisa (MIYAO, 1999; TSUCHIYA, 2005; COSTA, 2006; THOMAZELLI, 2007; BEZERRA, 2011).

Também em crianças portadores de doenças oncológicas e imunodeprimidas, com febre de início recente e sem sinais de localização, os vírus respiratórios podem ser responsáveis por grande número de casos (KAMIKAWA, 1996).

1.3. Fatores de risco

Em geral, a doença é um resultado incomum das infecções respiratórias virais, porque a maioria dos indivíduos expostos são assintomáticos. Fatores que determinam a evolução clínica de uma exposição a um vírus respiratório dependem do vírus (carga, tipo, virulência), do hospedeiro (idade, predisposição genética, estado imunológico) e do ambiente (temperatura, umidade, poluição).

A probabilidade de infecção é determinada pela idade (MONTO, 1974) e pela exposição à infecção. Fatores envolvendo o hospedeiro, o agente infeccioso e o ambiente são importantes para o aumento da incidência e/ou gravidade das IRAs causadas por vírus (HOLBERG, 1991; DANNY, 1995; LAW, 2002; SIMOES, 2003; AVENDAÑO, 2003; HAWKER, 2003).

Crianças, principalmente as menores de cinco anos, podem ter muitas IRAs/ano e, em determinados períodos do ano, mais de 50% das crianças internadas o são por doença respiratória aguda (DRA), a maioria de etiologia viral. A morbidade por essas infecções é especialmente alta em crianças em virtude de: geralmente estas tem contato com o agente agressor pela primeira vez na vida; contatos sociais e os contatos com outras crianças e com seus cuidadores são mais íntimos, resultando em maior taxa de ataque; geralmente praticam poucas medidas de higiene apropriadas; apresentam imaturidade imunológica o que faz com que transmitam vírus em grandes quantidades e por um período de tempo prolongado em comparação com os adultos; possuem vias aéreas menores e o estreitamento inflamatório das mesmas durante a infecção, resulta em quadros clínicos mais graves (SCHMITT, 2007).

A idade é um dos principais fatores de risco para infecções respiratórias graves e hospitalizações. Crianças de tenra idade são as mais afetadas e apresentam os quadros mais graves (ZAMORANO, 2003); predisposição genética para alergia (KAROL, 2002), prematuridade, deficiências imunológicas, cardiopatias congênitas (AUJARD, FAROUX, 2002), e doenças pulmonares crônicas como fibrose cística ou displasia broncopulmonar (WALSH, 1997) também constituem fatores de risco intrínsecos do hospedeiro associados a vários graus de gravidade das IRAs. Há também questões

genéticas e relacionadas ao sistema imunológico infantil que afetam diretamente a infecção.

Quanto aos aspectos do agente infeccioso, a gravidade das infecções respiratórias está ligada às cepas virais (WALSH, 1997; IMAZ, 2000; KIMURA, 2004), apesar de que as implicações das variantes na epidemiologia e patogênese de alguns vírus ainda não estão bem definidas. Fatores de risco genéticos e ambientais determinantes de doença mais grave foram melhores caracterizados para o VRS (SIMÕES, 2003) e são: (a) a idade quando infectadas (HALL, 2009), (b) maior exposição a um agente infeccioso que ocorre, pela ordem, entre irmãos, permanência em creche, estação do ano em que nasceu, hospitalização e condição socioeconômica (OKIRO, 2008), (c) pequeno tamanho corporal devido à idade gestacional, desnutrição ou peso de nascimento, (d) proteção contra vírus pelo aleitamento materno e IgG adquirido no útero, (e) fatores que afetam a função pulmonar como a exposição à fumaça (tabaco na gestação) e poluição atmosférica.

Ainda relacionado ao agente infeccioso, existem relatos em número crescente e parcialmente discordantes sobre a importância da carga viral, gravidade e tempo de evolução da doença respiratória. Quanto ao HRV um estudo mostrou relação clara entre maior carga viral com a detecção de viremia e doença mais grave, sugerindo que uma carga viral elevada na nasofaringe é um pré-requisito para a viremia, e que a viremia está associada com considerável envolvimento clínico (ESPOSITO, 2013). Já outro autor encontrou que entre os pacientes infectados com HRV antes de 11 meses de idade, a gravidade da doença pode ser associada com uma resposta imunitária imatura e ao pequeno diâmetro das vias aéreas em vez da carga viral, mas, em contraste, nos pacientes maiores de 11 meses de idade, a carga viral pode contribuir para a maior gravidade da doença (TAKEYAMA, 2012).

Também a relação entre carga viral e gravidade da doença em crianças com infecção pelo VRS não tem sido bem avaliada. Scagnolari e colaboradores (2012) estudaram a correlação entre a carga de VRS e gravidade da bronquiolite e os resultados indicaram que a carga viral estava positivamente relacionada com a gravidade clínica da bronquiolite e com o tempo de internação, sugerindo que as crianças com carga elevada de VRS na admissão hospitalar são mais propensas a ter bronquiolite mais grave e uma maior ativação da resposta imune anti-viral na via aérea superior. Outro trabalho estudou que efeito da carga viral e dinâmica do clareamento viral nas infecções pelo VRS encontrou uma relação entre maior duração de hospitalização e carga viral mais

elevada; maior carga viral foi associada com mais necessidade de cuidados intensivos e mais insuficiência respiratória e o clareamento mais rápido do VRS foi associado com menor tempo de internação. Concluiu que estas observações desafiam o paradigma da patogenia baseada em imunopatologia e que a morbidade pode estar relacionada aos efeitos citopáticos diretos (EL SALEEBY, 2011).

Relatos mostram resultados semelhantes com hBoV, frequentemente detectado em pacientes com infecção grave do TRI neste estudo e uma alta carga viral de hBoV levou a quadros mais graves de infecção do TRI, maior duração de sibilos e mais hospitalização (DENG, 2012). Alta carga viral também pode estar relacionada com doença mais grave e maior risco de ventilação mecânica nas infecções pelo FLU A H1N1 (LAUNES, 2012).

Outros fatores de agravamento principalmente ligados aos aspectos ambientais, sócio-econômicos e culturais são importantes para o estabelecimento, em termos de gravidade e disseminação, das infecções respiratórias, tais como aglomerações (DANNY, 1995), falta de anti-sepsia das mãos (SATTAR, 2002), inalação de poluentes (EZZATI; KAMMEN, 2001), fumo (ZAMORANO, 2003), falta de amamentação (SIMÕES, 2003) e desnutrição.

Gens associados com maior risco ou maior gravidade da infecção respiratória por vírus foram estudados para o VRS (MIYAIRI; DEVINCENZO, 2008), severe acute respiratory syndrome-coronavirus - SARS-CoV (CHAN, 2007; NG, 2007), vírus da influenza (GELDER, 2002; TANG, 2007) e HRV (ALPER, 2009). Associações significativas entre os genes do sistema imune e risco de infecção viral respiratória grave são observadas.

Janssen e colaboradores (2007) demonstraram que a susceptibilidade ao VRS é complexa, mas há fortes associações com polimorfismos nos genes da resposta imune inata. Outro estudo com crianças prematuras indicou uma associação crítica com gens do sistema imunológico inato e a suscetibilidade a bronquiolite (SIEZEN, 2009).

Polimorfismos na proteína A do surfactante (SP-A) foram associados com aumento do risco de bronquiolite pelo VRS como mostrado por Lofgren (2002). Estudos genéticos em rato e humanos mostraram a importância dos receptores *Toll-like 4* (TLR4) na infecção pelo VRS (KURT-JONES, 2006) e estudos usando células das vias respiratórias humanas (MONICK, 2003) possibilitaram estudos genéticos de susceptibilidade (TAL, 2004; AWOMOYI, 2007; PAULUS, 2007).

Parece haver dois grupos de genes que são importantes para alterar a evolução após a infecção respiratória por vírus. Um grupo de genes está envolvido na magnitude e tipo da resposta imune, mas não no controle da carga viral. Alelos que levam a um aumento do nível de expressão ou a eficácia destes genes aumentam o risco de doença grave (CHOI, 2002; HULL; THOMSON; KWIATKOWSKI, 2000; PUTHOTHU, 2006). Outro grupo contém genes envolvidos no controle da carga viral. Alelos que levam a uma diminuição da expressão destes genes antivirais aumentam o risco de doença grave (TAL, 2004; INOUE, 2007; ALPER, 2009). Isto reflete os dois braços que contribuem para a doença respiratória viral, lesões causadas pelo vírus e pelo sistema imunitário.

O sistema imunitário imaturo do lactente tem impacto crítico na susceptibilidade à infecção respiratória por vírus. Falta memória imunológica e há uma tendência para respostas imunes inatas e adaptativas diminuídas no início da vida (ADKINS, 2004). Além disso, o lactente tem uma resposta imunitária com tendência *T-helper 2* (Th2), em parte, reflexo da resposta imune do feto (BJORKSTEN, 1999) e esta inclinação à Th2 continua na primeira infância e influencia as respostas imunitárias à infecção e possivelmente, o desenvolvimento de asma e alergia.

A resposta imune inata de lactentes é muito reduzida (LEVY, 2007) assim como o nível da resposta imune adaptativa, que pode ser uma consequência da falha na cascata para iniciar respostas do interferon tipo I (IFN I) e, portanto, mínima ativação de células dendríticas, mas, outros mecanismos podem estar envolvidos. Imaturidade de células dendríticas, especificamente o nível reduzido de produção de IL-12 (GORIELY, 2001) pode levar à inclinação da resposta imune a um fenótipo Th2. Além disso, as funções de linfócitos T são deficientes, com consequente redução do clareamento viral e aumento de reinfecção.

Respostas de células B imaturas, comprometendo a anticorpopogênese, e de anticorpos são especialmente pobres, mais fracas, com respostas de vida curta (SIEGRIST, 2009). Há também uma falha de sinalização para fatores essenciais de sobrevivência das células B levando à rápida diminuição da resposta de anticorpos. Estes fatores são identificados como sendo determinantes da resposta de anticorpos de mucosa na infecção pelo VRS (REED, 2009). Finalmente, a imaturidade de células dendríticas no início da vida pode também influenciar a resposta de células B, p.ex., há pobre desenvolvimento de células dendríticas foliculares em centros germinais neonatais murinos (GORIELY, 2001; PIHLGREN, 2003). Embora reduzida em

magnitude, os lactentes desenvolvem uma resposta de memória à infecção reduzindo o efeito de infecções subsequentes com o mesmo vírus.

Portanto, múltiplos fatores ligados ao ambiente, ao hospedeiro e ao agente se correlacionam determinando fatores de proteção e de risco de adoecimento e o grau de gravidade ou de moderação das doenças respiratórias, frequentemente, é consequência destes múltiplos fatores.

1.4. Manifestações clínicas

As IRAs apresentam-se como quadros sindrômicos e os sinais e sintomas são comuns aos vários agentes etiológicos; os achados clínicos não permitem identificar o agente em um caso individual.

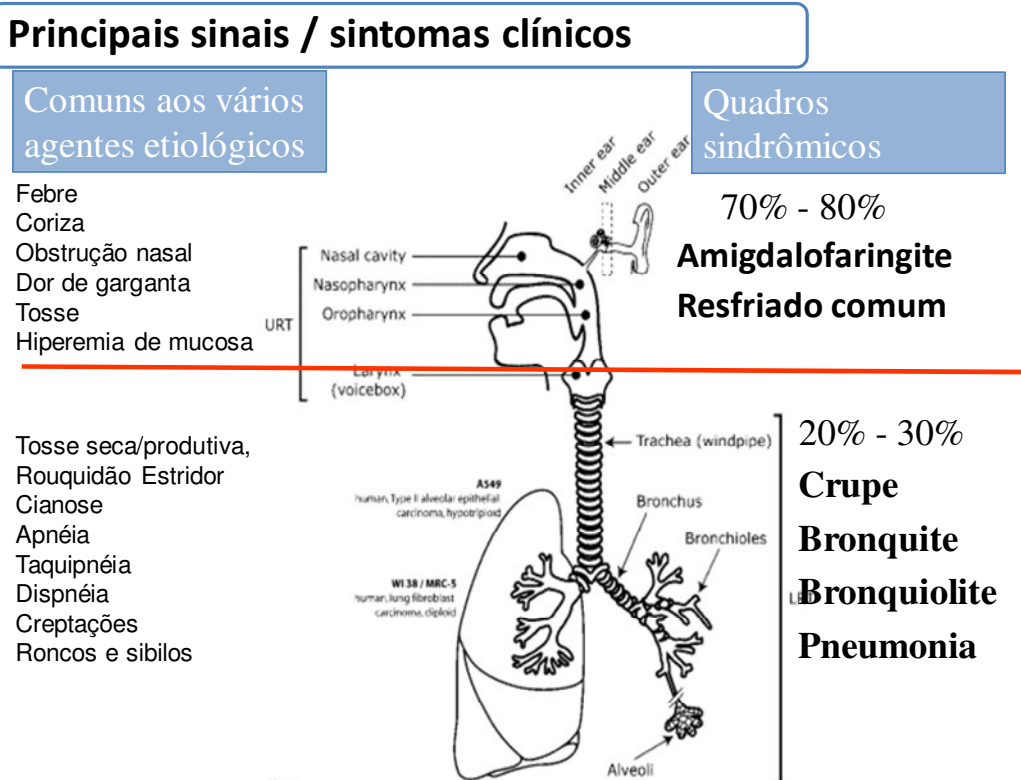


Figura 1 – Sinais e sintomas das IRAs e principais e síndromes clínicas

A figura 1 mostra os principais sinais e sintomas e as síndromes clínicas definidas pelo conjunto das manifestações clínicas. Cerca de 70% a 80% das IRAs na primeira infância são confinadas ao TRS manifestando com coriza, congestão nasal, febre, tosse discreta quando presente, indisposição e perda de apetite, hiperemia de

mucosa nasal e faríngea, das conjuntivas e membranas timpânicas. Cerca de 20% a 30% das crianças desenvolvem sintomas do TRI como tosse seca ou produtiva, rouquidão, estridor, taquipnéia, sibilos, creptações, dificuldade respiratória e, raramente, cianose, podendo haver batimento de aletas nasais, retrações torácicas e, à ausculta, roncos, sibilos e crepitações ou sons respiratórios reduzidos devido ao aprisionamento de ar e hiperinsuflação periférica do pulmão. Nas infecções pelo VRS em crianças menores de 6 meses de idade, episódios recorrentes de apnéia são uma ameaça a vida.

Alguns médicos fazem distinção entre bronquite, bronquiolite e pneumonia para descrever doença predominantemente das grandes vias aéreas, das pequenas vias aéreas ou envolvimento de alvéolos e interstício pulmonar, respectivamente. No entanto, a falta de definições internacionalmente acordadas torna a utilização destas descrições patológicas como diagnósticos clínicos contenciosos, mas, o tratamento tende a ser o mesmo independente dos diagnósticos utilizados.

1.5. Diagnóstico Viral

As IRAs apresentam quadros clínicos variados e são causadas por muitos agentes etiológicos. Estes variam conforme a faixa etária, época do ano e localização geográfica o que gera dificuldades técnicas para elaboração de estudos sobre a etiologia dos quadros respiratórios e dificulta a uniformização e comparação de dados obtidos.

Os vírus respiratórios causam infecções de variadas manifestações e gravidades e, para a maioria dos vírus respiratórios, não existem antivirais clinicamente úteis. Para crianças saudáveis com IRA atendidas em ambulatório, um diagnóstico virológico não se justifica, pois, este não prevê a gravidade ou a duração da doença, nem conduz à terapêutica específica. Para as crianças em risco de IRA grave (prematuros, cardiopatas, etc...), o diagnóstico etiológico precoce é útil. Por exemplo, infecção por VRS nestas crianças frequentemente são graves, requerendo monitorização da doença e, no caso de deterioração, hospitalização precoce, que ocorre em 1% a 2% dos lactentes (HALL, 2009). Nestes casos, o diagnóstico etiológico auxilia na tomada de decisões em relação aos pacientes e na prevenção de infecções nosocomiais. A dificuldade para estabelecer a etiologia faz com que o tratamento dos pacientes seja muitas vezes inadequado com uso de antibióticos em pneumonias, bronquiolites e traqueobronquites que têm os vírus como agentes em pelo menos 80% dos casos. Além disso, como não é conhecido a

frequência dos diferentes patógenos das IRAs, tratamentos novos e específicos não são desenvolvidos (WHO, 2005).

Os vírus respiratórios podem ser diagnosticados por cultura, sorologias, detecção de antígeno/imunofluorescência e testes baseados em ácido nucléico/PCR. A sorologia para alguns vírus respiratórios apresentam problemas de sensibilidade em crianças pequenas (OMS, 1981; HALL; McCARTHY; 1995). O isolamento viral por cultura é específico e sensível, porém, demorado e não é realizado pela maioria dos laboratórios (OMS, 1981; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997).

A detecção de antígeno baseia-se na utilização de anticorpos monoclonais vírus específicos e permite a identificação rápida de vírus em espécimes de aspirado de nasofaringe ou *swab* nasal. Os métodos rápidos de detecção de antígeno permitem o reconhecimento do agente em horas e constituem em grande avanço para o diagnóstico das infecções virais (OMS, 1981; ZAHRADNIK; CHERRY, 1987; BETTS, 1995; TURNER, 1996). As técnicas utilizadas são a imunofluorescência direta e indireta, ensaio imunoenzimático (ELISA), radioimunoensaio (RIA), hemaglutinação reversa passiva, hemólise radial simples e imunoensaio de camada fina (TIA).

Em doenças respiratórias, a imunofluorescência vinha sendo a técnica de escolha por apresentar menor custo e permitir que mesmo um pequeno número de amostras possa ser processado a cada vez (OMS, 1981). Estes testes estão sendo substituídos por testes baseados em ácidos nucléicos, agora *multiplex*, permitindo a detecção rápida de muitos vírus simultaneamente (MAHONY, 2008). Comparado a outros métodos, são significativamente mais sensíveis podendo ter impacto nos resultados dos estudos. Entre as inúmeras vantagens sobre métodos convencionais de isolamento viral e sorologia, são práticos, simples, fáceis de serem executados em estudos populacionais e, a rapidez da informação possibilita medidas efetivas em termos individuais ou coletivos. Esta rapidez no diagnóstico é essencial para a prevenção da infecção hospitalar, em cuja etiologia os vírus respiratórios ocupam lugar de destaque (VALENTI, 1992).

O salto de qualidade nas técnicas diagnósticas permite a identificação de agente causal em aproximadamente 75% dos casos de ITRI e os agentes mais comuns em todas as idades são os vírus respiratórios, como a causa ou como facilitadores da infecção bacteriana secundária (HALL, 1988; SCHUTZE; JACOBS, 1994).

1.7. Justificativa

Detecção rápida de vírus respiratório permite medidas preventivas e terapêuticas mais adequadas, principalmente para o grupo de risco para doença respiratória grave, podendo melhorar o prognóstico destes doentes. Deve-se considerar ainda que muitas prescrições médicas são empíricas, presuntivas e baseadas em antibióticos em casos de infecções respiratórias virais (BERTINO, 2002). O diagnóstico de infecção viral em pacientes hospitalizados orienta as precauções de controle de infecção hospitalar e limita o uso inapropriado de antibióticos. Há muitas vantagens ao usar testes sistemáticos de diagnóstico etiológico nas infecções agudas do aparelho respiratório (SCHMITT, 2007):

- vantagens individuais - conhecer a etiologia da doença, reduzir o número de intervenções (radiografias, exames de sangue), oferecer melhor tratamento, reduzir efeitos colaterais/custo/dor causada pelas intervenções;
- vantagens para a saúde pública - conhecer a situação epidemiológica, ensinar/educar os médicos, oferecer sistema de alerta sobre epidemias, reduzir hospitalizações, reduzir uso de antibióticos, prever epidemias;
- vantagens para a pesquisa - descrição da epidemiologia, estudos de coorte (p. ex.: desenvolvimento de asma), estudos imunológicos (tipo de imunidade seguida de infecção), modelo de disseminação de vários organismos, suscetibilidade genética a infecção viral aguda, etc.

Weigl e colaboradores (2007) estudaram durante 10 anos, mais de 20.000 espécimes de ANF e relataram que os achados levaram ao desenvolvimento de intervenções eficientes contra as causas mais comuns de IRA e não somente contra a influenza. Reduziram o uso de antibióticos na instituição onde trabalham ensinando sobre a evolução clínica e a grande variabilidade de apresentações clínicas e, durante as epidemias, reduziram o uso de intervenções diagnósticas como radiografias ou testes laboratoriais. Esse estudo permitiu que os pediatras da Alemanha adaptassem o uso da imunoglobulina contra o VRS às suas necessidades e detectou o ciclo de outros vírus.

Os dados obtidos no Laboratório de Virologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) envolvendo aspectos sazonais, clínicos e de frequência dos vírus investigados, além de dados demográficos do paciente, constituirão informações que poderão amenizar os impactos clínicos e sócio-econômicos que essas doenças ocasionam. Um exemplo disto é que para formalização de um projeto para prevenção de

doença por VRS em crianças de grupo de risco com o uso de anticorpos monoclonais exige, para estabelecimento de estratégias, o conhecimento da circulação do vírus que ocorre de forma diferente nas várias regiões.

No Brasil, há poucos estudos relativos às IRAs, especificamente no Triângulo Mineiro. Os primeiros resultados sobre a incidência das IRAs por vírus foram obtidos pelo grupo do Laboratório de Virologia da UFU. O monitoramento rápido de vírus respiratórios contribuiu para vigilância clínica/epidemiológica das doenças respiratórias em crianças menores de cinco anos de idade atendidas no Hospital de Clínicas da UFU (HC-UFU), permitindo a compreensão dos aspectos epidemiológicos e clínicos dos vírus respiratórios que mais frequentemente afetaram essas crianças.

Há necessidade de estudos para avaliar o papel dos vírus na gênese de internações de crianças com IRA e a associação destes agentes virais com a faixa etária, gênero e quadro clínico assim como seu papel nas infecções hospitalares. A fim de realizar a vigilância dos principais agentes das IRAs e traçar seu perfil etiológico e epidemiológico, utilizamos ensaios com IFI e RT-PCR que oferecem maior sensibilidade e diagnósticos mais oportunos das infecções virais (ERDMAN, 2003; WEINBERG, 2004). Foram avaliadas as características demográficas, clínicas e epidemiológicas de crianças menores de cinco anos de idade com IRA atendidas e internadas no HC-UFU, MG, Brasil.

2. Objetivos

2.1. Objetivo primário

Descrever os aspectos clínicos de doenças respiratórias agudas por vírus em crianças menores de cinco anos de idade atendidas em Serviços de Saúde Pública da cidade de Uberlândia, MG;

2.2. Objetivos secundários

- Avaliar fatores de risco intrínsecos ao hospedeiro quanto à frequência e gravidade de doenças respiratórias agudas virais.
- Conhecer a sazonalidade do VRS na região para formular propostas de profilaxia específica.
- Delinear medidas preventivas e de tratamento adequadas às doenças respiratórias agudas virais.

3. Materiais e métodos

Este estudo propôs descrever os aspectos clínicos, fazer correlação clínico-etiológica e avaliação de gravidade e evolução das DRAs por vírus em um grupo de crianças atendidas ou internadas em um hospital público da cidade de Uberlândia, MG, no período de abril de 2000 a outubro de 2010.

3.1 População de estudo

Amostras de aspirado de nasofaringe (ANF) de crianças menores de cinco anos de idade com sintomas clínicos de IRA foram coletadas após assinatura do termo de consentimento escrito dos pais ou responsáveis. As crianças com IRA foram atendidas ou internadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU).

Foram incluídas no estudo crianças menores de cinco anos de idade que apresentavam manifestações clínicas de doença respiratória aguda com menos de cinco dias do início, atendidas ou internadas em uma unidade de atendimento pediátrico do HC-UFU no período da manhã de segunda a sexta feira, quando ANF de até quatro pacientes foram coletadas.

Os ANF foram coletados nas seguintes unidades hospitalares: (i) pronto atendimento de pediatria (PAP), (ii) pronto socorro pediátrico (PS), (iii) enfermaria de pediatria (ENF), (iv) terapia intensiva pediátrica (UTI) e v) unidade de neonatologia, incluindo UTI neonatal (NEO). Uma ficha contendo dados demográficos, presença de comorbidades e sintomas clínicos (anexo II) foi preenchida pelo pediatra responsável pelo atendimento da criança, no momento da coleta da amostra. Posteriormente fizemos busca retrospectiva nos prontuários médicos de dados para definição do diagnóstico final de alta, determinação da gravidade e evolução clínica dos pacientes. A partir destes dados, os diagnósticos foram uniformizados de acordo com o disposto abaixo (item 3.6)

O projeto deste estudo recebeu parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa desta Universidade (CEP/UFU), protocolado sob n°. 018/2000.

3.2 Espécimes clínicos

3.2.1 Coleta - o ANF foi obtido após instilação de 0,5mL de soro fisiológico em cada narina e a coleta foi feita pela aspiração utilizando-se um catéter por um sistema a vácuo. O material colocado em frasco contendo 1mL de PBS (“phosphate-buffered

saline”, pH 7,2) foi transportado em gelo para o Laboratório de Virologia onde foi processado no período máximo de 4 horas após a coleta (OLIVEIRA, 2008).

3.2.2 Processamento - as amostras clínicas foram processadas conforme previamente descrito por Queiróz e colaboradores (2002). A figura 2 mostra o fluxograma do processamento das amostras. Os espécimes foram divididos em alíquotas: (i) a primeira foi acrescida de meio de congelamento e armazenada em nitrogênio líquido para posterior inoculação em cultura de células (CC), (ii) duas foram armazenadas *in natura* em freezer -70°C para extração de RNA e DNA, (iii) o restante da secreção foi centrifugado e obtido o sobrenadante, que também foi armazenado a -70°C e (iv) o sedimento restante foi utilizado para detecção de vírus respiratórios pelo ensaio de imunofluorescência indireta (IFI).

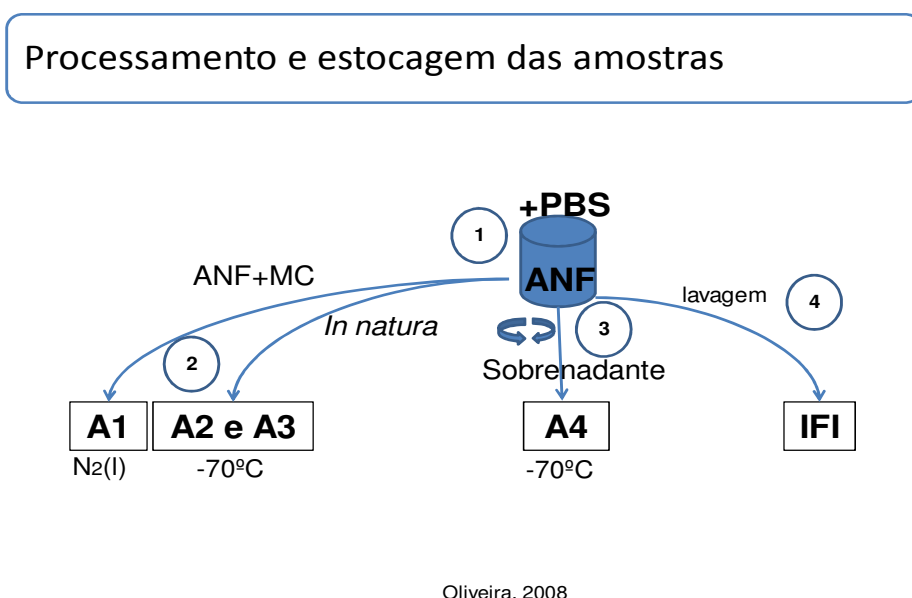


Figura 2 – Fluxograma da coleta ao processamento dos espécimes de ANF

3.3 Ensaio de imunofluorescência indireta (IFI) - os espécimes foram tratados com uma mistura de anticorpos monoclonais (MAbs) antivírus respiratórios do *Respiratory Panel I Viral Screening and Identification Kit* (Chemicon International, Inc., Temecula, CA), conforme instruções do fabricante, para detecção do VRS, vírus influenza A e B, parainfluenzavírus 1, 2 e 3 e adenovírus. Os referidos reagentes foram gentilmente cedidos pelo Dr. Dean Erdman do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, USA e Dra. Marilda Siqueira (Fiocruz/ Rio de Janeiro). Amostras

negativas e/ou inconclusivas e para pesquisa de HRV e hMPV foram testadas pela RT-PCR.

3.4 Extração do RNA viral - o RNA total proveniente dos espécimes de nasofaringe, foi extraído pelo método guanidina-isotiocianato-fenol (Trizol® - Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA), utilizando 125µL da amostra clínica *in natura* e 375µL de Trizol®, de acordo com recomendações do fabricante. Foi posteriormente ressuspenso com água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC – Ambion, Inc. Austin, TX). Do RNA viral isolado, foi obtido um DNA complementar (cDNA), seguida de sua amplificação.

3.5 Teste de amplificação por RT-PCR– as reações de transcrição reversa e de amplificação foram realizadas conforme descrito por Arruda & Hayden (1993), para o HRV; e por Mirazo e colaboradores (2005), para o hMPV. Os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose com brometo de etídeo 1,5% e 2%, respectivamente para o rinovírus e metapneumovírus e em seguida foram visualizados em transiluminador com luz ultravioleta.

Os “primers” utilizados, descritos por Arruda & Hayden (1993), foram gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Eurico Arruda Neto, da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil e os descritos por Mirazo (2005) foram doados por Dr. Jonny Yokosawa do NG Biotecnologia, Ltda, São Paulo, SP, naquela oportunidade.

3.6 Diagnósticos clínicos e avaliação de gravidade - as IRAs foram caracterizadas como ITRS incluindo o resfriado comum, rinofaringite, otite média aguda, e como ITRI incluindo laringite, laringotraqueobronquite, bronquite, traqueobronquites, bronquite sibilante, bronquiolite e pneumonia.

Os critérios para definição de doença do trato respiratório inferior foram clínicos e/ou radiológicos. Os critérios clínicos foram: tosse, dificuldade para respirar e presença de roncos, sibilos ou crepitações difusos ou localizados no exame físico do tórax. Os critérios radiológicos foram à presença de hiperinsuflação pulmonar difusa e/ou velamento alveolar e/ou infiltrado intersticial. Para fins de avaliação dos diagnósticos foram utilizadas as seguintes definições:

Resfriado comum – quadro caracterizado por febre, coriza, congestão nasal, dolorimento na garganta, com tosse ausente ou discreta, sem taquipnéia ou dispnéia e ausculta torácica normal.

Traqueobronquite aguda – quadro de tosse moderada ou acentuada, com roncos e/ou creptações grosseiras à ausculta torácica e radiografia de tórax sem infiltrados intersticial ou alveolar.

Laringotraqueobronquite aguda (crupe) – caracterizada por tosse ladrante, voz e/ou choro roucos, estridor inspiratório, com ou sem sibilos e diferentes graus de taquidispnéia. A gravidade foi avaliada de acordo com o escore de Taussig e colaboradores (1975).

Infecção respiratória com sibilância ou bronquite sibilante – quadro de infecção respiratória aguda com sinais de obstrução de vias aéreas inferiores que não seja caracterizado como bronquiolite. A tradução clínica é a presença de expiração prolongada e/ou ausculta de sibilos.

A gravidade das doenças do TRI, excetuando bronquiolite e pneumonia, foi avaliada adotando o escore de gravidade de crupe (WESTLEY; COTTON; BROOK, 1978) acrescido da medida da saturação periférica de oxigênio (SpO₂) pela oximetria digital considerando como quadros leves SpO₂ >95%, moderados com SpO₂ entre 90% e 95% e graves com SpO₂ < 90%.

Bronquiolite – doença respiratória caracterizada pela presença de taquidispnéia com retrações intercostais e ausculta de sibilos com creptações com sinais de infecção respiratória aguda por vírus, ocorrendo pela primeira vez em uma criança menor de dois anos de idade. O RX de tórax pode mostrar presença de hiperinsuflação pulmonar, infiltrados intersticiais e atelectasias. A gravidade foi definida conforme escore clínico. Para avaliação de gravidade foi utilizado o “score” de Heiser e Downes adaptado de Fischer (1994), com medida da saturação periférica de oxigênio (SpO₂) pela oximetria digital considerando quadros leves com SpO₂ >95%, moderados com SpO₂ entre 90% e 95% e graves com SpO₂ < 90%.

Pneumonia aguda – doença pulmonar infecciosa aguda, caracterizada pela presença de manifestação respiratória (tosse ou dificuldade respiratória), taquipnéia e alterações radiológicas cuja expressão radiológica é o infiltrado intersticial e/ou condensação alveolar. Os valores da frequência respiratória são aquelas definidas pela OMS (OMS). Para inclusão no estudo foram consideradas as pneumonias e broncopneumonias indistintamente. A gravidade foi definida conforme critérios previstos nas Diretrizes

Brasileiras em Pneumonia Adquirida na Comunidade – 2007 e OMS (2005), valorizando os dados clínicos, acrescidos de parâmetros objetivos, como a medida da saturação periférica de oxigênio (SpO₂).

Para comparação do tempo de hospitalização entre crianças internadas por causa da IRA e aquelas que estavam internadas por outras patologias e adquiriram infecção dentro do hospital, foi considerado, para o segundo grupo, o período de evolução da doença respiratória até o momento em que preenchesse critérios para alta hospitalar, de acordo com dados constantes no prontuário médico.

3.7 Análise estatística – O processamento e a análise de dados foram realizados utilizando-se o programa EPI INFO 3.5.2 (2010) com nível de significância estatística de 0,05, correção de Yates. Para análise de dados pareados utilizou-se o teste do qui-quadrado.

4. Resultados

No período de estudo foram coletados espécimes de ANF de acordo com a distribuição apresentada na tabela 1 e figura 1. O maior número de amostras foi coletada nos primeiros anos do estudo e nos dois trimestres iniciais.

Tabela 1. Número de amostras coletadas por trimestre durante os anos de estudo

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	Total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
1° trim.	-	32 (6,0)	16 (3,0)	28 (5,2)	16 (3,0)	8 (1,5)	2 (0,4)	13 (2,4)	7 (1,3)	1 (0,2)	9 (1,7)	132 (24,7)
2° trim.	2 (0,4)	71 (13,3)	41 (7,7)	45 (8,4)	36 (6,7)	15 (2,8)	6 (1,1)	19 (3,6)	8 (1,6)	10 (1,9)	27 (5,0)	280 (52,3)
3° trim.		26 (4,6)	30 (5,6)	8 (1,5)	4 (0,7)	1 (0,2)	12 (2,2)	4 (0,7)	3 (0,6)	4 (0,7)	1 (0,2)	93 (17,4)
4° trim.		14 (2,6)	4 (0,7)	-	3 (0,6)	2 (0,4)	1 (0,2)	3 (0,6)	-	2 (0,4)	1 (0,2)	30 (5,6)
Total	2 (0,4)	143 (26,7)	91 (17,0)	81 (15,1)	59 (11,0)	26 (4,9)	21 (3,9)	39 (7,3)	18 (3,4)	17 (3,2)	38 (7,1)	535 (100,0)

n= n° de amostras; trim.= trimestre

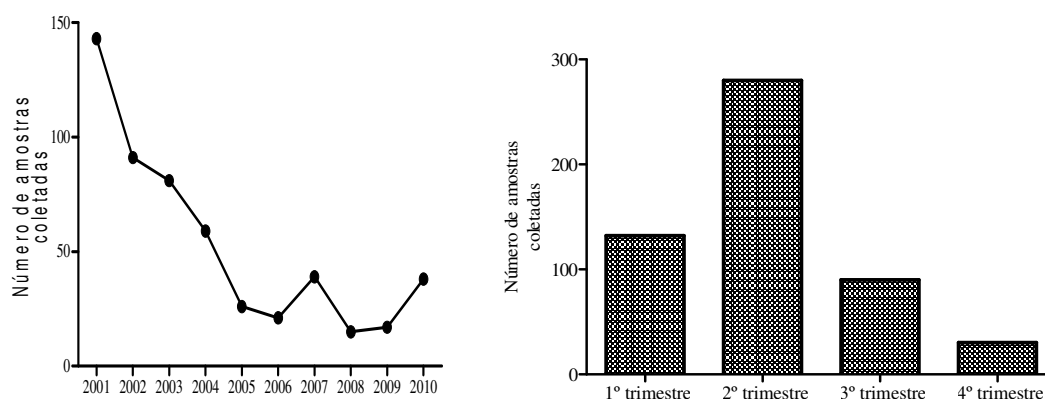


Figura 3. Número de amostras coletadas por ano de estudo (A) e de acordo com o trimestre de coleta (B).

Características demográficas e clínicas: espécimes foram coletados de 535 crianças (57,0% meninos) menores de cinco anos de idade, sendo que dessas, 249 (46,5%) foram internadas [125/249 (23,4%) na enfermaria, 79/249 (14,8%) na UTI e 45/249 (8,4%) no berçário]. O restante dos pacientes (286 - 53,5%) recebeu atendimento no pronto atendimento de pediatria (PAP) e no pronto socorro de pediatria (PS).

A média de idade dos pacientes que foram internados era de 6,6 meses (10 dias a 71 meses) e a dos que não foram internados foi de 17,8 meses (28 dias a 66 meses) e as medianas foram de três meses e de 14 meses, respectivamente. Os dados demográficos e clínicos relativos às 535 crianças são mostrados na tabela 2.

Tabela 2. Dados clínicos e demográficos das crianças com doença respiratória aguda, incluídas no estudo

Idade em meses	Masc. / Fem. (%)	TRS (%)	TRI (%)	*Internados n=249 (46,5)			**Não internados (%)	Doença leve (%)	Doença moderada e grave (%)	Co-morbidade (%)	Pesquisa de vírus positiva (%)	Nenhum vírus detectado (%)	Total
				ENF (%)	UTI (%)	NEO (%)							
≤3	87/70 (16,3/13,1)	18 (3,4)	139 (26,0)	52 (9,7)	39 (7,3)	44 (8,2)	26 (4,9)	52 (9,7)	105 (19,6)	66 (12,3)	130 (24,3)	27 (5,0)	157 (29,3)
3 - <6	50/32 (9,3/6,0)	16 (3,0)	66 (12,3)	24 (4,5)	20 (3,7)	4 (0,7)	34 (6,4)	43 (8,0)	39 (7,3)	34 (6,4)	63 (11,8)	19 (3,4)	82 (14,2)
6 - <12	57/37 (10,6/6,9)	24 (4,5)	70 (13,1)	17 (3,2)	10 (1,7)	1 (0,2)	66 (12,3)	71 (13,3)	23 (4,3)	22 (4,1)	78 (14,6)	16 (2,8)	94 (17,7)
12- <24	59/45 (11,0/8,4)	45 (8,4)	59 (11,0)	18 (3,4)	7 (1,3)	-	79 (14,8)	87 (16,3)	17 (3,2)	23 (4,3)	86 (16,1)	18 (3,4)	104 (19,2)
≥24	52/46 (9,7/8,6)	46 (8,6)	52 (9,7)	14 (2,6)	3 (0,6)	-	81 (15,1)	86 (16,1)	12 (2,2)	12 (2,2)	73 (13,6)	25 (4,7)	98 (18,3)
Total	305/230 (57,0/43,0)	149 (27,9)	386 (72,1)	125 (23,4)	79 (14,8)	45 (8,4)	286 (53,5)	339 (63,4)	196 (36,6)	157 (29,3)	430 (80,4)	105 (19,6)	535 (100,0)

Masc.=masculino; Fem.=feminino; TRS = trato respiratório superior; TRI= trato respiratório inferior; ENF= enfermaria de pediatria; UTI= unidade de terapia intensiva; NEO= berçário e unidade de terapia intensiva neonatal.

Doença do TRS foi o diagnóstico de 27,9% das crianças incluídas neste estudo, contra 72,1% com doença do TRI. A faixa etária menor de três meses representou 29,3% do total das crianças e as de idade entre três e seis meses, 14,2%; quase a metade dos pacientes (43,5%) tinha menos de seis meses de idade, apresentaram maior frequência de doença do TRI (53,1% - 205/385), com evolução entre moderada a grave (73,5% - 144/205), foram mais hospitalizadas (73,5% - 183/249) e a maioria das crianças tinha pelo menos uma comorbidade (63,7% - 100/146). Crianças de seis a doze meses representaram 17,7%, de 12 a 24 meses, 19,2% e maiores de 24 meses, 18,3%, respectivamente. A maioria absoluta teve pelo menos um vírus detectado.

Pesquisa de vírus: todas as amostras foram submetidas ao ensaio de imunofluorescência indireta (40,2% positivas), e 341 dessas também foram submetidas à reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa (RT-PCR), incluindo as amostras que foram negativas ou inconclusivas para IFI (59,8%). Com os dois testes, em 430 (80,4%) amostras, foi possível identificar um ou mais agentes virais, sendo 229 (54,4% das amostras positivas) obtidos de doentes não internados e 201 (45,6% das amostras positivas) de doentes internados.

Um único agente foi encontrado em 85,1% das amostras positivas (366/430); e dois agentes (codeteccção), em 14,9% (64/430), totalizando 494 vírus identificados.

HRV - identificado 187 vezes (37,9%) - 125 infecção simples e 62 codeteccções

VRS - identificado 176 vezes (35,6%) - 145 infecção simples e 31 codeteccções

PIV - identificado 46 vezes (9,3%)

FLU - identificado 36 vezes (7,3%)

AdV - identificado 31 vezes (6,3%)

hMPV - identificado 17 vezes (3,4%)

Codeteccções - 64 (14,9%): HRV presente 62 vezes, em 48,4% com VRS, 4 vezes com FLU, 6 com hMPV, 14 com PIV e 6 com AdV; AdV com VRS A e PIV 1.

Das amostras coletadas de doentes internados, em 165 (82,1%) foi identificado um único agente e em 36 (17,9%) dois vírus foram detectados. Entre os doentes não internados, 201 (87,8%) apresentaram infecção simples e 28 (12,2%), codeteccção. O HRV representou 37,9% do total dos vírus identificados (187/494), sendo 125 em infecção simples e 62 em codeteccções, seguido pelo VRS com 35,6% (176/494), PIV

(9,3% - 46/494), FLU (7,3% - 36/494), AdV (6,3% - 31/494) e hMPV (3,4% - 17/494). Das 64 codeteccões, o HRV esteve presente 62 vezes, quase metade delas (48,4%) com VRS, quatro com FLU, seis com hMPV, 14 com PIV e seis com AdV. O AdV esteve presente em codeteccão com VRS A e PIV 1.

O VRS e o HRV, em infecções simples ou codeteccões (um com outro ou com outros agentes) foram identificados em mais de 70% de todos os casos.

A figura 4 mostra a porcentagem dos casos de crianças menores de cinco anos de idade com doença respiratória aguda, investigadas para presença de vírus (IFI + RT-PCR).

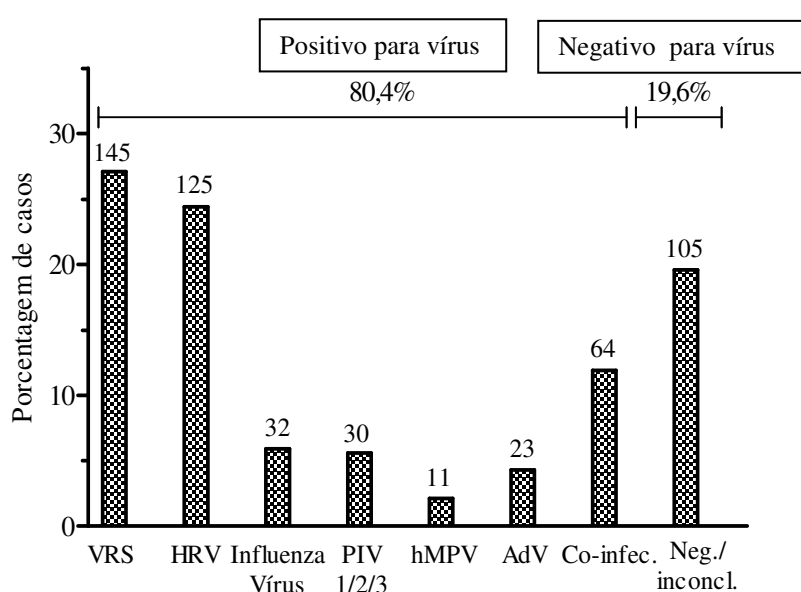


Figura 4. Porcentagem dos casos e número absoluto de crianças menores de cinco anos de idade com doença respiratória aguda, investigados para presença de vírus (IFI + RT-PCR).

Distribuição das amostras positivas por faixa etária e diagnósticos: dentre as crianças não internadas, 10,0% eram menores de três meses de idade, 11,3% tinha idade entre três e seis meses, 23,6% entre seis e doze meses, 28,8% com idade de 12 a 24 meses e 14,0% eram maiores de 24 meses. Dentre as internadas, 52,7% eram menores de três meses de idade, 18,4% tinha idade entre três e seis meses, as de seis a doze meses eram 11,9%, as de 12 a 24 meses eram 10,4% e aquelas maiores de 24 meses eram 6,5% do total. A tabela 3 mostra a distribuição dos diagnósticos nas várias faixas etárias nos dois grupos de crianças.

Tabela 3. Síndromes clínicas em crianças não internadas e internadas de acordo com a faixa etária dos 430 casos de doença respiratória aguda com agente viral identificado.

Idade em meses	Não internados n =229 (53,3%)					Internados n =201 (46,7%)				
	TRS	BQLT	PNM	Outro	Total	TRS	BQLT	PNM	Outro	Total
< 3	7 (3,1)	8 (3,5)	–	8 (3,5)	23 (10,0)	4 (1,9)	56 (27,9)	22 (10,9)	24 (11,9)	106 (52,7)
3 - < 6	10 (4,4)	6 (2,6)	–	10 (4,4)	26 (11,3)	–	22 (10,9)	3 (1,5)	12 (5,9)	37 (18,4)
6 - <12	20 (8,7)	3 (1,3)	–	31 (15,3)	54 (23,6)	–	9 (4,5)	3 (1,5)	12 (5,9)	24 (11,9)
12 - < 24	38 (15,6)	1 (0,4)	1 (0,4)	26 (11,3)	66 (28,8)	1 (0,5)	–	1 (0,5)	19 (9,4)	21 (10,4)
> 24	31 (7,2)	–	–	29 (6,7)	60 (14,0)	3 (1,5)	–	1 (0,5)	9 (4,5)	13 (6,5)
Total	106 (24,7)	18 (4,2)	1 (0,4)	104 (25,3)	229(100,0)	8 (3,9)	87 (43,3)	30 (14,9)	76 (37,8)	201 (100,0)

TRS – trato respiratório superior; BQLT – bronquiolite; PNM – pneumonia; Outro – laringite, traqueobronquite, laringotraqueobronquite, bronquite, bronquite sibilante.

Não houve diferença quanto à frequência de casos que não foram hospitalizados e aqueles que levaram à hospitalização, 53,3% e 46,7%, respectivamente. A faixa etária foi maior no grupo dos não internados em relação aos internados: 21,4% (49/229) dos não internados tinham menos de seis meses de idade, enquanto 71,1% das crianças nessa mesma faixa etária foram internadas (143/201) ($p < 0,001$).

A principal condição clínica das crianças internadas foi a bronquiolite, e das não internadas foi infecção do TRS. Doença do TRS foi o diagnóstico de 114 (26,6%) crianças (24,7% não internados); 105 (24,4%) tiveram bronquiolite (4,2% não internados); 31 (7,2%) pneumonias (0,2% não internados) e 180 (41,9%) outras infecções do TRI (incluindo laringotraqueobronquites, traqueobronquites, bronquites, bronquites sibilantes), 25,3% não internados. A figura 3 mostra que o VRS foi o único agente de infecção responsável por um maior número de hospitalizações ($p < 0,05$).

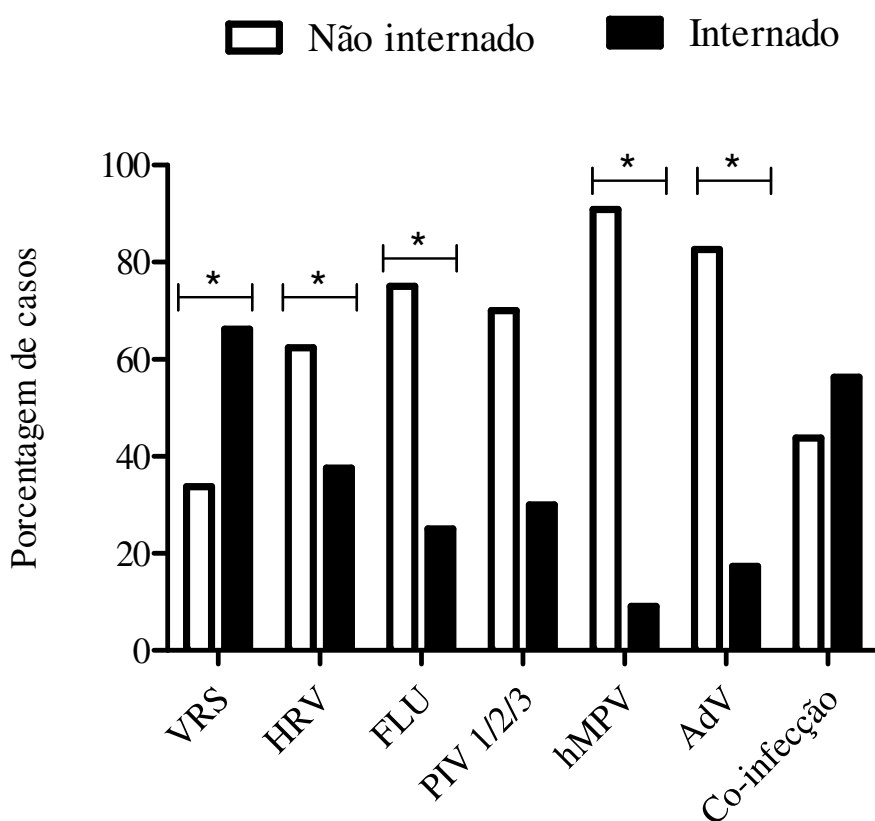


Figura 5. Porcentagem de casos internados vs. não internados para cada agente de infecção respiratória aguda viral em crianças menores de cinco anos de idade.

Doentes não internados: a tabela 4 mostra a distribuição das amostras coletadas de doentes não internados de acordo com a faixa etária, os vírus identificados em cada faixa etária e a relação dos quadros clínicos com os agentes virais isolados. O HRV foi responsável por 34,1% dos casos, seguido pelo VRS com 21,4%, pelas coinfeções com 12,2%, FLU com 10,5%, PIV com 9,2%, AdV com 8,3% e hMPV com 4,4%.

Doenças do TRS e doenças leves do TRI representaram 98,7% (226/229) dos quadros clínicos e apenas 3/229 doentes apresentaram quadro clínico de moderada gravidade (dois com bronquiolite - com boa resposta à medicação broncodilatadora e que tiveram alta da unidade de emergência - e um com pneumonia, tratado no domicílio). Aproximadamente 15% (36/229) dos doentes apresentaram doença sibilante e isto foi observado com todos os vírus, com predominância do VRS e HRV, ambos com a mesma responsabilidade. O HRV seguido pelo VRS foram os agentes predominantes e causaram 55,5% dos quadros clínicos.

Tabela 4. Distribuição dos doentes não internados por faixa etária, vírus identificados e diagnósticos clínicos.

	Gênero	Vírus identificados							Total
	M / F n	VRS n (%)	HRV n (%)	FLU n (%)	PIV n (%)	AdV n (%)	hMPV n (%)	CoINF n (%)	
Faixa etária									
< 3 meses	9 / 14	8 (3,5)	9 (3,9)	0	0	0	1 (0,4)	5 (2,2)	23 (10,0)
3 a 6 meses	16 / 10	8 (3,5)	10 (4,4)	2 (0,9)	2 (0,9)	0	0	4 (1,7)	26 (11,4)
6 a 12 meses	34 / 21	11 (4,8)	18 (7,9)	3 (1,3)	5 (2,2)	10 (4,4)	3 (1,3)	5 (2,2)	55 (24,0)
1 a 2 anos	34 / 31	13 (5,7)	18 (7,9)	11 (4,8)	7 (3,0)	5 (2,2)	1 (0,4)	10 (4,4)	66 (28,8)
> 2 anos	35 / 25	9 (3,9)	23 (10,0)	8 (3,5)	7 (3,0)	4 (1,7)	5 (2,2)	4 (1,7)	60 (26,2)
	128 / 101	49 (21,4)	78 (34,1)	24 (10,5)	21 (9,2)	19 (8,3)	10 (4,4)	28 (12,2)	229 (100,0)
Diagnósticos									
Doença do TRS	63 / 43	20 (8,7)	37 (16,2)	17 (7,4)	11 (4,8)	8 (3,5)	3 (1,3)	10 (4,3)	106 (46,3)
Bronquite sibilante	18 / 19	9 (3,9)	10 (4,4)	1 (0,4)	2 (0,9)	6 (2,6)	2 (0,9)	6 (2,6)	36 (15,7)
Bronquiolite	9 / 9	6 (2,6)	5 (2,2)	0	0	1 (0,4)	1 (0,4)	5 (2,2)	18 (7,9)
Pneumonia	1 / 0	0	1 (0,4)	0	0	0	0	0	1 (0,4)
Outras do TRI	37 / 31	14 (6,0)	25 (11,1)	6 (2,6)	8 (3,4)	4 (1,7)	4 (1,7)	7 (3,4)	68 (29,7)
Vírus isolados	128 / 101	49 (21,4)	78 (34,2)	24 (10,3)	21 (9,0)	19 (8,1)	10 (4,3)	28 (12,8)	229 (100,0)

Doentes internados: a tabela 5 mostra a distribuição das amostras de doentes internados de acordo com diagnóstico, gravidade do quadro clínico e relação com vírus isolado.

Tabela 5. Distribuição das amostras de doentes internados de acordo com diagnóstico, gravidade do quadro clínico e relação com vírus isolado:

		VRS n(%)	HRV n(%)	Outros vírus n(%)	CoINF n(%)	Total n(%)
TRS		1 (0,5%)	4 (2,0%)	2 (1,0%)	1 (0,5%)	8 (4,0%)
BQLTE	Leve	1 (0,5%)	1 (0,5%)	1 (0,5%)	1 (0,5%)	4 (2,0%)
	Moderada	28 (13,9%)	6 (3,0%)	3 (1,5%)	9 (4,5%)	46 (22,9%)
	Grave	24 (11,9%)	4 (2,0%)	2 (1,0%)	7 (3,5%)	37 (18,4%)
PNM	Leve	3 (1,5%)	0	1 (0,5%)	0	4 (2,0%)
	Moderada	0	1 (0,5%)	0	1 (0,5%)	2 (1,0%)
	Grave	13 (6,5%)	5 (2,5%)	2 (1,0%)	4 (2,0%)	24 (11,9%)
OUTRAS	Leve	12 (6,0%)	11 (5,5%)	3 (1,5%)	3 (1,5%)	29 (14,4%)
	Moderada	10 (5,0%)	12 (6,0%)	5 (2,5%)	6 (3,0%)	33 (16,4%)
	Grave	4 (2,0%)	3 (1,5%)	3 (1,5%)	4 (2,0%)	14 (7,0%)
Total		96 (47,8%)	47 (23,4%)	22 (10,9%)	36 (17,9%)	201 (100,0)

Outros vírus: FLU/AdV/PIV/hMPV; TRS - trato respiratório superior; BQLTE – bronquiolite; PNM – pneumonia.

Entre os doentes que foram internados, o VRS foi responsável por 47,8% dos casos, o HRV por 23,4%, as codeteções por 17,9% e dentre os outros vírus, os PIV responderam por 4,5%, os FLU por 4,0%, os AdV por 2,0% e os hMPV por apenas 0,5%. Doença leve (TRS e TRI) foi identificada em 45/201 (22,4%) crianças e doença moderada ou grave em 156/201 (77,6%) sendo 83 bronquiolites, 26 pneumonias e em 47, outras doenças do TRI. O VRS foi responsável por 79/156 (50,6%) casos de gravidade moderada/grave, codeteções por 31/156 (19,9%), HRV por 31/156 (19,9%) e dentre os outros vírus, os PIV responderam por 7/156 (4,5%), FLU por 6/156 (3,8%), AdV por 3/156 (1,9%) e hMPV por apenas 1/156 (0,6%). Excluindo as crianças com diagnóstico de bronquiolite, 35 (17,4%) apresentaram doença sibilante.

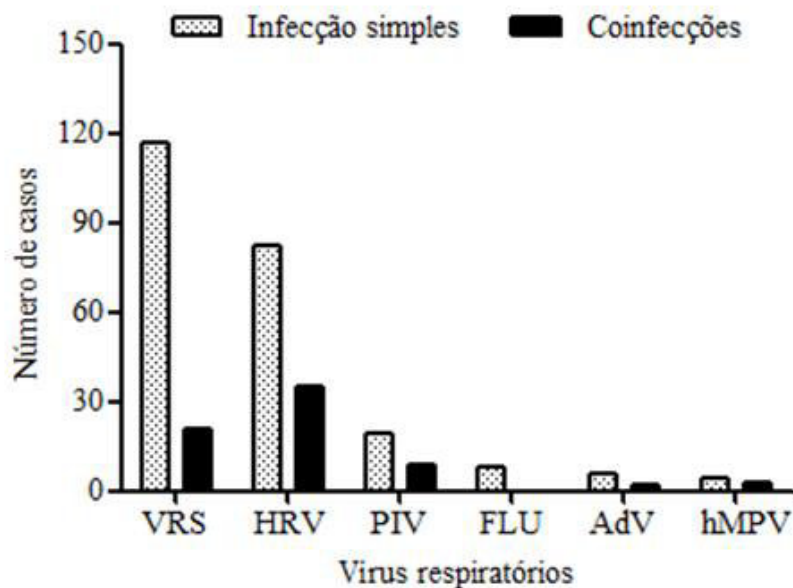


Figura 6. Identificação de vírus respiratórios pela IFA e/ou (RT-)PCR em casos de infecções simples e coinfeções em crianças menores de cinco anos de idade hospitalizadas no HCU-UFU.

Cerca da metade dos doentes internados (50,7%) apresentava alguma comorbidade e/ou foram prematuros (47 foram prematuros, 23 dos quais sem outras patologias). Aquelas crianças previamente saudáveis internaram por causa da infecção respiratória aguda moderada/grave ou por alguma complicação: artrite séptica, pneumonia lobar com derrame pleural, uma criança com infecção pelo VRS desenvolveu choque hipovolêmico com insuficiência renal aguda e hipernatremia; em outra que apresentou exantema morbiliforme com edema de MMII e adenopatia cervical também foi identificado VRS e outra criança que apresentou com infecção dupla por HRV/hMPV teve pleiocitose liquórica; duas crianças apresentaram arritmia cardíaca, uma delas com infecção pelo HRV e outra com infecção dupla pelo HRV/VRS A. Entre os prematuros, 23/47 (48,9%) não apresentavam outras patologias, sete (14,9%) eram portadores de cardiopatias diversas, 14 (29,8%) eram portadores de displasia broncopulmonar (três tinham também cardiopatia, um tinha enfisema lobar congênito operado e dois tinham síndrome de Pierre Robin, um deles também com hidrocefalia; outra criança apresentava miopatia nemalínica e era dependente de ventilação mecânica, um estava internado com artrite séptica e outro com anemia grave. Duas crianças apresentaram arritmia cardíaca (infectadas por HRV e HRV/VRS A); uma criança com seis meses de idade, nascida de 28 semanas, pesando 850 gramas e apresentando displasia broncopulmonar, teve pneumonia grave pelo VRS A, evoluindo para óbito após nove dias de internação.

Tabela 6. *Dados clínicos dos doentes internados com comorbidade e/ou prematuridade e os previamente saudáveis.*

	Crianças com prematuridade e/ou comorbidades				Crianças previamente saudáveis			
	Grupo 1 (N=102)				Grupo 2 (N=99)			
	VRS (%)	HRV (%)	Outros* (%)	Codeteccões (%)	VRS (%)	HRV (%)	Outros* (%)	Codeteccões (%)
Sinais/sintomas	T=41 (40.2)	T=33 (32.3)	T=11 (10.8)	T=17 (16.7)	T=55 (55.5)	T=14 (14.1)	T=12 (12.1)	T=18 (18.2)
Febre	14 (13.7)	15 (14.7)	10 (9.8)	5 (4.9)	31 (31.3)	7 (7.1)	6 (6.1)	12 (12.1)
Tosse	41 (40.2)	26 (25.5)	10 (9.8)	15 (14.7)	51 (51.5)	12 (12.1)	12 (12.1)	17 (17.2)
Dispneia	41 (40.2)	22 (21.6)	8 (7.8)	15 (14.7)	51 (51.5)	13 (13.1)	11 (11.1)	17 (17.2)
Cianose	14 (13.7)	4 (3.9)	5 (4.9)	3 (2.9)	11 (11.1)	2 (2.0)	2 (2.2)	2 (2.2)
Apnea	8 (7.8)	3 (2.9)	1 (1.0)	2 (2.0)	9 (9.1)	1 (1.1)	-	1 (1.1)
Sibilos	19 (18.6)	12 (11.8)	5 (4.9)	9 (8.8)	35 (35.3)	8 (8.9)	5 (5.5)	12 (12.1)
Gravidade								
Leve	10 (9.8)	12 (11.8)	4 (3.9)	2 (2.0)	3 (3.3)	4 (4.4)	1 (1.1)	1 (1.1)
Moderada	14 (13.7)**	14 (13.7)	1 (1.0)	8 (7.8)	29 (29.3)**	6 (6.7)	9 (10.0)	12 (12.1)
Grave	17 (16.7)**	7 (6.9)	3 (2.9)	7 (6.9)	23 (23.2)**	4 (4.4)	3 (3.3)	5 (5.5)
IOT+VM	7 (6.9)	6 (5.9)	3 (2.9)	2 (2.0)	8 (8.1)	1 (1.1)	1 (1.1)	2 (2.2)
Dias de hospitalização								
≤5dias	4 (3.9)	4 (3.9)	1 (1.0)	4 (3.9)	25 (25.2)	8 (7.8)	6 (6.7)	9 (9.1)
6 a 10dias	12 (11.8)	4 (3.9)	4 (3.9)	3 (2.9)	13 (13.1)	5 (4.9)	4 (4.4)	8 (8.9)
>10dias	25 (24.5)*	25 (24.5)**	6 (5.9)	10 (9.8)	17 (17.2)*	1 (1.0)**	2 (2.2)	1 (1.0)

*vírus da influenza, parainfluenza virus, adenovírus e metapneumovirus humano;
IOT – intubação orotraqueal; VM – ventilação mecânica.

**VRS do grupo 2 causou mais doença moderada grave que no grupo 1 ($p < 0,002$) pelo teste do qui-quadrado.

*VRS e HRV do grupo 1 determinaram mais internação prolongada (mais de 10 dias) que o grupo 2 ($p < 0,002$) pelo teste do qui-quadrado.

Das 54 crianças não prematuras com comorbidades, 28 (51,9%) apresentavam cardiopatias (cinco delas apresentavam também síndrome de DOWN, uma com bronquiolite obliterante e duas apresentavam outras dismorfias, sendo uma com agenesia renal); nove (16,7%) com pneumopatia crônica (sendo três com fibrose cística, três com bronquiolite obliterante, uma com cistos pulmonares congênitos e duas com pneumopatia crônica sem definição de diagnóstico); sete (13,0%) com patologias neuromusculares e retardo de desenvolvimento; três (5,6%) com patologias gastrointestinais (uma síndrome colestática, uma gastrosquise e outra com vômitos repetidos em investigação); uma (1,6%) com púrpura trombocitopênica idiopática; duas (3,7%) com tumores malignos sólidos e outras duas (3,7%) com patologias crônicas mal definidas internadas para investigação.

A média de idade do grupo de doentes com comorbidades e prematuridade (grupo 1) era de 6,57 meses (10 dias e 49 meses) e dos doentes previamente saudáveis (grupo 2) era de 5,83 meses (14 dias a 71 meses). Foram avaliados a frequência das manifestações clínicas, a gravidade dos quadros clínicos e o tempo de internação dos casos infectados com VRS, HRV e codeteccões, dentro de cada grupo e entre os grupos. Os outros vírus não foram avaliados por causa da pequena quantidade de cada um e da soma de todos os outros (FLU, PIV, AdV, hMPV). Não houve diferença da frequência de febre, cianose, apneia, sibilos e (ITRI com sibilos, não caracterizadas como bronquiolite) necessidade de intubação orotraqueal e ventilação mecânica entre os dois grupos. No grupo 1, a tosse e a dispneia foram maiores nos pacientes com VRS do que com HRV ($p < 0,05$) e sem diferença nos codetectados e entre os agentes do grupo 2. O HRV do grupo 1 cursou com mais dispnéia que o VRS do grupo 2 ($p < 0,05$). VRS e HRV do grupo 1 causaram mais doença leve que VRS do grupo 2. Por outro lado, o VRS causou mais doença moderada/grave nas crianças do grupo 2 que VRS e HRV do grupo 1 e HRV do grupo 2 ($p < 0,005$) e o HRV causou mais doença moderada/grave nas crianças do grupo 1 que as codeteccões nas crianças do grupo 2 ($p < 0,05$).

As crianças com infecção pelo VRS, HRV e codeteccão do grupo 2 tiveram mais internações curtas (menos de 5 dias) que as crianças com infecção pelo VRS e HRV do grupo 1 ($p < 0,05$) e as crianças portadoras de infecção com dois vírus incluídas no grupo 2 tiveram mais internações de seis a 10 dias que as crianças com infecção pelo HRV do grupo 1 ($p < 0,05$). Já as crianças com infecção pelo VRS e HRV incluídas no grupo 1 tiveram mais internações prolongadas (> 10 dias) do que as crianças com infecção pelo VRS, HRV e codeteccões do grupo 2 ($p < 0,005$), enquanto que crianças

com coinfeção incluídas no do grupo 1, mais internação por mais de 10 dias do que as crianças com infecção pelo HRV e codeteção do grupo 2 ($p < 0,005$).

Crianças que adquiriram infecção dentro do hospital: entre as crianças internadas, 23,4% (47/201) foram hospitalizadas devido a doenças crônicas, muitas das quais com internação prolongada e estas crianças adquiriram infecção durante a hospitalização. Em 35 pacientes, a pesquisa de vírus foi positiva, com identificação de um único agente em 30 casos e identificação de dois agentes em cinco casos. HRV e VRS foram identificados em quase todos os pacientes. Apenas um paciente infectado com FLU; mais da metade apresentou doença respiratória leve e 62,8 % (22/35) eram pacientes de baixa idade (menos de seis meses de idade). O local, os motivos da internação, os agentes isolados e os diagnósticos clínicos com avaliação de gravidade estão mostrados na tabela 7.

Tabela 7. Crianças portadoras de comorbidades que adquiriram infecção intrahospitalar, com amostras positivas por IFI e/ou (RT)-PCR.

Idade em meses	Diagnóstico e gravidade da DRA	Virus detectado	Motivo para hospitalização
<i>Pronto Socorro</i>			
11	Bronquite sibilante leve	VRS	Investigação de sibilância crônica
12	Traqueobronquite leve	VRS	Fibrose cística com exacerbação pulmonar
<i>Berçário</i>			
1	Resfriado comum	HRV/VRS	PCA, CIA e arritmia cardíaca
1	Traqueobronquite leve	VRS	Cardiopatia grave - FOP + PCA
1	Resfriado comum	FLU	Prameturidade e baixo peso
1	Bronquiolite leve	VRS	Doença urológica
< 1	Traqueobronquite moderada	VRS	Investigação de vômitos
< 1	Laringotraqueite leve	VRS	Artrite séptica
< 1	Laringotraqueite leve	VRS	CIV, CIA ânusimperfurado
1	Bronquiolite grave	HRV	PCA, CIV, crise convulsiva com apneia
1	Resfriado comum	HRV	Onfalocele e síndrome do intestino curto
< 1	Bronquiolite moderada	VRS	CIVs múltiplos e FOP
1	Resfriado comum	HRV	Displasia broncopulmonar dependente de oxigênio
< 1	Bronquiolite leve	HRV	Síndrome colestática
< 1	Pneumonia	VRS	Perda excessiva de peso
3	Crupe grave	HRV	Cardiopatia grave e agenesia renal
3	Traqueobronquite leve	HRV	Prematuridade
4	Bronquite sibilante moderada	HRV/VRS	Síndrome de Pierre Robin, hidrocefalia, displasia broncopulmonar e VMP
<i>Enfermaria</i>			
4	Bronquite sibilante moderada	HRV	Cistos pulmonares congênitos e lobectomia pulmonar
6	Bronquiolite moderada	HRV	Tetralogia de Fallot
12	Resfriado comum	VRS	Fibrose cística
24	Laringotraqueite moderada	HRV	Meduloblastoma
21	Bronquite sibilante grave	HRV/PIV-1	Bronquiolite obliterante e doença neurológica grave
> 24	Resfriado comum	HRV	Miocardopatia dilatada grave
<i>Unidade de cuidados intensivos</i>			
3	Bronquiolite grave	HRV/PIV-1	Fibrose cística dependente de oxigênio
2	Traqueobronquite moderada	HRV	CIV, CoA, HP, estenose pulmonar, cirurgia cardíaca e VMP
4	Traqueobronquite moderada	HRV	Miocardopatia dilatada grave
3	Traqueobronquite moderada	HRV	CIA, displasia broncopulmonar com VMP
9	Traqueobronquite leve	HRV	Epilepsia e insuficiência respiratória central
11	Traqueobronquite leve	HRV	Paralisia diafragmática bilateral com VMP
6	Traqueobronquite leve	HRV	Poliarterite nodosa e acidente vascular cerebral
> 24	Bronquite sibilante leve	VRS	Investigação de sintomas crônicos
13	Pneumonia intersticial	HRV	Miopatia nemalínica em VMP
12	Bronquite sibilante leve	HRV/PIV-1	Nefropatia bilateral*
> 24	Resfriado comum	HRV	Doença pulmonar crônica em VMP

*morte na UTI; VMP – ventilação mecânica prolongada. PCA- persistência de canal arterial; CIA- comunicação interatrial; CIV-comunicação interventricular; CoA –coarctação de aorta

Sazonalidade: a figura 5 mostra a distribuição sazonal das infecções respiratórias agudas. Os dados foram obtidos com a somatória das amostras de todos os anos do estudo, mês a mês. Um número maior IRAs ocorreu durante o outono e inverno, com aumento significativo de fevereiro até julho.

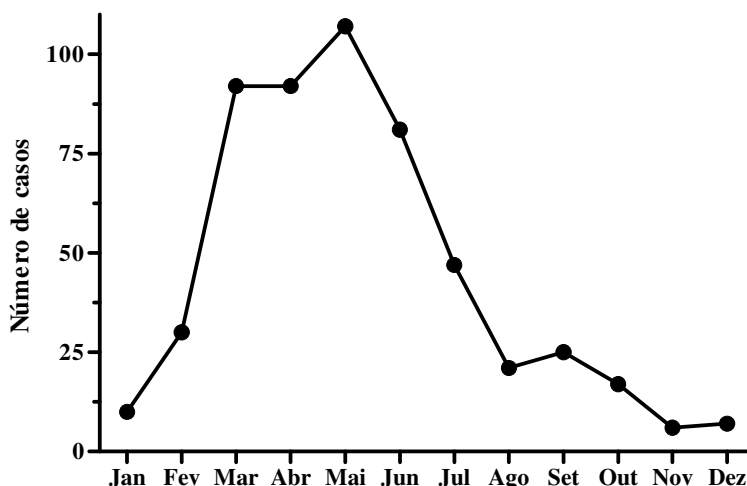


Figura 7. Distribuição sazonal das infecções respiratórias agudas em crianças de até cinco anos de idade atendidas no HC-UFU, no período de 2000 a 2010.

As amostras positivas para vírus respiratórios foram agrupadas de acordo com o mês de coleta conforme tabela 8. A figura 6 mostra que o VRS circula entre os meses de janeiro a julho com pico de circulação entre março e maio, diminuindo a partir de junho. O HRV circula todo ano, com picos entre março e julho e os demais vírus circulam durante todo ano, sem grandes variações.

A figura 5 mostra a distribuição sazonal dos vírus. O HRV foi detectado ao longo do ano, com pico entre os meses de fevereiro a julho, coincidindo com o VRS embora o HRV continuasse a circular na primavera e o verão. FLU, hMPV, AdV e PIV circularam durante todo ano com ligeiro aumento do PIV nos meses de março a maio e agosto a outubro.

Tabela 8 - Amostras positivas para vírus respiratórios, agrupadas de acordo com o mês de coleta.

	VRS	HRV	FLU	PIV	AdV	MPV
JAN	5	3	0	0	1	0
FEV	10	10	1	4	2	0
MAR	40	29	4	5	1	3
ABR	44	31	1	11	5	2
MAI	46	35	10	3	3	5
JUN	22	38	4	4	7	3
JUL	4	10	12	3	4	2
AGO	2	11	3	1	2	1
SET	1	11	1	12	4	0
OUT	0	2	0	2	0	1
NOV	0	2	0	0	1	0
DEZ	2	5	0	1	1	0
	176	187	36	46	31	17

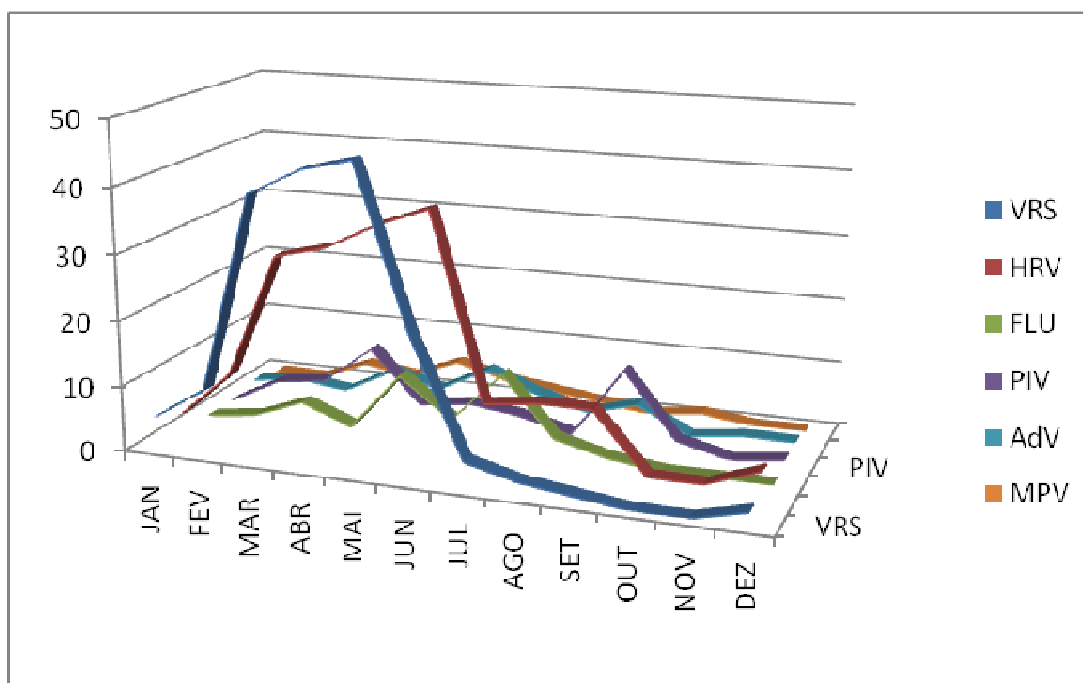


Figura 8. Distribuição sazonal dos vírus respiratórios.

5. Discussão

O HC-UFU é um hospital referência para média e alta complexidade que possui unidade de urgência/emergência aberta 24 horas. Recebe pacientes encaminhados de unidades básicas de saúde, de unidades de pronto atendimento da rede municipal, de outros hospitais e de municípios da macroregião do Triângulo Norte, além de demanda espontânea.

Uberlândia está situada na região Centro-Oeste do país, estado de Minas Gerais, mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba e microrregião de mesmo nome, distando 556 km a oeste da capital do estado. Sua população em 2010 era de 604.013 habitantes segundo o IBGE. O clima é tropical de altitude (863m) com temperatura média anual de 22,3°C, tendo invernos secos (umidade relativa do ar, algumas vezes, abaixo de 20%) e amenos e verões chuvosos com temperaturas altas. A precipitação média anual é de 1.583,6mm, sendo julho o mês mais seco com 14,0mm e dezembro, o mês mais chuvoso com média de 318,9 mm. Outubro é o mês mais quente com temperatura média de 23,9°C e junho o mais frio, com média de 19,3°C. Outono e primavera são estações de transição (www.ibge.gov.br/cidades).

A coleta das amostras foi feita por conveniência, realizada de forma irregular entre os anos estudados e variou nos meses dentro de cada ano. O maior número de amostras foi coletado nos primeiros anos do estudo, e, em cada ano, no primeiro e segundo trimestres. Os primeiros seis meses do ano foi o período de maior coleta de amostras clínicas, talvez porque é o período de maior número de infecções respiratórias na região, abrangendo o outono e grande parte do inverno. Esta coleta irregular cria dificuldade para avaliação de alguns dados como estudo da sazonalidade.

O núcleo básico de pesquisadores persistiu o mesmo durante todo período do estudo, embora houvesse participação transitória de outros colaboradores com agregação de coletadores durante este período.

Apesar do número de crianças não internadas ser maior do que aquelas que foram internadas, doença do TRS foi diagnosticada em uma parcela pequena das crianças quando comparado ao de doença do TRI que representaram cerca de 2/3 dos casos. Estes dados refletem as características do atendimento no HC-UFU. Grande parte das crianças foi encaminhada para o hospital por causa da gravidade do quadro clínico, originadas de unidades de atenção para as quais o hospital universitário é referência.

Como o hospital possui pronto socorro aberto 24 horas, também muitas crianças foram e são levadas ao PS devido à avaliação dos pais e/ou responsáveis de quadro clínico grave ou que seus filhos tiveram a doença agravada após um atendimento inicial em outra unidade. Muitas crianças são portadoras de doenças crônicas, graves, complexas ou raras e seus cuidadores recorrem diretamente ao HC-UFU como unidade de atendimento para as intercorrências, o que explica casos de doença leve entre internados.

Doenças do TRS e doenças leves do TRI ocorreram num grupo de crianças estavam hospitalizadas por causa de outra doença e adquiriram a infecção respiratória no hospital ou crianças portadoras de outras doenças e uma infecção respiratória poderia ter uma evolução grave ou agravar a doença pré-existente.

A maioria dos pacientes foi do gênero masculino, e esta predominância do gênero é relatada na literatura (MIYAO, 1999; McCONNOCHIE, 1998). A predominância de crianças menores de seis meses de idade internadas (mais de 70,0%) demonstra que tenra idade constitui um importante fator de risco para infecções respiratórias, por isso, são internadas, como encontrado em outros trabalhos (ZAMORANO, 2003; SCHMITT, 2007). Neste estudo, as crianças menores de seis meses de idade apresentaram mais doença do TRI, mais doença moderada e/ou grave e a maioria destas crianças tinham pelo menos uma comorbidade, ou seja, crianças de tenra idade se mostraram mais vulneráveis a doenças respiratórias, sendo a maioria de causa viral e com quadros mais graves e que, provavelmente, puderam ser potencializados pela presença de comorbidade. Estas condições relacionadas com doença mais grave e mais internações também foram relatadas por outros autores (MILLER, 2011; BRAND, 2012).

Infecções agudas do TRS apresentam baixa morbidade e compreendem cerca de 80% do total das IRAs (BEDOYA, 1996) e não justificam hospitalização, assim como a maioria das infecções do TRI que são leves e devem ser tratadas em domicílio. O número alto de crianças hospitalizadas neste estudo se deve às características da clientela incluída no trabalho e às características do hospital conforme já mencionado.

A principal condição clínica das crianças internadas foi a bronquiolite, o diagnóstico mais comum principalmente em crianças em tenra idade; das crianças não internadas, as doenças mais frequentes foram as infecções do TRS e infecções leves das vias aéreas centrais (traqueítes, traqueobronquites).

O ensaio de IFI é um método tradicional para o diagnóstico rápido de vírus respiratórios clássicos. Em nosso estudo, a frequência de detecção viral por IFI para o VRS, AdV, FLU, PIV e hMPV foi semelhante ao observado em estudos que usaram o mesmo procedimento (MIYAO, 1999; CARBALLAL, 2000; SADEGHI, 2011). A detecção molecular através da (RT)-PCR permitiu, juntamente com a IFI, um aumento significativo de identificação dos agentes virais. O emprego de dois ensaios permitiu uma taxa de positividade com identificação de um ou dois agentes semelhantes ao descrito em outros trabalhos, assim como o número de codeteções (BEZERRA, 2011; GARCÍA-GARCÍA, 2012; SCHLAUDECKER, 2012).

Vários estudos de ITRI relatam taxas de detecção de vírus entre 46% e mais de 80%, utilizando diferentes métodos de investigação (MUFSON, 1970; KIM; ARROBIO; BRANDT, 1973; WRIGHT, 1989; ABZUG, 1990; MERTSOLA, 1991; BEZERRA, 2011; GARCÍA-GARCÍA, 2012; SCHLAUDECKER, 2012). Em nosso estudo, as amostras negativas representaram um baixo percentual que poderia ser menos por causa da não investigação de outros vírus respiratórios como o hBoV, por exemplo. Tivemos um índice de codeteção de 17,4%, também semelhante ao relatado em outras publicações (BEZERRA, 2011; GARCÍA-GARCÍA, 2012; SCHLAUDECKER, 2012).

Portanto, a maioria das crianças envolvidas no presente estudo foi infectada com um ou dois vírus respiratórios demonstrando que os agentes virais são as principais causas de doença respiratória aguda na infância. Todos os agentes avaliados neste estudo são notórios causadores de doença e, como já relatado, os vírus representam o mais importante agente de infecções respiratórias agudas em crianças (MONTTO, 2002).

Das amostras positivas para pelo menos um vírus, houve maior positividade entre aquelas coletadas de doentes não internados. Possivelmente, esse maior índice de positividade se deveu ao fato de que essas amostras foram coletadas mais precocemente na evolução da doença ao procurarem diretamente o PS ou PAP; muitos doentes internados poderiam ter doença por agentes não pesquisados, como “novos” agentes virais ou bactérias atípicas, também não pesquisadas, mas, atualmente, são cada vez mais encontradas em quadros graves de crianças menores de cinco anos de idade (BEZERRA, 2011).

Infecções respiratórias leves ocorreram em um pequeno número dos doentes com infecção respiratória viral e pode ser explicado pela seleção dos pacientes incluídos no estudo, compreendendo apenas crianças atendidas em um hospital de referência. Doença moderada a grave foi a maioria dos casos e a bronquiolite foi o diagnóstico

mais comum principalmente relacionada ao VRS, sendo bem conhecida a relação deste agente com bronquiolite e tenra idade (HENRICKSON, 2004; CALVO, 2010; BRAND, 2012). No entanto, a bronquiolite vem sendo cada vez mais relacionada com infecções pelo HRV refletindo a capacidade desse agente em causar infecção do TRI (MOSSER, 2005; PARANHOS-BACCALA, 2008; RICHARD, 2008; WOS, 2008; BRABEC-ZARUBA, 2009; MARGUET, 2009; CALVO, 2010; BRAND, H.K., 2012). Portanto, o VRS e o HRV, em infecções simples ou codeteção (um com outro ou deles com outros agentes) identificados em cerca de 70% de todos os casos de DRA nas crianças incluídas neste estudo, são os principais agentes de infecções respiratórias graves em crianças na nossa casuística, semelhante ao que encontrou Van Leeuwen e colaboradores (2012).

Das codeteções, o HRV teve participação em 97,0% delas e quase metade de todas as codeteções foi entre VRS e HRV. Isso provavelmente é reflexo da elevada frequência desses dois agentes e do período em que as amostras foram coletadas, que coincide com o período de maior circulação de ambos. Nossos dados são semelhantes aos de Richard e colaboradores (2008) que encontraram o VRS e o HRV como os vírus mais frequentemente identificados em infecções mistas em lactentes hospitalizados com bronquiolite.

Segundo a literatura, a frequência de codeteção com dois ou mais vírus respiratórios varia de 11% a 33% (CHEUK, 2007; JACKSON, 2008; FAIRCHOK, 2010). As taxas de codeteções e os vírus envolvidos podem ser amplamente variáveis de acordo com o estudo (DEBIAGGI, 2012), embora o HRV esteja sendo relatado em casos codeteções (BRAND, 2012). Provavelmente, a variação das taxas de codeteções com HRV estão relacionadas com a aplicação de diferentes métodos laboratoriais com o grupo de estudo avaliado. No estudo de Marcone e colaboradores (2013) a codeteção foi de 13%, significativamente mais frequente em pacientes hospitalizados que em pacientes ambulatoriais.

A relação entre coinfeção e gravidade ainda está em discussão com resultados discrepantes na literatura. Em nosso estudo, uma associação foi observada com a coinfeção do HRV com o VRS que se destacou como a associação mais frequente. Como estes agentes em infecções simples foram os principais causadores de doenças graves, pode-se entender que a associação deles estaria relacionada com mais internações.

O VRS é o agente cuja infecção acarretou maior número de hospitalizações, o que já era esperado tendo em vista que este agente é a principal causa de bronquiolite grave em crianças de tenra idade decorrendo em hospitalizações (MARGUET, LUBRANO, 2009; CALVO, POZO, 2010; BRAND, DE GROOT, 2011). Para outros vírus, exceto para o PIV, a maioria das infecções não acarretou internação, por causa do caráter brando dessas infecções. No caso de codeteccções, não houve diferença dos casos internados e não internados. Neste último caso, provavelmente o que elevou o número de hospitalizações foi mais a participação do VRS nessas codeteccções do que propriamente a codeteccção, considerando que quase metade das codeteccções teve a participação do VRS.

O HRV foi agente mais frequente (37,9%), foi detectado em quase todas as codeteccções e esteve associado a quadros graves. O HRV é o vírus mais comum nas infecções das vias respiratórias em crianças maiores e adultos, causando cerca de dois terços dos resfriados comuns e exacerbações de asma (JOHNSTON, 1995). Até há pouco tempo não se dava importância ao HRV como agente de infecção do TRI, talvez devido à dificuldade de identificar este agente, com os métodos adotados anteriormente.

Os dados encontrados neste estudo são corroborados por relatos recentes obtidos com métodos de detecção de vírus usando (RT)-PCR que estão permitindo o estabelecimento do HRV como importante patógeno do TRI (PATTEMORE, 1992; PAPADOPOULOS, 1999). Na literatura, a frequência do HRV varia de 17% a 44% em crianças com IRA (IWANE, 2011; CHEUK, 2007; ARDEN, 2006) e frequências são ainda maiores (45-58%) quando as crianças com sibilância ou asma são envolvidas (JACKSON, 2008; SMUTS; WORKMAN; ZAR, 2011). São responsáveis por casos de ITRI e crianças internadas com esta infecção por este agente apresentam maior risco para o desenvolvimento da asma (JOHNSTON, 1995; WARKET, 2005; PELTOLA, 2009; MIDULLA, 2012).

Dessa forma, atualmente, o HRV é considerado um patógeno significativo porque a sua presença pode ser associada com infecções graves do TRI (MILLER, 2009; MAFFEY, 2010) e episódios recorrentes de chiado e asma (LEMANSKE, 2005; MAFFEY, 2008; ARDEN, 2010). Em um estudo na Argentina (MARCONE, 2013) o HRV foi o vírus mais detectado em pacientes com bronquiolite e pneumonia e a presença do HRV, mesmo que em infecção simples, foi um fator de risco para internação hospitalar.

Dos doentes não internados, grupo etário mais expressivo foi o de crianças mais velhas. A maioria apresentou infecção do TRS ou doença leve do TRI e o HRV foi o principal agente, seguido pelo VRS, codeteccões, FLU, PIV, AdV e hMPV (os quatro últimos foram responsáveis por 32,4% dos casos de doença leve). O grupo etário mais expressivo foi o de crianças mais velhas. O HRV é, classicamente, o agente mais importante de ITRS e a alta frequência do VRS pode ser explicada pela predominância de coleta de amostras no período de maior circulação deste vírus (CINTRA, 2001), assim como a maior taxa de codeteccões do que de outros vírus, considerando que a associação do HRV com o VRS foi a mais encontrada.

Excluindo os casos de bronquiolite que, pela conceituação adotada apresenta sibilo como característica para identificação, o número de quadros sibilantes encontrados foi significativamente menor do que a encontrada no trabalho de Kuzel e colaboradores (2006) que encontraram sibilância em 29% dos doentes.

Daquelas crianças internadas, cerca de 1/5 delas apresentou doença leve e, para a maioria delas, o motivo da internação foi o fato de serem portadoras de outra doença e a infecção respiratória poderia ter uma evolução desfavorável ou porque eram crianças que já estavam internadas e adquiriram infecção no hospital. Doenças moderada a grave representaram a maioria dos casos e a bronquiolite foi o diagnóstico mais comum, condizente com a característica dos pacientes: tenra idade e infecção predominantemente pelo VRS e HRV, fatores já mencionados como relacionadas a hospitalizações (HENRICKSON, 2004; CALVO, 2010; BRAND, 2012).

Tem sido amplamente mencionado que a bronquiolite está frequentemente relacionada com internações hospitalares de crianças em que o VRS e o HRV foram os agentes mais frequentemente detectados (CALVO, 2010; MIDULLA, 2012; BRAND, 2012). De fato, a bronquiolite esta cada vez mais relacionada a infecções pelo HRV refletindo a capacidade desse agente em causar infecção do TRI. Assim, RSV e HRV constituem os dois principais agentes de infecções respiratórias graves em crianças como relatado em outros estudos (MOSSER, 2005; MARGUET, 2009; CALVO, 2010; BRAND, 2012). Neste estudo, os virus mais frequentemente detectados foram o VRS e o HRV, a semelhança do encontrado por García-García e colaboradores (2012) que também encontraram o VRS seguido por HRV, hBoV, AdV, hMPV e PIV. O VSR foi o vírus mais frequente em crianças com menos de 18 meses e o HRV foi mais comum no grupo mais velho. Outro estudo envolveu crianças saudáveis que foram acompanhadas no

primeiro ano de vida e monitoradas para ocorrência de IRAs. HRV foi o vírus predominante causando ITRS e o VRS foi a principal causa de ITRI (EDE, 2012).

O VSR foi o vírus predominante e isto já era esperado considerando que a maioria dos pacientes incluídos neste estudo eram crianças menores de um ano de idade e apresentavam ITRI. Durante décadas se descreve que este vírus é a causa principal de infecções respiratórias graves em crianças de tenra idade (MALETZKY, 1971; KIM; ARROBIO; BRANDT, 1973; WRIGHT, 1989; ABZUG, 1990). Estima-se que o VSR seja responsável por cerca de 116.500 internações de crianças por ano no EUA e essa taxa aumenta para 144.000/ano se as crianças atendidas em ambulatório forem incluídas (HENRICKSON, 2004). Neste estudo, aproximadamente 50% dos vírus respiratórios comuns identificados por IFI e/ou (RT)-PCR em crianças hospitalizadas, anteriormente saudáveis, foram VRS e, nesta mesma população, 73% das internações foram por bronquiolite devido a esse agente. É conhecido que os ensaios moleculares são mais sensíveis que IFI para a detecção do VRS. No entanto, a sensibilidade da IFI para VRS está entre as mais altas de todos os vírus respiratórios (REIS, 2008).

Codetecções não parecem aumentar a gravidade da doença, considerando-se que a doença moderada a grave foi relacionada a casos de infecção por VRS, HRV e codetecções em frequências semelhantes. Brand e colaboradores (2012) demonstraram que comorbidades são mais relevantes no aumento da gravidade da doença do que infecções duplas. Outros também demonstraram que as codetecções não foram relacionadas ao aumento da gravidade da doença, a semelhança de nossos resultados (LAU, 2007; GERNA, 2009). Por outro lado Richard e colaboradores (2008), em trabalho com bronquiolite, encontraram o VRS e o HRV como os principais vírus identificados e concluíram que crianças com codetecções tiveram 2,7 vezes mais risco de internação em UTI do que aqueles com uma única infecção e, portanto, infecção viral dupla é um fator de risco relevante para a admissão de lactentes com bronquiolite grave na UTI; VRS e HRV foram os vírus mais frequentemente identificados em infecções mistas em lactentes hospitalizados com bronquiolite. Pesquisa de vírus em amostras de tecido pulmonar de crianças, maioria menores de seis meses, que morreram por infecção respiratória aguda encontrou vírus em 35,5% dos casos e, das amostras positivas, em 57,7% foi encontrado coinfeção (DEBUR, 2010).

As manifestações clínicas, a gravidade e o tempo de hospitalização foram avaliados nos prontuários médicos dos doentes que foram internados. Um grupo incluiu crianças portadoras de condições relacionadas com quadros graves e de pior evolução

que são crianças que apresentavam prematuridade, imunodeficiências, cardiopatias graves, pneumopatias crônicas e outras. Outro grupo era o de crianças previamente saudáveis que foram hospitalizadas porque a doença aguda era suficientemente grave para indicá-lo. Tosse e dispnéia foram os achados clínicos mais frequentes neste estudo.

No grupo com comorbidades o VRS causou mais tosse e mais dispnéia que o HRV; neste mesmo grupo o HRV causou mais dispnéia que o VRS do grupo dos previamente saudáveis. No entanto, a frequência de manifestações sistêmicas (febre), cianose, apnéia, sibilos, necessidade de intubação oro-traqueal e ventilação mecânica foi semelhante entre os grupos comparados, não havendo também, diferença entre os agentes virais. Estas manifestações não permitem identificar, clinicamente, qual é o agente da doença numa determinada criança reforçando a importância da identificação do agente viral.

Em relação à gravidade, o VRS do grupo dos previamente saudáveis foi responsável por mais doença moderada/grave que VRS e HRV do grupo com comorbidades e HRV do grupo dos previamente saudáveis, contrariando o que seria esperado, considerando que inúmeras comorbidades presentes no grupo são reconhecidamente relacionadas com doença grave. De qualquer forma, este dado enfatiza a importância do VRS como patógeno de doença respiratória grave em crianças, independente das condições prévias do paciente.

Ao contrário do que foi observado para o VRS, o HRV do grupo com comorbidades foi responsável por mais doença moderada/grave que codeteção do grupo dos previamente saudáveis, mostrando que estes agentes podem causar doença grave em lactentes, principalmente relacionado à presença de comorbidades, conforme demonstrado anteriormente (LAUGHON, A. 2009; WATANABE, C., 2010).

Surpreendentemente, doentes com comorbidades, sabidamente o grupo de risco para mais doenças graves e doenças mais graves, teve um número significativamente menor de quadros de maior gravidade e isto pode ser justificado pelo fato de que o grupo de doentes previamente saudáveis incluiu crianças de menor idade refletindo a importância da tenra idade como um fator de risco importante.

De fato, a idade é um dos principais fatores de doenças graves e as crianças muito jovens são as mais afetadas e apresentam os quadros mais graves (ZAMORANO, 2003). Tenra idade é um fator importante, pois, reflete a interação de fatores que causam doença após a infecção viral. Tem efeito sobre o tamanho da criança e das características anatômicas e fisiológicas de suas vias aéreas, a dinâmica de transmissão

(vários contatos próximos entre crianças pequenas) e na experiência imunológica, contribuindo para mais infecções e doença mais grave quando elas ocorrem. Além disso, as crianças menores são mais propensas à falência respiratória por exaustão muscular devido ao esforço respiratório e à apneias, as principais causas de morte em bronquiolite aguda.

Quanto à avaliação do tempo de hospitalização, para aquelas crianças que estavam internadas com outras patologias e que adquiriram a infecção dentro do hospital, foi considerado o período de evolução da doença respiratória até o momento em que preenchesse critérios para alta hospitalar. Entre as crianças previamente saudáveis, infecções pelo VRS, HRV e codeteção foram associadas com internações curtas (menos de cinco dias) em comparação a infecções pelo VRS e HRV em pacientes pertencentes ao grupo com comorbidades. Este grupo de pacientes apresentou períodos mais prolongados de hospitalização (>10 dias) também em comparação aos infectados pelo VRS, HRV e codeteções do grupo dos previamente saudáveis. Apesar de mais quadros graves no grupo dos previamente saudáveis, o tempo de internação prolongado predominou de forma significativa no grupo daqueles com prematuridade e comorbidades. Neste grupo estavam incluídas crianças prematuras e, portanto, possivelmente portadoras de “vias aéreas de menor calibre” além de doentes com pneumopatias crônicas (displasia broncopulmonar, fibrose cística, bronquiolite obliterante) e com cardiopatias congênitas, algumas com hiperfluxo pulmonar e hipertensão pulmonar. Sabidamente, são doentes que, quando adquirem infecção respiratória aguda, tendem a apresentar doenças mais graves, o que não foi verificado talvez por se tratar de crianças de maior idade; no entanto, doentes com estas características estão sujeitos a de doenças de curso mais prolongado e maior tempo de hospitalização.

O tempo de hospitalização por doença respiratória aguda pelo VRS foi avaliado num trabalho de Behrendt e colaboradores (1998) que mostraram média de quatro dias na Finlândia, Reino Unido e Estados Unidos e de 8 a 10 dias na Bélgica, França, Alemanha, Itália e Holanda (BEHRENDT, 1998). Como se esperava, neste estudo, a maioria das crianças apresentou doença de moderada a grave com duração de hospitalização elevada, principalmente entre aqueles que apresentaram alguma comorbidade. Entretanto, crianças anteriormente saudáveis também apresentaram quadros clínicos graves com hospitalização prolongada. Este dado constitui um aspecto importante deste estudo uma vez que a gravidade da doença pode estar relacionada

somente com a infecção viral como um fator importante de hospitalização, bem como a duração prolongada do mesmo. Além disso, os vírus incluídos em nossa investigação são os agentes mais frequentes de doença respiratória (MONTTO, 2002).

Dentro deste aspecto, as IRAs afetaram crianças com prematuridade e/ou comorbidades em igual proporção em comparação com aquelas anteriormente saudáveis. É bem relatada a associação de doença respiratória por vírus entre os pacientes de alto risco e aquelas sem comorbidade. Henrickson e colaboradores, (2004), constataram que metade dos casos de crianças previamente saudáveis hospitalizadas apresentou infecção respiratória viral; por outro lado, 21% das internações por ITRI foram de crianças com problemas médicos significativos e 73% desses pacientes apresentaram bronquiolite causada por VRS. Assim, considerando o “estado de saúde”, acreditamos que as infecções respiratórias virais por si só constituem um aspecto importante no curso da doença no ambiente hospitalar.

Manifestações extrapulmonares pouco habituais foram observadas entre as crianças previamente saudáveis e que foram internadas com infecção respiratória. Manifestações renais, cardíacas, neurológicas, metabólicas e cutâneas foram observadas nesta série e já foram relatadas por outros. Eisenhut (2006) descreveu raras manifestações extrapulmonares nas infecções por VRS incluindo convulsões, hiponatremia, arritmias cardíacas, insuficiência cardíaca, hepatite sugerindo a hipótese de propagação extrapulmonar ocasional do vírus, já que o RNA viral pode ser detectado no trato respiratório, em células mononucleares do sangue periférico, no líquido e no músculo cardíaco. Envolvimento do miocárdio é uma importante complicação comum em bronquiolite grave pelo VRS ocorrendo em 35% a 45% das crianças ventiladas ou não, segundo Checcia e colaboradores (2000). Lesão miocárdica pode ser evidenciada pelo aumento das concentrações de troponina T cardíaca e troponina I cardíaca associadas com comprometimento cardíaco resultando em hipotensão e necessidade de inotrópicos. Concentrações aumentadas de troponina poderia ser secundária a insuficiência miocárdica ou miocardite induzidas pelo VRS. VSR tem sido detectado em miocárdio e nos lactentes com infecção grave também se manifesta em taquicardias supraventriculares, taquicardias ventriculares e fibrilação cardíaca e tamponamento cardíaco. Em relação à patogênese das apneias associadas ao VRS, há evidência convincente do envolvimento direto do sistema nervoso central (EISENHUT, 2006). Em um estudo experimental, a resposta apnéia induzida por quimiorreflexo laringeo foi significativamente maior em crianças com infecção por VSR do que em controles com

bronquiolite negativos para o VRS. RSV também foi detectado no fluido cefalorraquidiano de um lactente com 4 meses de idade, por meio de (RT)-PCR (ZLATEVA, 2004).

Durante o estudo, duas crianças evoluíram para óbito. Uma delas era um lactente de 12 meses de idade portador de nefropatia bilateral que adquiriu infecção respiratória dentro do hospitalar apresentando quadro de bronquite sibilante leve com boa evolução e não foi a causa do óbito. Outro lactente com seis meses de idade, nascido prematuro e apresentando displasia broncopulmonar, teve pneumonia grave pelo VRS evoluindo para óbito após nove dias de internação. Portanto, apenas uma criança morreu em decorrência da doença respiratória aguda por vírus demonstrando que, apesar do grande número de doentes graves, a disponibilidade de recursos hospitalares adequados diminuiu drasticamente o número de óbitos decorrentes destas condições.

Pode-se entender, neste estudo, que dentre as infecções causadas pelos vírus respiratórios comuns em crianças hospitalizadas, não há manifestações clínicas que possam ser utilizadas para identificar o agente. Este mesmo resultado foi encontrado em um estudo que comparou as manifestações clínicas de doentes com infecção pelo HRV e VRS e crianças hospitalizadas não encontrou nenhuma diferença entre esses patógenos (Van LEEUWEN, 2012). Já outros sugerem que a presença de sibilos expiratórios pode distinguir VRS de FLU em crianças menores de quatro anos de idade (MANUGUERRA; Van Der WERF, 2001). Por outro lado, Henrickson e colaboradores (2004) demonstram que 19% das bronquiolites em crianças previamente saudáveis menores de quatro anos de idade foram causadas por FLU A ou B. Muitos desses pacientes tinham sibilos como parte de sua apresentação e, além disso, entre as crianças com apenas "sibilos", como diagnóstico ITRI, 56% foi causado por FLU em comparação com 9% para o VRS.

Acreditamos que com bons dados epidemiológicos, os clínicos podem fazer previsões de qual agente é mais provável como causa da doença no seu paciente, mas, esta previsão não pode se aproximar de um nível seguro para terapia antiviral específica direta sem diagnóstico laboratorial adequado.

Mesmo usando os testes com sensibilidade suficiente para detectar organismos simples, é frequente crianças com ITRI com testes de diagnóstico negativos. Isto pode demonstrar a dificuldade em obter espécimes adequados para investigação (coleta de amostras e processamento inadequados), ou pode indicar que outros agentes não pesquisados estão causando quantidades significativas de ITRI em crianças (hBoV,

coronavírus, PIV tipo 4, FLU C, etc.) ou uma combinação de ambos. Além disso, o fato de a maioria destes casos de IRA com resultado negativo de vírus apresentarem ao mesmo tempo e da mesma maneira como nos doentes vírus positivos, sugere que estes doentes possam ter se infectado com os mesmos agentes. Trabalhos contínuos sobre novos métodos de coleta, transporte e detecção de vírus respiratórios poderá também preencher as lacunas na epidemiologia da IRA na infância.

Muitas crianças hospitalizadas em todas as unidades de atendimento pediátrico por razões diversas adquiriram infecção respiratória no hospital, todas mais de três dias após a internação. Infecção hospitalar é uma condição geradora de ansiedade e preocupação para familiares e cuidadores, muitas vezes demandando alta carga de exames laboratoriais e de imagem e uso extensivo de antibióticos.

Neste estudo, 47 crianças internadas que apresentaram sinais e sintomas de uma doença respiratória aguda, foram avaliadas. Agente viral foi identificado em cerca de 75,0% das amostras coletadas destas crianças sendo o HRV encontrado em mais da metade das amostras positivas e o VRS identificado em cerca de um terço delas, ambos causando quadros clínicos leves e doenças graves, incluindo quadro de pneumonia e bronquiolite. Dos outros agentes, apenas uma criança teve doença leve pelo FLU. A codetecção foi encontrada em cinco doentes e dois deles apresentaram doença grave, caracterizadas como bronquiolite e bronquite sibilante. Estes resultados demonstram que os agentes virais também são importantes agentes de infecção hospitalar, embora esta condição seja vista quase sempre, pelas equipes de cuidadores, como de etiologia bacteriana. Doenças coexistentes podem alterar a evolução da doença respiratória aguda, alterando o prognóstico, assim como a infecção respiratória pode agravar a condição prévia que motivou a internação.

Em um estudo com o objetivo de determinar a prevalência de patógenos respiratórios entre os recém-nascidos internados em unidade de terapia neonatal e agentes foram identificados em 10,2%, com predominância do PIV seguido do HRV, VRS e outros, e os recém-nascidos com cargas virais mais elevadas tiveram mais os doenças graves do que aqueles com cargas virais mais baixas, definindo que os patógenos respiratórios desempenham um papel importante em recém-nascidos internados (SMIT, 2013).

No Brasil, há poucos estudos de infecção hospitalar causada por vírus respiratórios. Um deles, encontrou um percentual de 6% com detecção de AdV e PIV, índice que poderia ser maior considerando que o referido estudo não incluiu pesquisa de

HRV (HEIN, 1997). Kamikawa e colaboradores (1996), em São Paulo, encontraram, em pacientes oncológicos, imunodeprimidos e com febre de início recente sem sinais de localização, positividade para vírus respiratórios em cerca da metade das amostras analisadas com prevalência de FLU A, seguido de PIV, AdV e VRS.

Já é sabido que muitas pessoas infectadas por vírus respiratórios podem estar assintomáticas e, desta forma, podem transmitir o agente para outros indivíduos. O VRS pode ser transferido por visitantes em hospitais que servem como portadores assintomáticos para pacientes vulneráveis (van BENTEN, 2003; PELTOLA, 2008; van der ZALM, 2009; WINTHER, 2011). A literatura mostra o VRS como um agente de infecção hospitalar com importância variável. Um estudo mostra o VRS como responsável pelas infecções nosocomiais em 45% das crianças que foram hospitalizadas durante pelo menos uma semana (HALL, 1978). Hornstrup e colaboradores (1994) encontraram uma taxa baixa de infecção hospitalar por VRS e a maioria dos casos ocorreu nas enfermarias de crianças menores de seis meses de idade. Henrickson e colaboradores (2004) acreditam que, considerando o “status médico”, a infecção respiratória viral constitui um aspecto importante no curso da doença no ambiente hospitalar.

De qualquer forma, infecções por vírus respiratórios representam um fator importante para o aumento da gravidade da doença entre crianças com condições de alto risco estando envolvido na disseminação dentro do ambiente hospitalar.

No estudo da sazonalidade, considerando o fato de que a coleta das amostras foi feita por conveniência e por um período muito longo e os dados foram obtidos com a somatória das amostras de todos os anos do estudo, mês a mês, ter surgido um viés nos resultados. No entanto, conforme disposto na literatura, pode-se observar um pico de infecções coincidindo com o final do período chuvoso e nas estações do outono e início do inverno. A maioria predomina em períodos de pouca chuva e mais frio.

É notório o padrão de circulação dos vírus respiratórios, principalmente relacionado ao VRS. Este circulou, durante o período estudado, entre os meses de janeiro e julho, com picos de circulação entre nos meses de março e maio, sem variações significativas durante todo longo período de duração deste trabalho, permitindo definir um padrão sazonal para esta região. O HRV circulou todo ano, com picos entre março e julho; os demais vírus foram identificados durante todo ano sem grandes variações entre as estações.

Este padrão de circulação do VRS foi também observado em São Paulo com crianças internadas, apresentando um aumento de crianças atendidas em ambulatório e internadas por infecção pelo VRS no período de abril a julho, estação fria na região (MIYAO, 1999; VIEIRA, 2001). Nossos resultados são semelhantes também aos de Cintra e colaboradores (2001), em Curitiba, que mostrou durante três anos consecutivos, comportamento sazonal semelhantes do VRS. Na Argentina, estações de epidemia do VRS começaram em abril ou maio (outono) e atingiu o pico em junho ou julho (inverno) (CARBALLAL, 2000; MARCONE, 2013).

Estudos em várias partes do mundo mostram que a sazonalidade da doença pelo VSR é relativamente consistente na Europa com picos de incidência no inverno, ocorrendo em dezembro e janeiro no Reino Unido, Bélgica, Alemanha e Holanda e em janeiro e fevereiro na Escandinávia. Já na Grécia, que tem um clima tropical, os picos epidêmicos do VSR ocorrem em fevereiro e março. A sazonalidade somente se difere na Suécia onde os picos se alternam anualmente, com períodos mais longos de novembro até março e outros mais curtos e mais tardios como em março e abril. (CONSTANTOPOULOS, 2002). No Japão, bem como na América do Norte, estudos têm descrito picos no inverno, ou seja, iniciando em outubro, ápice em dezembro e conclusão nos meses de verão (KANEKO, 2002).

FLU, hMPV, AdV e PIV circularam durante todo ano com ligeiro aumento do PIV nos meses de março a maio e agosto a outubro. Em Fortaleza, Arruda (1991) mostrou que o HRV e AdV apresentavam de forma constantes mês a mês durante todo o estudo enquanto FLU A e B e o PIV 2 apresentaram picos nos meses de chuva.

Em outros estudos o FLU exibe o padrão típico de pico durante os meses de inverno (WEISSENBACHER, 1990). Conforme descrito anteriormente, AdV foi observado em baixa frequência ao longo do ano (VIDELA, 1998). Também o hMPV foi observado em baixa frequência ao longo do ano, diferentemente de outros trabalhos que mostram maior circulação no inverno e primavera, de julho a dezembro (GALIANO, 2004).

Acreditamos que o fato da coleta de amostras ter se realizada por conveniência e, por se tratar de uma “amostra viciada”, isto não invalida a importância do nosso estudo por se tratar de uma série histórica com amostragem expressiva. Além do mais, os nossos resultados são concordantes com dados da literatura (MIYAO, 1999; VIEIRA, 2001; CINTRA, 2001).

6. Conclusões

6.1. Aspectos clínicos

- Os vírus são um grupo muito comum de patógenos respiratórios em crianças e são os agentes predominantes de infecção respiratória aguda em doentes atendidos tanto em unidades de pronto atendimento, como entre as internadas.
- VRS e HRV foram os vírus mais frequentemente detectados, mas, destaca-se o grande número de codeteccões e, estes são os principais protagonistas.
- A importância dos agentes respiratórios pode ser avaliada através dos casos de doença moderada e grave entre as crianças anteriormente saudáveis.
- Pode-se entender que nas infecções pelos vírus respiratórios comuns nas crianças hospitalizadas, não há manifestações clínicas que podem ser utilizadas para identificar qual o agente responsável.
- Com bons dados epidemiológicos, os clínicos podem fazer previsões de qual agente ou agentes é mais provável como causa da doença no seu paciente, mas, esta previsão não pode se aproximar de um nível seguro para terapia antiviral específica sem diagnóstico laboratorial adequado.
- Nossos achados demonstram a importância dos vírus respiratórios como agentes de infecção hospitalar, podendo causar doença grave ou agravar doença coexistente.
- A influência de detecção de agentes patogênicos respiratórios na gestão clínica continua a ser determinada.

6.2. Fatores de risco quanto à frequência e gravidade de DRAs virais

- Grande variedade de fatores certamente contribui para um prognóstico pior da doença na criança.
- Várias comorbidades foram observadas e estas mais prematuridade representaram um papel importante neste aspecto, associado ou não a outros fatores de risco.

6.3. Medidas preventivas e de tratamento adequadas às DRAs virais

- Profissionais de saúde devem ser alertados para as necessidades de medidas preventivas contra esses agentes em ambientes hospitalares, adotando adequadas medidas de isolamento e cuidados de higiene para aquelas pessoas que têm contato direto com os pacientes.

- A caracterização de um padrão sazonal dos vírus respiratórios é necessária para o estabelecimento de medidas como a profilaxia contra VRS. Os dados constantes deste trabalho podem ser utilizados para orientar programas de aplicação de palivizumab em grupos de risco para doença grave.

7. Considerações finais

- A identificação de grupos de pacientes de alto risco pode ser útil para a aplicação de medidas de prevenção adequadas e fazer uso de cuidados de assistência especial para estes pacientes, com foco, agora, no HRV que, cada vez mais, tem sido vinculado a quadros frequentes e graves de doenças em lactentes. Assim, poderíamos reduzir o impacto das infecções virais respiratórias em crianças.
- Os dados constantes deste trabalho são importantes para alertar os profissionais cuidadores de pacientes internados para o uso desnecessário de exames laboratoriais e de imagem e de antibióticos em muitas situações.
- Devido à importância clínica e epidemiológica dos resultados de estudos virológicos como este, num hospital do porte e complexidade do HCU, justifica-se que o procedimento de coleta/diagnóstico fosse incorporado na rotina de procedimentos.
- Há necessidade de mais estudos para detectar e melhor entender as interações do VRS com o HRV e avaliar sua importância. O HRV está cada vez mais presente e há necessidade de definir melhor seu papel nas infecções respiratórias agudas.
- Outro aspecto que necessita melhor compreensão é o da importância de determinar a carga viral e avaliar sua participação como determinante de gravidade e evolução das doenças respiratórias agudas e sua contribuição com a fisiopatologia.

8. Referências bibliográficas

ABEDI, K.B. *et al.* Age-related pattern of KI and WU polyomavirus infection. **J. Clin. Virol.**, v.43, n.1, p.123–125, sept. 2008.

ABERLE, J.H. *et al.* Single versus dual respiratory virus infections in hospitalized infants: impact on clinical course of disease and interferon gamma response. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v.24, n.7, p.605–610, jul.2005.

ABZUG, M. *et al.* Viral pneumonia in the first month of life. **Pediatr Infect Dis J.** v.9,n.12, p.881– 885, dec.1990.

ADKINS, B.; LECLERC, C.; MARSHALL-CLARKE, S. Neonatal adaptive immunity comes of age. **Nat. Rev. Immunol.** v.4, n.7, p. 553–564, jul. 2004.

ALLANDER, T. *et al.* Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**v.102, n.36, p.12891–12896, sept. 2005.

ALLANDER, T. *et al.* Identification of a third human polyomavirus. **J. Virol.** v.81, n.8, p.4130–4136, apr. 2007.

ALPER, C.M. *et al.* Cytokine polymorphisms predict the frequency of rhinovirus and RSV infections in children. **Eur. Arch. Otorhinolaryngol.** v.266, n.2, p.199–205, feb. 2009.

ATANABE, A. *et al.* Rhinovirus species and their clinical presentation among different risk groups of non-hospitalized patients. **J Med Virol**, v. 82, n. 12, p. 2110-5, 2010.

ARDEN, K.E. *et al.* Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections. **J Med Virol.** v.78, n.9, p.1232–1240, sept. 2006.

ARDEN, K.E. *et al.* Molecular characterization and distinguishing features of a novel human rhinovirus (HRV) C, HRVC-QCE, detected in children with fever, cough and wheeze during 2003. **J Clin Virol.** v.47,n. 3, p.219–223, mar. 2010.

ARRUDA, E.M. *et al.* Acute respiratory viral infections in ambulatory children of urban northeast. **Brazil. J. Infect. Dis.** v.164, n.2, p.252-258, aug. 1991.

AUJARD, Y.; FAUROUX, B. Risk factors for severe respiratory syncytial virus infection in infants. **Respiratory Medicine**, v.96 (suppl.2), p.S9-S14, apr. 2002.

AVENDAÑO L.F. *et al.* Impacto en salud infantil del invierno 2002: disociación entre factores ambientales y virus respiratorio sincicial, en Santiago. **Revista Médica de Chile**, v.131, n.8, p. 902-908, aug. 2003.

AWOMOYI, A.A. *et al.* Association of TLR4 polymorphisms with symptomatic respiratory syncytial virus infection in high-risk infants and young children. **J. Immunol.** v.179, n.5, p.3171–3177, sept. 2007

BARATA, R.C.B. *et al.* Gastroenterites e infecções respiratórias agudas em crianças menores de 5 anos em área da região sudeste do Brasil, 1986-1987. **I-Infecções respiratórias agudas. Ver. Saúde Pública**, v.30, n.6, p.553-63, dez. 1996.

BEDOYA, V.I.; ABAD, V.; TRUJILLO, H. Frequency of respiratory syncytial virus in hospitalized infants with lower acute respiratory tract infection in Colombia. **Ped. Infect. Dis. J.** v.15, n.12, p.1123-1124, dec. 1996.

BEHRENDT, C.E. *et al.* International variation in the management of infants hospitalized with respiratory syncytial virus: International RSV Study Group. **Eur J Pediatr**; v.157, n.3; p.215-220, feb. 1998.

BERTINO, J.S. Cost burden of viral respiratory infections: issues for formulary decision makers. **American Journal of Medicine**, v.112, n.6(suppl.1), p.42S-49S, apr. 2002.

BETTS, R.F. Influenza virus in MANDELL.G.L.; BENETT,J.E.; DOLIN,R., ed. **Principles and Practice of Infectious Diseases** 4.ed., P1546-67, 1995.

BEZERRA, P.G.M. *et al.* Viral and atypical bacterial detection in acute respiratory infection in children under five years. **PLoS ONE**, v.6, n.4, p. e18928, apr. 2011.

BJORKSTEN, B. The intrauterine and postnatal environments. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v.104, n.6, p.1119–1127, dec. 1999.

BRABEC-ZARUBA, M. *et al.* Site of human rhinovirus RNA uncoating revealed by fluorescent in situ hybridization. **J Virol**, v.83, n.8, p.3770-3777, 2009.

BRAND, H.K. *et al.* Infection with multiple viruses is not associated with increased disease severity in children with bronchiolitis. **Pediatr Pulmonol**, v.47, n.4, p.393-400, apr. 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Assistência e controle das infecções respiratórias agudas.** Brasília, DF, 36p. 1994.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Tratamento de pneumonias em hospitais de pequeno e médio portes.** Brasília, DF, 47p. 1996.

BRUNSTEIN, J. *et al.* Evidence from multiplex molecular assays for complex multipathogen interactions in acute respiratory infections. **J Clin Microbiol.** v.46, n.1, p.97–102, jan. 2008.

BULLA, A.; HITZE, K.L. Acute respiratory infections: a review. **Bull. Who**, v.56, n.3, p.481-98, oct. 1978.

CALVO, C. *et al.* Clinical characteristics of human bocavirus infections compared with other respiratory viruses in Spanish children. **Pediatr. Infect. Dis. J.** v.27, n.8, p.677–680, aug. 2008.

CALVO, C. *et al.* Detection of new respiratory viruses in hospitalized infants with bronchiolitis: a three-year prospective study. **Acta Paediatr.**, v.99, n.6, p.883-887, jun. 2010.

CARBALLAL, G. *et al.* Multicentered study of viral acute lower respiratory infections in children from four cities of Argentina, 1993-1994. **J Med Virol.**, v.64, n.2, p.167-174, apr. 2001.

CHAN, K.Y. *et al.* Association of ICAM3 genetic variant with severe acute respiratory syndrome. **J. Infect. Dis.** v.196, n.2, p.271-280, jul. 2007.

CHECCIA, P.A., *et al.* Myocardial injury in children with respiratory syncytial virus infection. **Pediatr. Crit. Care Med.**; v.1, n.2, p.146-150, oct. 2000.

CHEUK, D.K. *et al.* Rhinovirus infection in hospitalized children in Hong Kong: a prospective study. **Pediatr Infect Dis J.** v.26, n.11, p.995-1000, nov. 2007.

CHOI, E.H. *et al.* A common haplotype of interleukin-4 gene *IL4* is associated with severe respiratory syncytial virus disease in Korean children. **J. Infect. Dis.** v.186, n.9, p.1207-1211, nov. 2002.

CHONMAITREE, T. *et al.* Viral upper respiratory tract infection and otitis media complication in young children. **Clin. Infect. Dis.** v.46, n.6, p.815-823, mar. 2008.

CHUNG, J.Y. *et al.* Detection of viruses identified recently in children with acute wheezing. **J Med Virol.** v.79, n.8, p.1238-1243, aug. 2007.

CILLA, G. *et al.* Viruses in community-acquired pneumonia in children aged less than 3 years old: High rate of viral coinfection. **J Med Virol.**, v.80, n. 10, p.1843-1849, oct. 2008.

CINTRA, O.A.L *et al.* Occurrence and Severity of Infections Caused by Subgroup A and B Respiratory Syncytial Virus in Children in Southeast Brazil. **Journal of Medical Virology**; v.65, n. p.408-412, oct. 2001.

CONSTANTOPOULOS, A.G. *et al.* Burden of respiratory syncytial viral infections on paediatric hospitals: a two-year prospective epidemiological study. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**; v.21: n.2; p.102-107, feb. 2002

COSTA, L.F. *et al.* Incidence of respiratory vírus in children less than 5 years old in Uberlândia city, MG, Brazil – January 2001 to May 2003. In: XIV Encontro Nacional de Virologia, 2003, Florianópolis, SC. Vírus Reiews & Research – **Journal of the Brazilian Society for Virology**. Florianópolis: Lagoa Ed. Ltda., v.98, p.245-246, 2003.

COSTA, L.F. *et al.* Respiratory viruses in children younger than five years old with acute respiratory disease from 2001 to 2004 in Uberlandia, MG, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n.3, p. 301-306, may. 2006.

DANNY, F.W. The clinical impact of human respiratory virus infection. **Am J Respir Crit Care Med**, v.152, n.4, pt.2, p.S4-S12, oct. 1995.

DEBUR, M.C. *et al.* Immunohistochemical assessment of respiratory viruses in necropsy samples from lethal non-pandemic seasonal respiratory infections. **J Clin Pathol.**; v.63, n.10, p.930-934, oct, 2010.

DENG, Y. *et al.* High Viral Load of Human Bocavirus Correlates with Duration of Wheezing in Children with Severe Lower Respiratory Tract Infection. **PLoS ONE**; V. 7, n. 3, p. e34353, mar. 2012

DENNY, F.W.; LODA, F.A. Acute respiratory infections are the leading cause of death in children in developing countries. **Am J Trop Med Hyg.**, v.35, n.1, p.1-2, jan. 1986.

DEBIAGGI, M. *et al.* The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. **Virology Journal**, v.9, n.9, p.265, oct. 2012.

Diretrizes brasileiras em pneumonia adquirida na comunidade em pediatria – 2007. **J Bras Pneumol.**; v.33(supl 1), p. S31-S50, abr. 2007.

DOUGLAS, R.M. *et al.* A prospective study of proneness to acute respiratory illness in the first two years of life. **Int J Epidemiol.** v.23, n.4, p.818–825, aug. 1994.

EDE, L.C. *et al.* Effect of the 2009 Influenza A/H1N1 Pandemic on viral respiratory infections in the first year of life. **Pediat Infect Dis J**, v.31,n.11, p.1107–1112, nov. 2012.

EHLKEN, B. *et al.* Economic impact of community-acquired and nosocomial lower respiratory tract infections in young children in Germany. **Eur. J. Pediatr.**, v.164, n.10, p.607–615, oct. 2005.

EL SALEEBY, C.M., *et al.* Respiratory syncytial virus load, viral dynamics, and disease severity in previously healthy naturally infected children. **Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n.1, p.996–1002, oct. 2011.

EISENHUT, M. Extrapulmonary manifestations of severe respiratory syncytial virus infection – a systematic review. **Crit. Care.** v.10, n.4, p.R107, jul. 2006.

ERDMAN, D.D. *et al.* GeneScan reverse transcription-PCR assay for detection of six common respiratory viruses in young children hospitalized with acute respiratory illness. **J Clin Microbiol.** v.41, n. 9, p.4298-4303, sept. 2003.

ESPOSITO, S., *et al.* Impact of rhinovirus nasopharyngeal viral load and viremia on severity of respiratory infections in children. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis.** 2013 Jul 28. [Epub ahead of print]

EZZATI, M.; KAMMEN, D.M. Indoor air pollution from biomass combustion and acute respiratory infections in Kenya: an exposure-response study. **Lancet**, v.358, n.9282, p.619–624, aug. 2001.

FAIRCHOK, M.P. *et al.* Epidemiology of viral respiratory tract infections in a prospective cohort of infants and toddlers attending daycare. **J Clin Virol.** v.49, n.1, p.16–20, sept. 2010.

FALSEY, A.R. *et al.* Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. **J Infect Dis;** v.187, n.5, p.785-790, mar. 2003.

FAN, J.; HENRICKSON, K.J.; SAVATSKI, L.L. Rapid simultaneous diagnosis of infections with respiratory syncytial viruses A and B, influenza viruses A and B, and human parainfluenza virus types 1, 2, and 3 by multiplex quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction-enzyme hybridization assay (Hexaplex). **Clin Infect Dis.**, v.26, n.6, p.1397-402, jun. 1998.

FISCHER, G.B. Fatores prognósticos para bronquiolite viral aguda [tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1994.

FISCHER, G.B.; TEPER, A.; COLOM, A.J. Acute viral bronchiolitis and its sequelae in developing countries. **Paediatric Respiratory Reviews**, v.3, n.4, p.298-302, dec. 2002.

GALIANO, M. *et al.* Evidence of human metapneumovirus in children in Argentina. **J Med Virol.**, v.72, n.2, p.299–303, feb.2004.

GARENNE, M.; RONSMANS, C.; CAMPBELL, H. The magnitude of mortality from acute respiratory infections in children under 5 years in developing countries. **Rapp trimmest statist santmond**, v.45, n.2-3, p.180-191, 1992.

GAYNOR, A.M. *et al.* Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections. **PLoSPathog.** v.3, n.5, p.e64, may 2007.

GARCÍA-GARCÍA, M.L. *et al.* Spectrum of respiratory viruses in children with community acquired pneumonia. **Pediatr Infect Dis J.** v.31, n.8, p.808-813, aug. 2012.

GELDER, C.M. *et al.* Associations between human leukocyte antigens and nonresponsiveness to influenza vaccine. **J. Infect. Dis.** Oxford. v.185, n.1, p.114–117, jan. 2002.

GERNA, G. *et al.* Correlation of rhinovirus load in the respiratory tract and clinical symptoms in hospitalized immunocompetent and immune compromised patients. **J MedVirol.**, v.81, n.8, p. 1498-1507, aug. 2009.

GIRARD, M.P. *et al.* A review of vaccine research and development: human acute respiratory infections. **Vaccine**, v.23, n.50, p.5708-5724, dec. 2005.

GRIELY.S. *et al.* Deficient IL-12(p35) gene expression by dendritic cells derived from neonatal monocytes. **J. Immunol.** v.166, n.3, p.2141–2146, feb. 2001.

GRAHAM, N.M.H. The epidemiology of acute respiratory infections in children and adults: a global perspective. **Epidemiol. Rev.**, v.12, n.1, p.149-178, 1990.

HALL, C.B. *et al.* Control of nosocomial respiratory syncytial viral infections. **Pediatrics**, v.62, n.5, p.728-32, nov. 1978.

HALL, C.B. *et al.* Risk of secondary bacterial infection in infants hospitalized with respiratory syncytial viral infection. **J.Pediatr.**,v.113, n.2, p.266-271, aug. 1988.

HALL, C.B.; HALL, W.J. Bronchiolitis.In MANDELL.G.L; BENETT,J.E; DOLIN R. **Principles and Practice of Infectious Diseases**, 4.ed., 619-37, 1995.

HALL, C.B.; MCCARTHY, C.A. Respiratory syncytial virus. In MANDELL.G.L; BENETT,J.E; DOLIN,R., ed. **Principles and Practice of Infectious Diseases**, 4.ed., 1501-19.1995.

HALL, C. B. *et al.* The burden of respiratory syncytial virus infection in young children. **N. Engl. J. Med.** v.360, n.6, p.588–598, feb. 2009.

HAN, L.L.; ALEXANDER, J.P.; ANDERSON, L.J. Respiratory syncytial virus pneumonia among the elderly: an assessment of disease burden. **J Infect Dis.**,v.179, n.1, p.25–30,jan. 1999.

HAWKER, J.I. *et al.* Social deprivation and hospital admission for respiratory infection: an ecological study. **Respiratory Medicine**, v.97, n.11, p.1219–1224, nov. 2003.

HEMMING, V.E. Viral respiratory diseases in children: classification, etiology, epidemiology and risk factors. **J. Pediatr.** v.124, n.5(suppl.), p.S13-16, may. 1994.

HENRICKSON, K.J. *et al.* National disease burden of respiratory viruses detected in children by polymerase chain reaction. **Pediatr Infect Dis J.** v.23, n.1, suppl 1, p.S11-18, jan. 2004.

HINMAN, A.R. Global progress in infectious disease control.**Vaccine**.v.16, n.11-12, p.1116-1121, jul. 1998.

HOLBERG, C.J. *et al.* Risk factors of respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illness in the first year of life. **American Journal of Epidemiology**, v.133, n.11, p.1135-1151, jun. 1991.

HORNSTRUP, M.K. *et al.* Nosocomial respiratory syncytial virus infections in a paediatric department. **J. Hosp. Infect.**, v.26, n.3, p.173-179, mar. 1994.

HORTAL, M. *et al.* A community-based study of acute respiratory tract infections in children in Uruguay. **Rev Infect Dis**, v.12,suppl 8, p.S966-S973, nov-dec 1990.

HORTAL, M. *et al.* Etiology and severity of community acquired pneumonia in children from Uruguay: a 4-year study. **Rev Inst Med Trop S Paulo**,v.36, n.3, p. 255-64, may-jun1994.

HORWOOD, L.J.; FERGUSON, D.M.; SHANNON, F.T. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. **Pediatrics**, v.75, n.5, p.859–868, may. 1985.

HULL, J.; THOMSON, A.; KWIATKOWSKI, D. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. **Thorax**, v.55, n.12, p.1023–1027, dec. 2000.

IMAZ, M.S *et al.* Clinical and epidemiologic characteristics of respiratory syncytial virus subgroups A and B infections in Santa Fe, Argentina. **Journal of Medical Virology**, v.61, n.1, p.76-80, may. 2000.

INOUE, Y. *et al.* CD14-550 C/T, which is related to the serum level of soluble CD14, is associated with the development of respiratory syncytial virus bronchiolitis in the Japanese population. **J. Infect. Dis.** v.195, n.5, p.618–1624, mar. 2007.

IWANE, M.K. *et al.* Human rhinovirus species associated with hospitalizations for acute respiratory illness in young US children. **J Infect Dis.** v.204, n.11, p.1702–1710, dec. 2011.

JACKSON, D.J. *et al.* Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. **Am J Respir Crit Care Med.** v.178, n.7, p.667–672, oct. 2008.

JANSSEN, R. *et al.* Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis is predominantly associated with innate immune genes. **J. Infect. Dis.** v.196, n.6, p.826–834, sept. 2007.

JARTTI, T. *et al.* Persistence of rhinovirus and enterovirus RNA after acute respiratory illness in children. **J. Med. Virol.** v.72, n.4, p.695–699, apr. 2004.

JOHNSTON, S.L. *et al.* Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9–11 year old children. **Br Med J.**, v.310, n.6989, p.1225–1228, may. 1995.

JOHNSON, J.E. *et al.* The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. **Mod. Pathol.**, v.20, n.1, p.108–119, jan. 2007.

JUVÉN, T. *et al.* Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. **Pediatr Infect Dis J**; v.19, n.4, p. 293-298, apr.2000.

KAMIKAWA, J. Estudo da prevalência de infecção por virus respiratórios em um grupo de pacientes oncológicos com febre de início recente e sem sinais de localização de infecção. São Paulo. 53p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1996.

KANEKO, M. *et al.* Impact of respiratory syncytial virus infection as a cause of lower respiratory tract infection in children younger than 3 years of age in Japan. **J Infect**; v.44: n.4, p.240-243, may. 2002.

KAROL, M.H. Respiratory allergy: what are the uncertainties? **Toxicology**, v.181–182, p.305–310, dec. 2002.

KELLNER, G. *et al.* Clinical manifestations of respiratory tract infections due to respiratory syncytial virus and rhinoviruses in hospitalized children. **Acta Paediatr Scand.**, v.78, n.3, p.390–394, may. 1989.

KIM, H.W. *et al.* Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington D.C. I: importance of the virus in different disease syndromes and temporal distribution of infection. **Am. J. Epidemiol.** v.98, n.3, p.216-225, sept. 1973.

KIM, H.W. *et al.* Influenza A and B virus infection in infants and young children during the years 1957-1976. **Am. J. Epidemiol.** v.109, n.4, p.464-479, apr. 1979.

KIMURA, K. *et al.* Isolation and characterization of NMSO3-resistant mutants of respiratory syncytial virus. **Antiviral Research**, v.61, n.3, p.165–171, mar.2004.

KURT-JONES, E.A. *et al.* Role of respiratory viruses in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life: a birth cohort study. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v.25, n.8, p.680–686, aug. 2006.

KUSEL, M.M.H. *et al.* Role of respiratory viruses in acute upper and lower respiratory tract illness in the first year of life. **Pediatr Infect Dis J.** v.25, n.8, p.680-686, aug. 2006.

LAMBERT, S. B. *et al.* The cost of community-managed viral respiratory illnesses in a cohort of healthy preschool-aged children. **Respir. Res.**, v.9, n.1, p.11, jan. 2008.

LANGLEY J.M. *et al.* Economic evaluation of respiratory syncytial virus infection in Canadian children: A Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) study. **J Pediatrics**, v.131, n.1, p.113-117, jul. 1997.

LAW, B.J.; CARBONELL-ESTRANY, X.; SIMOES, E.A.F. An update on respiratory syncytial virus epidemiology: a developed country perspective. **Respiratory Medicine**, v.96, supp.2, p. S1-S7, apr. 2002.

LAU, S.K. *et al.* Clinical features and complete genome characterization of a distinct human rhinovirus (HRV) genetic cluster, probably representing a previously undetected HRV species, HRV-C, associated with acute respiratory illness in children. **J Clin Microbiol.**, v.45, n.11, p.3655-3664, nov. 2007.

LAUGHON, M. *et al.* Patterns of respiratory disease during the first 2 postnatal weeks in extremely premature infants. **Pediatrics**, v. 123, n. 4, p. 1124-31, 2009.

LAUNES *et al.* (2012) Viral load at diagnosis and influenza A H1N1 (2009) disease severity in children. **Influenza and Other Respiratory Viruses** 6(601), e89–e92, may 2012

LEMANSKE, R.F.Jr. *et al.* Rhinovirus illnesses during infancy predict subsequent childhood wheezing. **J Allergy Clin Immunol.** v.116, n.3, p.571–577, sept. 2005.

LEOWSKI, J. Mortality from acute respiratory infections in children under 5 years of age: global estimates. **World Health Stat Q.**,v.39, n.2, p.138–144, 1986.

LEVY, J. The pediatric patient In WENZEL,R.P. ed, **Prevention and control of Nosocomial Infections**. 3. Ed.p.1039-58, 1997.

LEVY, O. Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. **Nat. Rev. Immunol.** v.7, n.5, p.379–390, may. 2007.

LINA, B. *et al.* Surveillance of community – acquired viral infections due to respiratory viruses in Rhone – Alpes (France) during winter 1994 to 1995. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34,n.12, p.3007-3011, dec.1996.

LIN TZOU-YIEN *et al.* Surveillance of respiratory viral infections among pediatric outpatients in northern Taiwan. **Journal of Clinical Virology**, v.30, n.4, p.81-85, may 2004.

LOFGREN, J. *et al.* Association between surfactant protein A gene locus and severe respiratory syncytial virus infection in infants. **J. Infect. Dis.** v.185, n.3, p.283–289, feb. 2002.

MACKIE, P.L. The classification of viruses infecting the respiratory tract. **Paediatric Respiratory Reviews**, v.4, n.2, p.84–90, jun. 2003.

MAFFEY, A.F. *et al.* New respiratory viruses in children 2 months to 3 years old with recurrent wheeze.**Arch Argent Pediatr.** v.106, n.4, p.302–309, jul.-aug. 2008.

MAFFEY, A.F. Viruses and atypical bacteria associated with asthma exacerbations in hospitalized children. **Pediatr Pulmonol.** v.45, n.7, p.619–625, jul. 2010.

MAHONY, J.B. Detection of respiratory viruses by molecular methods. **Clin. Microbiol. Rev.** v.21, n.4, p.716–747, oct. 2008.

MARCONE, D.N. *et al.* Viral Etiology of Acute Respiratory Infections in Hospitalized and Outpatient Children in Buenos Aires, Argentina. **Pediatr Infect Dis J**, v.32, n.3, p. 105-110, mar. 2013.

MARGUET, C. *et al.* In very young infants severity of acute bronchiolitis depends on carried viruses. **PLoSOne**; v.4, n.2, p.e4596, 2009 Epub 2009, feb, 25.

MALETZKY, A.J. *et al.* Epidemiology of viral and mycoplasmal agents associated with childhood lower respiratory illness in a civilian population. **J Pediatr.**, v.78, n.3, p.407–414, mar. 1971.

MANOHA, C. *et al.* Epidemiological and clinical features of HMPV, RSV and RVs infections in young children. **J Clin Virol.**, v.38, n.3, p.221-226, mar. 2007.

MASSIN, M.M. *et al.* Spectrum and frequency of illness presenting to a pediatric emergency department. **Acta Clin. Belg.**, v.61, n.4, p.161–165, jul.-aug. 2006.

MIDULLA, F. *et al.* Rhinovirus bronchiolitis and recurrent wheezing: 1-year follow-up. **European Respiratory Journal**,v.39, n.2, p. 396-402, feb. 2012.

MOSSER, A.G. *et al.* Quantitative and qualitative analysis of rhinovirus infection in bronchial tissues. **Am J Respir Crit Care Med**; v.171, n.6, p.645-651, mar. 2005.

McCONNOCHIE, K.M.; HALL, C.B.; BARKER, W.H. Lower respiratory tract illness in first two years of life: epidemiologic patterns and costs in a suburban pediatric practice. **Am. J. Publ. Health.**, v.78, n.1, p.34-39, jan. 1998.

McINTOSH, K. Human bocavirus: developing evidence for pathogenicity. **J. Infect. Dis.**v.194, n.8, p.1197–1199, oct. 2006.

McNAMARA, P.S. *et al.* Bronchoalveolar lavage cellularity in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. **Arch. Dis. Child.** v.88, n.10, p.922–926, oct. 2003.

MERTSOLA, J. *et al.* Recurrent wheezy bronchitis and viral respiratory infections. **Arch Dis Childh.** v.66, n.1, p.124-129, jan. 1991.

MILLER, E.K. *et al.*; New Vaccine Surveillance Network. A novel group of rhinoviruses is associated with asthma hospitalizations. **J Allergy Clin Immunol.**v.123, n.1, p.98–104.e1, jan. 2009.

MILLER, E.K. Host and viral factors associated with severity of human rhinovirus-associated infant respiratory tract illness. **J Allergy Clin Immunol**, v.127, n.4, p. 883-891, 2011.

MIYAIRI, I.; DEVINCENZO, J.P. Human genetic factors and respiratory syncytial virus disease severity. **Clin. Microbiol. Rev.** v.21, n.4, p.686–703, oct. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Coordenação de Saúde da Criança e do Adolescente. **Tratamento das pneumonias em hospitais de pequeno e médio portes.** Brasília, p.5-7, 1997.

MIYAO, C.R., *et al.* Infecções virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior. **Jornal de Pediatria**, v.75, n.5, p.334-344, sept./oct. 1999.

MONICK, M.M. *et al.* Respiratory syncytial virus up-regulates TLR4 and sensitizes airway epithelial cells to endotoxin. **J. Biol. Chem.**,v. 278, n.52, p.53035–53044, dec. 2003.

MONTO, A.S.; ULLMAN, B.M. Acute respiratory illness in an American community: The Tecumseh study. **JAMA**; v.227, n.2, p.164-169, jan. 1974.

MONTO, A.S. Epidemiology of Viral Respiratory Infections. **Am J Med.** v.112, n.6(suppl.1), p.4S–12S, apr. 2002.

NARAIN, J.P. Epidemiology of acute respiratory infections. **Indian J Pediatr.**,v.54, n.2, p.153-160, mar.-apr. 1987.

NEUZIL, K.M. *et al.* Burden of interpandemic influenza in children younger than five years: a 25 year prospective study. **J Infect Dis**, v.85, n.2, p.147–52, jan. 2002.

NG, M.W. *et al.* The association of RANTES polymorphism with severe acute respiratory syndrome in Hong Kong and Beijing Chinese. **BMC Infect. Dis.** v.7, p.50, jun. 2007.

NICHOLSON, K. G. *et al.* Rates of hospitalisation for influenza, respiratory syncytial virus and human metapneumovirus among infants and young children. **Vaccine**, v.24, n.1, p.102–108, jan. 2006.

NOYOLA, D. E. *et al.* Viral etiology of lower respiratory tract infections in hospitalized children in Mexico. **Pediatr Infect Dis J.**, v.23, n.2, p.118-123, feb. 2004.

OKIRO, E.A. *et al.* Factors associated with increased risk of progression to respiratory syncytial virus-associated pneumonia in young Kenyan children. **Trop. Med. Int. Health**, v.13, n.7, p.914–926, jul. 2008.

OLIVEIRA, T.F.M. *et al.* Prevalence and clinical aspects of respiratory syncytial virus A and B groups in children seen at Hospital de Clínicas of Uberlândia, MG, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.103, n.5, p.417-422, 2008.

OLSZEWSKA, W.; ZAMBON, M.; OPENSHAW, P.J.M. Development of vaccines against common colds. **Br. Med. Bull.** v.62, n.1, p.99-111, jul. 2002.

OMS, 1981 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **OMS Technical Report Series** 661. P6-27, 1981;

PARANHOS-BACCALA, G. *et al.* Mixed respiratory virus infections. **J Clin Virol.**; v.43, n.4, p.407-410, 2008

PATTEMORE, P.K.; JOHNSTON, S.L.; BARDIN, P.G. Viruses as precipitants of asthma symptoms 1: epidemiology. **Clin Exp Allergy.** v.22, n.3, p.325–336, mar. 1992.

PELTOLA, V. *et al.* Clinical effects of rhinovirus infections. **J Clin Virol**, v.43, n.4, p. 411-4, dec. 2008.

PELTOLA, V. *et al.* Rhinovirus Infections in Children: A Retrospective and Prospective Hospital-Based Study. **Journal of Medical Virology.** v.81, n.10, p.1831–1838, oct. 2009.

PAPADOPOULOS, N.G. *et al.* Rhinoviruses replicate effectively at lower airway temperatures. **J Med Virol.**, v.58, n.1, p.100 –104, may. 1999.

PAPADOPOULOS, N.G. *et al.* Association of rhinovirus infection with increased disease severity in acute bronchiolitis. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v.165, n.9, p. 1285–1289, may. 2002.

PAULUS, S.C. *et al.* Common human Toll-like receptor 4 polymorphisms—role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance. **Clin. Immunol.** v.123, n.3, p.252–257, jun. 2007.

PIHLGREN, M. *et al.* Unresponsiveness to lymphoid-mediated signals at the neonatal follicular dendritic cell precursor level contributes to delayed germinal center induction and limitations of neonatal antibody responses to T-dependent antigens. **J. Immunol.** v.170, n.6, p.2824–2832, mar. 2003.

PITREZ, P.M. *et al.* Bronquiolite aguda por rinovírus em lactentes jovens. **J Pediatr (Rio J)**, v.81, n.5, p.417-420, set.-out. 2005.

PUTHOTHU, B. *et al.* Association between severe respiratory syncytial virus infection and IL13/IL4 haplotypes. **J. Infect. Dis.** v.193, n.3, p. 438–441, feb. 2006.

QUEIRÓZ, D.A.O. *et al.* Immune response to respiratory syncytial virus in young brazilian children. **Braz J Med Biol Res.**, v.35, n.10, p.1183-1193, oct. 2002.

REED, J. L. *et al.* Innate immune signals modulate antiviral and polyreactive antibody responses during severe respiratory syncytial virus infection. **J. Infect. Dis.** v.199, n.8, p.1128–1138, apr. 2009.

REIS, A.D. *et al.* Comparison of direct immunofluorescence, conventional cell culture and polymerase chain reaction techniques for detecting respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates from infants. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.50, n.1, p.37–40, jan.-feb. 2008.

RICHARD, N. *et al.* The impact of dual viral infection in infants admitted to a pediatric intensive care unit associated with severe bronchiolitis. **Pediatr Infect Dis J.** v.27, n.3, p.213–217, mar. 2008.

RODRIGUES, J.C.; SILVA FILHO, L.V.F.; BUSH, A. Diagnóstico etiológico das pneumonias - uma visão crítica. **Jornal de Pediatria**, v.78 (suppl.2): S129-S140, nov.-dec. 2002.

SADEGHI, C.D. *et al.* Twelve years' detection of respiratory viruses by immunofluorescence in hospitalised children: impact of the introduction of a new respiratory picornavirus assay. **BMC Infect Dis.**, v.11,n.2, p.41f. 2011.

SATTAR, S.A. *et al.* Hygienic hand antiseptics: Should they not have activity and label claims against viruses? **American Journal of Infection Control**, v.30, n.6, p. 355-372, oct.2002.

SAURO, A. *et al.* Do influenza and acute respiratory infective diseases weigh heavily on general practitioner's daily practice? **Eur. J. Gen. Pract.** v.12, n.1, p.34–36, jan. 2006.

SCAGNOLARI, C., *et al.* Evaluation of viral load in infants hospitalized with bronchiolitis caused by respiratory syncytial virus. **Med Microbiol Immunol.**, v. 201, n.3, p.311-317, aug. 2012. Epub 2012 Mar 10.

SCHILDGEN, O. *et al.* Human bocavirus: passenger or pathogen in acute respiratory tract infections? **Clin Microbiol Rev.** v.21, n.2, p.291–304, apr. 2008.

SCHLAUDECKER, E.P. *et al.* Etiology and seasonality of viral respiratory infections in rural honduran children. **Pediatr Infect Dis J.** v.31, n.11, p.1113-1118, nov. 2012.

SCHMITT, H.J. *et al.* The beginning of a new era: systematic testing for pathogens causing acute respiratory tract infections (ARI) in children. **Jornal de Pediatria**, v.83, n.5, p.391-394, sept.-oct. 2007.

SCHUTZE, G.E., JACOBS, R.F. Lower respiratory tract infections of infants and children. In NIEDERMAN MS, SAROSE G, GLASSROTH J. Ed., **Respiratory infections – A scientific basis for management.** p.103-13, 1994.

SCHWARTZ, B. *et al.* Respiratory infections in daycare. **Pediatrics.** v.94, n.6, p.1018–1020, dec. 1994.

SEMPLE, M.G. *et al.* Dual infection of infants by human metapneumovirus and human respiratory syncytial virus is strongly associated with severe bronchiolitis. **J. Infect. Dis.**, v.191, n.3, p.382–386, feb. 2005.

SHEK, LYNETTE PEI-CHI; LEE, BEE-WAH. Epidemiology and seasonality of respiratory tract virus infections in the tropics. **Paediatr. Respirat. Rev.**, v.4, n.2, p.105–111, jun. 2003.

SIEGRIST, C.A.; R. ASPINALL, R. B-cell responses to vaccination at the extremes of age. **Nat. Rev. Immunol.** v.9, n.3, p.185–194, mar. 2009.

SIEZEN, C.L. *et al.* Genetic susceptibility to respiratory syncytial virus bronchiolitis in preterm children is associated with airway remodeling genes and innate immune genes. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 28, n.4, p. 333–335, apr. 2009.

SILVA, D.C. *et al.* Asma e atopia em crianças com infecção anterior pelo vírus respiratório sincicial. **Jornal Paranaense de Pediatria**, v.2, p. 38-41, 2001.

SIMOES, E.A. Environmental and demographic risk factors for respiratory syncytial virus lower respiratory tract disease. **J. Pediatr.** v.143, n.5(suppl.), p.S118–S126, nov. 2003.

SMIT, P.M., *et al.* RT-PCR detection of respiratory pathogens in newborn children admitted to a neonatal medium care unit. **Pediatr Res.** 2013 Mar; v.73, n.3, p.355-361, mar. 2013. Epub 2012 Nov 30.

SMUTS, H.E.; WORKMAN, L.J.; ZAR, H.J. Human rhinovirus infection in young African children with acute wheezing. **BMC Infect Dis.** v.11, p.65, mar. 2011.

SOUZA, L.S.F. *et al.* Viral respiratory infections in young children attending day care in urban northeast Brazil. **Pediatr Pulmonol.**, v.35, n.3, p.184 –191, mar. 2003.

STENSBALLE, L.G.; DEVASUNDARAM, J.K.; SIMOES, E.A.F. Respiratory syncytial virus: the ups and downs of a seasonal virus. **Pediatric Infect Dis J**, v.22, n.2, p. S21-S32, feb. 2003.

STOCKTON, J. *et al.* Human Metapneumovirus as a cause of community-acquired respiratory illness. **Emerg Infect Dis.**, v.8, n.9, p.897-901, sept. 2002.

TAKEYAMA, A., *et al.* Rhinovirus load and disease severity in children with lower respiratory tract infections. **J. Med. Virol.**, v.84, n.7, p.1135–1142, jul. 2012

TAL, G. *et al.* Association between common Toll-like receptor 4 mutations and severe respiratory syncytial virus disease. **J. Infect. Dis.**, v.189, n.12, p.2057–2063, jun. 2004.

TANG, Y.W. *et al.* Host single-nucleotide polymorphisms and altered responses to inactivated influenza vaccine. **J. Infect. Dis.**, v.196, n.8, p.1021–1025, oct. 2007.

TAUSSIG, L.M. *et al.* Treatment of laryngotracheobronchitis (croup). Use of intermitente positive-pressure breathing and racemic epinephrine. **Am. J. Dis. Child**, v.129, n.7, p.790-795, jul. 1975.

THOMAZELLI, L.M. *et al.* Surveillance of eight respiratory viruses in clinical samples of pediatric patients in southeast Brazil. **J Pediatr (Rio J)**, v.83,n.5, p.422-428, set.-out. 2007.

TSUCHIYA, L.R.R.V. *et al.* Viral respiratory infection in Curitiba, Southern Brazil. **J Infect.**, v.1, n.5, p.401-407, dec. 2005.

TURNER, R.B. Nosocomial viral respiratory infections in pediatric patients. In MAYHALL GG. ed. Hospital Epidemiology and Infection Control. P. 485-93. 1996.

VALENTI, W.M. Selected viruses of nosocomial importance. In BENNETT, J.V.; BRACHMAN,P.S. ed. 3. Ed Hospital Infections, p.789-821, 1992.

Van BENTEN, I. *et al.* Predominance of rhinovirus in the nose of symptomatic and asymptomatic infants. **Pediatr. Allergy Immunol.**, v.14, n.5, p. 363–370, oct. 2003.

Van Den HOOGEN, B.G. *et al.* 2001. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. **Nat Med.**, v.7, n.7, p.719-724, jul. 2001.

Van Der Zalm, M.M. *et al.* Respiratory pathogens in children with and without respiratory symptoms. **J Pediatr**, v.154, n.3, p. 396-400, 400 e1, mar. 2009.

Van LEEUWEN, J.C., *et al.* Equal virulence of rhinovirus and respiratory syncytial virus in infants hospitalized for lower respiratory tract infection. **Pediatr Infect Dis J**. v.31, n.1, p.84-86, jan.2012. .

VIDELA, C. *et al.* Acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus and adenovirus among hospitalized children from Argentina. **Clin Diagn Virol.**, v.10, n.1, p.17–23, may. 1998.

VIEIRA, S.E. *et al.* Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial virus hospitalizations in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.43, n.3, p.125-131, maio-jun. 2001.

WAFULA, E.M. *et al.* Epidemiology of acute respiratory tract infections among young children in Kenya. **Reviews of Infectious Diseases**, v.12, suppl 8, p.1035-1038, nov.-dec.1990.

WALSH, E.E. *et al.* Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain. **Journal of Infectious Disease**, v.175, n.4, p.814-820, apr. 1997.

WARK, P.A. *et al.* Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. **J Exp Med**. v.201, n.6, p.937-947, mar. 2005.

WEIGL, J.A. *et al.* Evaluation of a multiplex reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of nine respiratory tract pathogens. **J Clin Virol.**, v.30, n.2, p.165-174, jun. 2004.

WEIGL, J.A. *et al.* Ten years' experience with year-round active surveillance of up to 19 respiratory pathogens in children. **Eur. J. Pediatr.**, v.166, n.9, p.957-966, sept. 2007.

WEINBERG, G.A. *et al.* Superiority of reverse-transcription polymerase chain reaction to conventional viral culture in the diagnosis of acute respiratory tract infections in children. **J Infect Dis.**, v.189, n.3, p.706-710, feb. 2004.

WEISSENBACHER, M. *et al.* Etiologic and clinical evaluation of acute lower respiratory tract infections in young Argentinian children: an overview. **Rev Infect Dis.**, v.12, suppl8, p.S889-S898, nov.- dec. 1990.

WESTLEY, C.R.; COTTON, E.K.; BROOK, J.G. Nebulised racemic epinephrine by IPPB for the treatment of croup: A double-blind study. **Am J Dis Child.**, v.132, n.5, p.484-487, may 1978.

WHO. Leading Infectious Killers. **Infectious Disease Report 1998**. World Health Organisation. 1999.

WILLIAMS, B.G., *et al.* Estimates of worldwide distribution of child deaths from acute respiratory infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v.2, n.1, p. 25-32, jan. 2002.

WINTHER, B., *et al.* Rhinovirus Contamination of Surfaces in Homes of Adults With Natural Colds: Transfer of Virus to Finger tips During Normal Daily Activities. **Journal of Medical Virology**, v.83, n.5, p.906-909, may 2011.

WHO. Burden of Disease Project. **World Health Organization**, Geneva, Switzerland. 2005.

WOS, M. *et al.* The presence of rhinovirus in lower airways of patients with bronchial asthma. **Am J Respir Crit Care Med**, v.177, n.10, p.1082-109, 2008.

WRIGHT, A.L. *et al.* The Tucson children's respiratory study, II: lower respiratory tract illness in the first year of life. **Am J Epidemiol.** v.129, n.6, p.1232–1246, jun. 1989.

WRIGHT, P.F. *et al.* Comparison of results of detection of rhinovirus by PCR and viral culture in human nasal wash specimens from subjects with and without clinical symptoms of respiratory illness. **J. Clin. Microbiol.**, v. 45, n.7, p.2126–2129, jul. 2007.

www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=317020. Acesso em 24/06/2013.

ZAHRDNIK, J.M.; CHERRY, J.D. Influenza viruses. In FEIGIN, R.D.; CHERRY, J.D ed. **Textbook of Pediatric Infectious Diseases.** 2^a. Ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 1987. 2 v. v.2, p.1709-1729.

ZAMORANO, W.A. *et al.* Relación entre bronquiolitis aguda con factores climáticos y contaminación ambiental. **Revista Médica de Chile**, v.131, n.10, p.1117-1122, oct. 2003.

ZLATEVA, K.T.; Van RANST, M.V. Detection of subgroup B respiratory syncytial virus in the cerebrospinal fluid of a patient with respiratory syncytial virus pneumonia. **Pediatr Infect Dis J**; v.23, n.11,p.1065-1066, nov. 2004.

9. Anexos

Anexo A

Termo de consentimento livre e esclarecido

Pesquisa de vírus respiratórios e aspectos da resposta imune em espécimes clínicos obtidos de crianças de 0-5 anos de idade de regiões do Triângulo Mineiro, MG
Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia

Sr. Pais/Responsáveis,

Os vírus respiratórios são os principais agentes causadores de doença respiratória aguda em crianças menores de cinco anos de idade, razão pela qual a equipe de Virologia da UFU vem desenvolvendo pesquisa nesse assunto.

A detecção do agente viral que está causando a infecção em seu filho, além de auxiliar o médico a tratá-lo, irá fornecer informações para trabalhos sobre mecanismos de infecção e sobre a circulação dos principais vírus respiratórios em nossa região.

É importante lembrar que a participação neste estudo é voluntária, que o nome de seu filho não será divulgado e que as amostras clínicas não serão utilizadas para nenhum outro estudo.

Se for do seu consentimento a coleta de secreção de nasofaringe (aspirado) e de 2-3mL de sangue de seu filho, favor assinar este documento.

Uberlândia: ___/___/___

Nome do pai/mãe ou responsável: _____

Assinatura: _____

Médicos responsáveis: _____

Profs. Drs. Orlando César Mantese e Hélio Lopes da Silveira

Coordenadora do Projeto:

Profa. Dra. Divina A. O. Queiróz

(34) 3218-2664

Comitê de Ética em Pesquisa da UFU

(34) 3239-4131

Anexo B

FICHA CLÍNICA – PROJETO VÍRUS RESPIRATÓRIOS

Prontuário: _____

Local atendimento: _____ Data: ____/____/____

Data nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Gênero: M F

Duração da gestação: _____ semanas (definir: pré-termo ou termo) Cor: _____

Aleitamento materno: não sim (duração: _____)

Pais fumantes: não sim Pais atópicos: não sim

Doença de base presente (descrever qual patologia apresenta)

Cardiopatía: não sim

Displasia broncopulmonar: não sim

Imunodeficiência: não sim

Outras (definir): não sim

Descrição do quadro clínico

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| ▪ Início dos sintomas: _____ dias | ▪ Dor de garganta: não sim |
| ▪ Febre: _____ dias | ▪ Dor no corpo: não sim |
| ▪ Coriza: _____ dias | ▪ Mal estar: não sim |
| ▪ Tosse: _____ dias | ▪ Secreção ocular: não sim |
| ▪ Espirros: _____ dias | ▪ Hiperemia ocular: não sim |
| ▪ Outros: _____ | |

Frequência respiratória: _____ irpm

Murmúrio vesicular: _____ Chiados (sibilos): não sim

Retrações torácicas (tiragens): não sim

Apnéia ao atendimento (maior 20 seg com cianose ou bradicardia): não sim

Medicação em uso: _____

Rx de tórax: Hiperinsuflação não sim

Consolidação não sim

Atelectasia não sim

Gasometria arterial: pH= PaCO₂= PaO₂=

HCO₃= SatO₂= BE=

DIAGNÓSTICO NOSOLÓGICO: _____

Admissão: ____/____/____ Local: _____

Ventilação artificial: não sim (_____ dias)