



**Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

---

**João Batista Salomão Junior**

**Infecções Agudas por Vírus Sincicial**

**Respiratório em Crianças Hospitalizadas por**

**Doenças do Aparelho Respiratório Inferior**

**São José do Rio Preto**  
**2008**

João Batista Salomão Junior

**Infecções Agudas por Vírus Sincicial  
Respiratório em Crianças Hospitalizadas por  
Doenças do Aparelho Respiratório Inferior**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina de São José do Rio Preto para  
obtenção do Título de Doutor no Curso  
de Pós-graduação em Ciências da  
Saúde, Eixo Temático: Medicina Interna.

**Orientadora: Profa. Dra. Dirce Maria Trevisan Zanetta**

São José do Rio Preto  
2008

Salomão Júnior, João Batista

Vírus sincicial respiratório como causa de infecções respiratórias em crianças hospitalizadas / João Batista

Salomão Júnior

São José do Rio Preto, 2008

82 p.;

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina Interna

Orientadora: Profa. Dra. Dirce Maria Trevisan Zanetta

1. Vírus Sincicial Respiratório; 2. Infecções Respiratórias; 3. Infecções Virais Agudas; 4. Criança; 5. Hospitalização.

João Batista Salomão Junior

**Infecções Agudas por Vírus Sincicial  
Respiratório em Crianças Hospitalizadas por  
Doenças do Aparelho Respiratório Inferior**

Banca Examinadora

Tese para Obtenção do Grau de Doutor

Presidente e Orientadora: **Profa. Dra. Dirce Maria Trevisan Zanetta**

2º Examinador: **Prof. Dr. Airton Camacho Moscardini**

3º Examinador: **Prof. Dr. Reinaldo Azoubel**

4º Examinador: **Prof. Dr. José Dirceu Ribeiro**

5º Examinador: **Prof. Dr. Dioclésio Campos Júnior**

São José do Rio Preto, 08/02/2008

## SUMÁRIO

Dedicatória.....	i
Agradecimentos .....	ii
Lista de Figuras.....	v
Lista de Tabelas e Quadros .....	vi
Lista de Abreviaturas e Símbolos.....	viii
Resumo.....	ix
Abstract.....	xi
<b>1. Introdução .....</b>	<b>01</b>
1.1. Objetivos .....	14
<b>2. Casuística e Método .....</b>	<b>15</b>
2.1. Local do Estudo .....	16
2.2. Tipo de Estudo .....	17
2.3. Casuística .....	17
2.3.1. Critérios de inclusão .....	17
2.3.2. Período do Estudo.....	18
2.4. Aspectos Éticos.....	18
2.5. Método .....	18
2.5.1. Critérios Diagnósticos.....	18
2.5.2. Instrumentos Utilizados .....	20
2.5.3. Procedimentos para Coleta dos Dados .....	20
2.5.4. Procedimentos Terapêuticos .....	21

2.5.5.	Procedimentos para Coleta, Armazenamento e Processamento das Amostras de Secreção Nasofaríngea	21
2.5.6.	Diagnóstico por RT-PCR	22
2.5.6.1.	Extração do RNA	22
2.5.6.2.	Transcrição Reversa	23
2.5.6.3.	Amplificação	23
2.5.6.4.	Análise dos Produtos Amplificados	25
2.6.	Análise dos Dados	26
<b>3.</b>	<b>Resultados</b>	<b>27</b>
<b>4.</b>	<b>Discussão</b>	<b>48</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusões</b>	<b>58</b>
<b>6.</b>	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>60</b>
<b>7.</b>	<b>Anexos</b>	<b>76</b>
<b>8.</b>	<b>Apêndices</b>	<b>78</b>

- ✓ Aos meus pais João Baptista (*in memoriam*) e Zenaide pelos seus sonhos, seu trabalho incansável, que nunca mediaram esforços para minha formação intelectual e moral. Minha eterna gratidão e meu amor incondicional. Saibam que valeu a pena.

---

**Agradecimentos**

- ✓ À querida orientadora Profa. Dra. Dirce Maria Trevisan Zanetta com minha admiração, respeito e profunda gratidão por sua competência, apoio, paciência e amizade.
  
- ✓ Ao Prof. Dr. Dioclécio Campos Junior, grande mestre, por tudo que me ensinou e pelo estímulo à carreira universitária.
  
- ✓ Ao Professor Rubens Trombini Garcia, exemplo de competência, disciplina e amizade, pelos primeiros ensinamentos em Pediatria.
  
- ✓ Á Profa. Dra. Tatiana Rozov, Chefe da Unidade de Pneumologia Pediátrica do Instituto da Criança da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, responsável pela minha formação em Pneumologia Infantil, com todo seu conhecimento, rigor e interesse científico.
  
- ✓ Aos residentes da Pneumologia Infantil: Eliane Cristina Mizue Ono, Fábio Luria Duarte, e Rosana Sabina Fiore, Junia Maria Moraes Faleiros e Dirço Teruo Yamamoto Junior.

- ✓ À Profa. Dra. Paula Rahal, Dra. Eloísa, Dra. Fátima, Luciana, Cíntia, Gustavo e Juliana pela atenção e dedicação na realização dos exames no IBILCE.
- ✓ Aos funcionários da pós-graduação da FAMERP: Rose, José Antônio, Fabiana, Guilherme, Luis Henrique e Eduardo.
- ✓ Aos colegas de pós-graduação, especialmente Luciano Garcia Lourenção.
- ✓ Ao professor Renato Braz de Araújo e a Profa. Adília Sciarra.
- ✓ A funcionária Juceléea Soares da Silva.
- ✓ À Marta Elisa, secretária do Laboratório de Epidemiologia.
- ✓ A Flávio Bardella e Pedro Carvalho da Tecnologia da Informação do Hospital de Base.
- ✓ Aos funcionários da Emergência, Enfermaria e UTI do Hospital de Base.
- ✓ Às crianças da pesquisa no Hospital de Base e seus responsáveis pela confiança e cooperação durante a realização deste trabalho.

- ✓ À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).
- ✓ Aos meus irmãos, Naidiléa, Luis Vitor, Rosana, e Tereza Cristina e familiares, pelo carinho e respeito a minha pessoa durante estes dourados anos de família Salomão.
- ✓ A querida Maria Lúcia minha esposa e companheira de longos anos, principal responsável pelo atual trabalho e pelos momentos mais felizes da minha vida.
- ✓ A nossas queridas filhas Marcela e Letícia expressão de amor, de carinho, de compreensão quando estive ausente em momentos importantes e de motivação constante no caminhar pela vida.
- ✓ A DEUS, pelo Dom da VIDA, pela presença e abrigo constante e por ter me iluminado nesta caminhada.
- ✓ A todos aqueles que fizeram parte desta etapa de minha vida e que contribuíram para a concretização deste sonho. Meu eterno **OBRIGADO...**

---

**Lista de Figuras**

- Figura 1. Desenho esquemático da região utilizada para a realização do PCR e da Semi-nested PCR realizada para identificar a presença do Vírus Sincicial Respiratório..... 25
- Figura 2. Número de internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior das crianças no Hospital de Base por mês com VSR positivo e numero total de internações no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto..... 36
- Figura 3. Frequência de internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior das crianças no Hospital de Base por mês com VSR positivo, em relação ao total de internações, no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto..... 37
- Figura 4. Distribuição das internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior das crianças no Hospital de Base por mês com VSR positivo, número total de internações no período e médias mensais de temperatura e umidade relativa do ar no período de maio/2004 a setembro/2005 na região de São José do Rio Preto..... 38
- Figura 5. Distribuição da presença do vírus sincicial respiratório por diagnóstico e faixa etária dos 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto..... 41

---

**Lista de Tabelas e Quadros**

---

Quadro 1.	<i>Primers</i> utilizados na reação de amplificação.....	23
Tabela 1.	Características sócio-demográficas e antecedentes pessoais das crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	30
Tabela 2.	Características de antecedentes familiares para doença respiratória aguda das crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	31
Tabela 3.	Características de antecedentes pessoais para doença respiratória crônica das crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	32
Tabela 4.	Características da história anterior de enfermidades respiratórias nas crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	33
Tabela 5.	Características por diagnóstico e frequência de VSR das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	39

Tabela 6.	Características de sinais para doença respiratória aguda das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	43
Tabela 7.	Manifestações clínicas pulmonares das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	44
Tabela 8.	Características do uso de medicação antes da internação das crianças com doença aguda do aparelho respiratório inferior no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	45
Tabela 9.	Características do uso de medicação durante a internação das crianças com doença aguda do aparelho respiratório inferior no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	46
Tabela 10.	Características da investigação diagnóstica por exame complementar das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.....	47

---

**Lista de Abreviaturas e Símbolos**

$\geq$	- maior ou igual
<b>BOSTID</b>	- <i>Board on Science and Technology for Internacional Development</i>
<b>CDC</b>	- <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
<b>CEPAL</b>	- <i>Comisión Economica para América Latina y el Caribe</i>
<b>DARI</b>	- Doenças agudas do aparelho respiratório inferior
<b>HB</b>	- Hospital de Base
<b>IgG</b>	- Imunoglobulina G
<b>IgM</b>	- Imunoglobulina M
<b>IVAS</b>	- Infecção das Vias Aeríferas Superiores
<b>NCHS</b>	- <i>National Center Health Statistic</i>
<b>OMS</b>	- Organização Mundial de Saúde
<b>OPAS</b>	- Organização Panamericana de Saúde
<b>PCR</b>	- <i>Polimerase Chain Reaction</i>
<b>PIB</b>	- Produto Interno Bruto
<b>RT-PCR</b>	- <i>Reverse transcription and polymerase chain reaction amplification</i>
<b>TCLE</b>	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>UNESP</b>	- Universidade Estadual Paulista
<b>VSR</b>	- Vírus Sincicial Respiratório

**Introdução:** As doenças agudas do aparelho respiratório inferior (DARI) são responsáveis por altos índices de mortalidade e morbidade infantil em todo mundo. Dentre os patógenos predominantes encontra-se o vírus sincicial respiratório (VSR). **Objetivos:** Os objetivos foram: 1) avaliar a frequência do VSR em crianças de 0 a 6 anos hospitalizadas por DARI em São José do Rio Preto, SP; 2) caracterizar a sazonalidade do vírus nessa cidade e 3) evidenciar possível associação de dados epidemiológicos, clínicos e diagnósticos e este agente viral. **Casuística e Método:** No período de maio de 2004 a setembro de 2005 foram estudadas 278 crianças de 0 a 6 anos com DARI adquirida na comunidade, internadas na enfermaria, emergência e Unidade de Terapia Intensiva Pediátrica do Hospital de Base de São José do Rio Preto, que estavam assintomáticas por um período de 7 dias antes do início da doença. Foram utilizados questionários para caracterização das crianças e do quadro clínico. Para identificação do VSR foram coletadas amostras de secreção de nasofaringe, utilizando-se a técnica de *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). **Resultados:** Os resultados mostraram que nas 290 internações por DARI, o VSR foi positivo em 29,3%. DARI foi mais freqüente em lactentes (mediana = 13,5 meses) e do gênero masculino (57,6%). O VSR foi mais freqüente nos casos de bronquiolite (64%). As infecções VSR+ foram mais freqüentes no primeiro ano de vida (35%). Nas infecções VSR+, a freqüência de pneumonia variou de 19,5 a 26,2% nas faixas etárias estudadas; em 31,8% das crianças maiores de 2 anos observou-se sibilância aguda;

bronquiolite foi registrada em 62,5% das crianças menores de 1 ano; pneumonia com derrame pleural foi notada em 18,7% das crianças maiores de 2 anos. **Conclusões:** A frequência do VSR em crianças de 0 a 6 anos hospitalizadas por DARI em São José do Rio Preto, SP, foi 29,3%. As DARI foram mais frequentes entre junho e novembro de 2004. Em 2005, as internações ocorreram principalmente a partir de março, com queda em setembro. Houve predomínio do VSR em crianças de 0 a 2 anos, do gênero masculino e com bronquiolite. A frequência do VSR nas internações foi maior em 2004 que em 2005. Nas infecções VSR+ os casos de pneumonia tiveram ocorrência semelhante nas faixas etárias estudadas. Houve redução da frequência do VSR com aumento da idade nos casos de pneumonia com derrame pleural e aumento nos casos de sibilância aguda; na bronquiolite a maioria dos casos VSR+ ocorreu em crianças menores de 1 ano. Os dados clínicos e radiológicos encontrados não permitiram a identificação correta da infecção pelo VSR, havendo necessidade do exame laboratorial pela técnica RT-PCR para sua identificação.

**Palavras-Chave:** 1. Doenças agudas do aparelho respiratório inferior; 2. Vírus sincicial respiratório; 3. Crianças.

---

**Abstract**

**Introduction:** Acute lower respiratory tract disease (ALRTD) accounts for high infantile mortality and morbidity rate worldwide. Respiratory syncytial virus (RSV) is frequently found among pathogens. **Objectives:** The objectives were: 1) to evaluate the RSV frequency in children from 0 to 6 years hospitalized due to acute lower respiratory disease in São José do Rio Preto, SP; 2) to characterize the virus seasoning in this city and 3) to verify possible association among epidemiologic, clinical and diagnostic data with this viral agent. **Casuistic and Method:** From May 2004 to September 2005, 278 children aged from 0 to 6 years with ALRTD were studied. They have contracted the disease in the community, hospitalized in the children's ward, emergency room and Pediatric Intensive Care Unit of Hospital de Base, São José do Rio Preto. They were asymptomatic in a 7-day period before the beginning of the disease. Questionnaires were used for the children's characterization and their clinical presentation. Samples of nasopharyngeal secretion were collected to identify RSV, using *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR). **Results:** The results showed that in the 290 hospitalizations of ALRTD, RSV was positive in 29.3%. ALRTD was more frequent in infants (average = 13.5 months) and male (57.6%). RSV was more frequent in bronchiolitis cases (64%). RSV+ infections were more frequent in the first year of life (35%). In RSV + infections, pneumonia frequency varied from 19.5 to 26.2% in the studied age groups; acute wheezing was observed in 31.8% of children aged over 2 years; bronchiolitis was registered in 62.5% of the children younger than 1 year; pneumonia with pleural effusion was noticed

in 18.7% of the children aged over 2 years. **Conclusions:** The frequency of RSV in children from 0 to 6 years hospitalized due to ALRTD was 29.3% in São José do Rio Preto, SP. The ALRTD were more frequent between June and November 2004. In 2005, the hospitalizations occurred mainly starting from March decreasing in September. There was RSV prevalence in children younger than 2 years, male and with bronchiolitis. The RSV frequency in the hospitalizations was higher in 2004 than in 2005. In the RSV+ infections, the cases of pneumonia had similar occurrence in the studied age groups. There was reduction of the RSV frequency as age increases in the cases of pneumonia with pleural effusion and increase in the cases of acute wheezing; in bronchiolitis most of the RSV+ cases occurred in children younger than 1 year. The clinical and radiological data obtained did not allow the proper identification of the infection by RSV. Laboratory examination by means of RT-PCR was necessary to identify it.

**Key-Words:** 1. Acute lower respiratory tract disease; 2. Respiratory syncytial virus; 3. Children.

## 1. INTRODUÇÃO

---

## 1. INTRODUÇÃO

Doenças agudas do aparelho respiratório inferior (DARI) são caracterizadas por processos inflamatórios agudos, infecciosos ou não, acometendo alvéolos, bronquíolos, brônquios e espaço intersticial.<sup>(1)</sup> Essas doenças são responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade infantil em todo o mundo.<sup>(2-6)</sup> Dados da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) e Organização Mundial de Saúde (OMS) referentes à prevalência e incidência de infecções respiratórias agudas na América Latina revelam que essas doenças são a principal causa de atendimentos ambulatoriais em pediatria, representando 40 a 60% de todos os atendimentos.<sup>(7,8)</sup> Representam, portanto, problema de saúde pública.

Segundo a OMS cerca de 4 milhões de crianças menores de 5 anos morrem por DARI, anualmente. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e o vírus sincicial respiratório (VSR) são os patógenos predominantes.<sup>(9)</sup> Dois terços dessas mortes ocorrem em menores de 1 ano e 90% nos países em desenvolvimento.<sup>(3)</sup>

Nos Estados Unidos (EUA), dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) sugerem que as infecções pelo VSR são responsáveis por aproximadamente 120 mil admissões hospitalares por ano.<sup>(10,11)</sup> Entre 1980 e 1996, a bronquiolite pelo VSR foi responsável por 1,65 milhões de hospitalizações nos EUA, em crianças menores de 5 anos. Essas hospitalizações representaram 7 milhões de dias de hospital, 57% das crianças tinham menos de 6 meses e 81% das crianças tinham idade inferior a 1 ano.<sup>(12)</sup>

Nos países em desenvolvimento, as DARI são responsáveis por 3 a 18% das crianças hospitalizadas.<sup>(13)</sup>

Nos EUA as hospitalizações por DARI somam 2,25 bilhões de dólares ao ano, dos quais 13,5 a 21% representam gastos com doenças associadas ao VSR entre as crianças hospitalizadas.<sup>(12)</sup> Em crianças menores de 1 ano, o custo estimado das hospitalizações por bronquiolite supera 700 milhões de dólares ao ano.<sup>(14)</sup> Na América Latina, dados da *Comisión Económica para América Latina y el Caribe* (CEPAL) referentes aos gastos com saúde em 2002-2003 mostram que foram gastos 2,9% do Produto Interno Bruto (PIB).<sup>(15)</sup> No Brasil, em 2004 os gastos com saúde representaram 3,69% do PIB, sendo gastos em torno de 860 milhões de reais para tratamento de doenças respiratórias e 560 milhões de reais em crianças menores de 5 anos.<sup>(16)</sup>

Dados epidemiológicos confirmam a importância das DARI no Estado de São Paulo. Em 2006, as doenças do aparelho respiratório foram responsáveis por 6,1% dos óbitos. Bronquiolites, bronquites e pneumonias ocasionaram cerca de 90% desses óbitos. Em menores de 1 ano, 7,4% dos óbitos decorrem de doenças do aparelho respiratório. Desses óbitos, DARI são responsáveis por 74,6% dos casos.<sup>(17)</sup>

A letalidade por infecção primária pelo VSR em crianças saudáveis situa-se entre 5-20/1000, em crianças hospitalizadas entre 1 e 3%, atingindo de 20 a 78% em imunodeprimidos e portadoras de doenças cardiopulmonares.<sup>(18,19)</sup>

O VSR tem alta propagação em crianças no inverno. No hemisfério setentrional os surtos têm seu pico em fevereiro e março.<sup>(20)</sup> Nas regiões tropicais, as epidemias pelo VSR iniciam-se no outono e vão até a

primavera.<sup>(21)</sup> No Brasil, o VSR predomina nas estações outono e inverno, principalmente nos meses de abril a agosto/setembro de cada ano.<sup>(22)</sup>

Yusuf *et al.*<sup>(23)</sup> estudando atividade semanal e mensal do VSR em relação a alterações de temperatura e umidade relativa do ar em 9 diferentes cidades no mundo, constataram que a atividade do VSR apresentava picos nas temperaturas acima de 24-30 °C e a 2-6 °C; era intensa com umidade relativa do ar entre 45-65% e substancial quando ambos a temperatura e a umidade relativa do ar são muito elevadas, talvez refletindo a estabilidade do VSR em aerossóis. Além disso, segundo os autores a transmissão do VSR em climas frios é inversamente proporcional à temperatura, como resultado da estabilidade desse vírus nas secreções em ambientes frios.

Dentre os vários agentes etiológicos causadores de DARI, os vírus são responsáveis por bronquiolite e pneumonia, principalmente em crianças menores de 1 ano.<sup>(24-26)</sup> O principal patógeno dessas doenças em crianças é o vírus sincicial respiratório (VSR), que possui distribuição mundial.<sup>(20,24,26)</sup> Primariamente, a infecção por esse vírus ocorre em crianças menores de 2 anos, sendo que o pico de incidência é dos 2 aos 6 meses. Aos 2 anos aproximadamente 95% das crianças já foram infectadas pelo VSR.<sup>(18,25,27)</sup> Nos EUA, 1 em 10 crianças, tratada ambulatorialmente por doença respiratória das vias aeríferas inferiores, é hospitalizada e 80% das crianças com doença mais grave tem de 6 semanas a 6 meses de idade.<sup>(25)</sup> A reinfecção é freqüente e aos 2 anos 50% das crianças já foram infectadas duas vezes.<sup>(18,27)</sup>

A cada ano nos EUA a infecção pelo VSR é responsável por 40 a 90% das hospitalizações por bronquiolite aguda e 25 a 50% dos casos de

pneumonia.<sup>(6,20,24,25)</sup> A infecção pelo VSR em lactentes e crianças de mais idade resulta em infecção das vias respiratórias menos agressiva do que aquela observada em lactentes com menos de 6 meses de idade.<sup>(20)</sup> Em crianças hospitalizadas a taxa de doença nosocomial durante a estação do VSR varia de 26% a 47% nas unidades neonatais e 20 a 40% nas enfermarias de pediatria.<sup>(25)</sup>

Entre os patógenos causadores de pneumonias, os vírus têm sido responsáveis por mais de 90% da etiologia, especialmente nos primeiros anos de vida, caindo para 50% nos escolares.<sup>(13)</sup> Em crianças com menos de 5 anos, a infecção pelo VSR é a causa mais comum de pneumonia, sendo o principal agente encontrado em crianças internadas.<sup>(13,20)</sup>

No início da década de 80, o *Board on Science and Technology for International Development* (BOSTID) iniciou programa para estudar etiologia das infecções respiratórias em 12 países em desenvolvimento da Ásia, África e América Latina.<sup>(28)</sup> As principais conclusões foram: 1) incidência de infecções respiratórias agudas e pneumonias e taxa de mortalidade por essas causas são mais elevadas em crianças com idade inferior a 18 meses; 2) mortalidade em crianças hospitalizadas variou de 3,2% a 15,8% dos casos; 3) vírus causam maior número de internações por infecção respiratória aguda do que bactérias; 4) o VSR é o agente mais freqüente e, 5) bactérias mais freqüentes foram *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*.

Após período prodrômico breve com sinais e sintomas de resfriado comum, inicia-se apresentação característica com tosse, taquipnéia, retração intercostal, sibilância, crepitações, dificuldade de alimentação e apnéia em

crianças prematuras. Espessamento intersticial, atelectasias e sinais de hiperinsuflação pulmonar constituem os achados radiológicos.<sup>(18,19,25,29,30)</sup> Em até 1 semana, geralmente ocorre melhora no quadro clínico, exceto em casos mais graves.<sup>(13,26)</sup>

O material mais adequado para o diagnóstico da infecção por VSR é o aspirado de secreção da nasofaringe que deve ser processado o mais rápido possível após a coleta.<sup>(18)</sup> A cultura de VSR é um dos métodos utilizados para o diagnóstico. A sensibilidade dessa cultura varia de 60 a 90% e a especificidade está próxima de 95%.<sup>(18)</sup> A identificação do VSR por esse método leva de 4 a 14 dias, dificultando a sua utilização clínica.<sup>(18,31)</sup>

As técnicas mais rápidas de diagnóstico consistem na detecção de antígenos virais. Pode ser realizada por meio da reação de imunofluorescência direta e indireta, que apresenta sensibilidade de 90% e especificidade de 92 a 95%.<sup>(32)</sup> A associação da cultura de VSR com reação de imunofluorescência é considerada a melhor forma de identificação de VSR com sensibilidade de 96% e especificidade de 92 a 96%, sendo recomendada para o diagnóstico de infecção por VSR.<sup>(31,33)</sup>

A técnica de *reverse transcription and polymerase chain reaction amplification* (RT-PCR) é um método mais sensível (sensibilidade de 95-100%) e específico (especificidade maior que 97%), porém de custo elevado e, em geral, não disponível na prática diária.<sup>(34-36)</sup> Atualmente, o seqüenciamento genético permite não só o reconhecimento do vírus, mas também maior entendimento do seu genoma e sua classificação em subtipos e genótipos.<sup>(34,35,37)</sup> Na prática clínica, a maior parte dos diagnósticos de DARI

por VSR é presumida por meio da apresentação clínica e do período epidêmico anual.<sup>(38)</sup>

O VSR foi descoberto em 1956 por Morris *et al.*<sup>(39)</sup> na secreção nasal de uma colônia de chimpanzés que apresentavam sinais de resfriado comum. Por esse motivo, o vírus foi inicialmente chamado de vírus da coriza do chimpanzé. Esses pesquisadores examinaram toda a colônia de chimpanzés e constataram que 100% dos animais estavam infectados. Pessoas que trabalhavam com os animais adquiriram nessa época os mesmos sinais e sintomas de resfriado comum, a maior parte deles com quadro mais leve que os apresentados pelos animais.<sup>(19)</sup>

Channoc *et al.*<sup>(40)</sup> em 1957 recuperaram esse mesmo vírus de pacientes com doença do aparelho respiratório. Foram duas diferentes cepas isoladas, recuperadas de lavado broncopulmonar de uma criança com broncopneumonia e de um paciente com crupe. Com base na histopatologia do agente em meio de cultura com formação de sincícios e nas semelhanças entre o isolado em chimpanzés e em humanos, Channoc *et al.*<sup>(41)</sup>, denominaram o agente de vírus sincicial respiratório e descreveram a apresentação clássica da doença causada pelo vírus em crianças.

O VSR está classificado dentro do gênero *Pneumovirus* da família *Paramyxoviridae*. Possui tamanho médio de 120 a 300nm, envelopado, de simetria helicoidal e morfologia esférica, contendo um nucleocapsídeo central envolvido em um envelope composto de camada bilipídica derivada da membrana plasmática.<sup>(19)</sup>

O genoma do VSR é composto por RNA de fita simples *sense* negativa, não segmentada, com cerca de 15.200 nucleotídeos.<sup>(42)</sup> Possui 1 único RNA que codifica 10 proteínas e é transcrito em mRNAs poliadenilados monocistrônicos.<sup>(42)</sup>

O VSR possui em seu envelope duas glicoproteínas imunogênicas, de fusão (F) e de adesão (G), que induzem à formação de anticorpos neutralizantes e são importantes na patogênese e infectividade do vírus.<sup>(11)</sup> A proteína F é uma proteína de fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira, permitindo a inserção do RNA dentro da mesma. Atua também, como mediadora da fusão de uma célula infectada com uma adjacente, levando a formação dos sincícios, característicos do VSR.<sup>(11,43)</sup>

A glicoproteína G está envolvida na ligação do vírus ao receptor celular do hospedeiro durante os estágios iniciais do ciclo infeccioso. A glicoproteína G apresenta considerável variabilidade associada ao dimorfismo antigênico do VSR. Em função das diferenças na composição da proteína G, o VSR pode ser classificado em dois grupos distintos: A e B.<sup>(11,43)</sup>

Em crianças 89,2% são infectadas pelo grupo A, o qual é responsável pela bronquiolite, comparado com 10,8% do grupo B, que resulta em pneumonia.<sup>(44)</sup> O genótipo A está associado a uma maior gravidade da doença.<sup>(11,29,44)</sup>

O VSR infecta predominantemente células epiteliais respiratórias da cavidade nasal e vias aeríferas inferiores.<sup>(42)</sup> A replicação do vírus inclui eventos específicos. O vírus adere à célula pela proteína G. O envelope viral funde-se com a membrana plasmática da célula hospedeira através da proteína

F. Após a penetração, o nucleocapsídeo do vírus é liberado dentro do citoplasma celular, onde a replicação ocorre. O RNA viral serve como molde para o RNA mensageiro. Esse RNA serve como molde para a tradução das proteínas virais específicas, e o RNA complementar serve como molde para a transcrição do RNA viral. Após a síntese das proteínas, o nucleocapsídeo helicoidal é montado, a proteína de matriz promove a interação com o envelope e o vírus é liberado por brotamento através da membrana celular.<sup>(19,45)</sup>

O VSR penetra no corpo humano através das membranas dos olhos, nariz e boca, atingindo a mucosa respiratória. Após o período de incubação de 3 a 5 dias, surgem sintomas.<sup>(9)</sup> Lactentes saudáveis eliminam o vírus por 7 a 10 dias. Imunodeprimidos, quando infectados, eliminam grandes quantidades do VSR nas secreções respiratórias (nasofaríngea e salivar) durante longo tempo, com detecção de vírus em secreção de crianças hospitalizadas por doença do trato respiratório inferior por mais de 21 dias.<sup>(18,44)</sup> O vírus sobrevive em fômites como conta-gotas, brinquedos, estetoscópio e grade do berço por mais de 6 horas, nas luvas cirúrgicas por 90 minutos, em pijamas, roupas de cama e lenços de papel por 45 minutos e na pele por mais de 20 minutos.<sup>(44,46)</sup>

O VSR provoca infecções hospitalares em berçários e enfermarias pediátricas.<sup>(20)</sup> A transmissão ocorre através do contato direto com secreções de pessoas infectadas pelo ato da tosse, secreções das narinas ou objetos contaminados. Os comunicantes de lactentes com doença causada pelo VSR (membros da equipe hospitalar, pais ou cuidadores) quase sempre apresentam resfriados com febre e/ou faringite.<sup>(20)</sup>

O VSR atinge as vias aeríferas inferiores causando inflamação e edema da região peribronquiolar. Necrose das células epiteliais, *plugs* intraluminais e *debris* celulares causam mecanismo valvular levando a hiperinsuflação dos bronquíolos terminais e alvéolos (bronquiolite).<sup>(9)</sup>

Diversos fatores podem influenciar na gravidade da infecção por VSR. Lactentes do gênero masculino apresentam doenças mais graves que as do gênero feminino na mesma idade.<sup>(11,47)</sup> Fatores ambientais como aglomerações e exposição passiva ao tabaco também estão associados com o desenvolvimento de doenças mais graves.<sup>(11,47)</sup> Outros estudos mostraram que crianças que não tiveram aleitamento materno apresentaram maior risco para infecções graves pelo VSR. No entanto, ainda é incerto se o nível socioeconômico ou algum componente do leite materno tenham alguma influência na gravidade da doença.<sup>(11,47,48)</sup>

Crianças portadoras de cardiopatias congênitas, doença pulmonar crônica (displasia broncopulmonar, fibrose cística), imunodeficiências e prematuras apresentam elevado risco de infecção grave pelo VSR, evidenciado por altas taxas de admissão em unidades de tratamento intensivo e de mortalidade.<sup>(11,18)</sup>

As doenças virais do aparelho respiratório inferior são autolimitadas. Não há tratamento específico. Nos casos leves e moderados o tratamento é de suporte, incluindo reposição adequada de líquidos, correção da hipoxemia, alimentar com cuidado visando evitar aspirações.<sup>(6,14,18,29,46,49-51)</sup>

A maioria das crianças hospitalizadas com bronquiolite melhora rapidamente com administração de oxigênio e reposição de fluidos. O curso

clínico da doença é variável, após 48-72 horas ocorre resolução dos episódios agudos de angústia respiratória e taquipnéia.<sup>(52-54)</sup>

A terapia com ribavirina, adrenalina, vitamina A e imunoglobulinas tem sido objeto de diversos ensaios clínicos que mostram resultados conflitantes e inconsistentes em pacientes com infecção pelo VSR em todo o mundo.<sup>(6,14,46,52,53)</sup> O uso de corticóides, antibióticos e broncodilatadores é controverso. Apesar de muito usados, não existem evidências científicas que indiquem uso rotineiro em casos leves e moderados.<sup>(6,14,29,46,49-53,55)</sup>

Pesquisas experimentais recentes estão avaliando outros agentes terapêuticos, incluindo antagonistas de leucotrienos, óxido nítrico, heliox, desoxiribonuclease recombinante humana, surfactantes e novos compostos antivirais.<sup>(6,27,53,55)</sup>

A necessidade de uma vacina anti-VSR segura e eficaz motiva intensa pesquisa nessa área, embora nenhuma vacina esteja ainda disponível para uso clínico.<sup>(27,49,55)</sup>

As famílias com crianças de alto risco (portadoras de doenças cardíacas, pulmonar crônica, prematuras ou com imunodeficiências) precisam ser orientadas quanto à importância da constante lavagem das mãos, proteção das crianças contra a exposição ao fumo, evitar grandes aglomerações, bem como permanência em creches durante os meses de alta incidência de VSR e, ainda, limitar o contato individual com pessoas com sintomas de infecção de vias aeríferas superiores.<sup>(19,29)</sup> Surtos nosocomiais podem ser limitados pelo uso de jalecos, luvas, máscaras e adequada lavagem das mãos pelos cuidadores e profissionais da saúde.<sup>(19,21,29)</sup>

No Brasil, estudos prospectivos realizados em crianças hospitalizadas mostram diferentes frequências de ocorrência do VSR. Miyao *et al.*<sup>(56)</sup> avaliaram prospectivamente, a ocorrência de infecções virais em 2 coortes de crianças, menores de 2 anos, internadas de abril a julho de 1996. Das 201 crianças selecionadas, 126 tinham doença aguda do aparelho respiratório inferior. O VSR foi isolado em 52,3% das 126 crianças portadoras de doença respiratória, através de cultura viral e imunofluorescência direta de material de nasofaringe. Dois terços dessas crianças tinham menos de 6 meses de idade e estavam internadas na enfermaria e unidade de terapia intensiva pediátrica.

Vieira *et al.*<sup>(47)</sup> avaliaram prospectivamente a ocorrência de infecções virais em 239 crianças menores de 1 ano hospitalizadas na enfermaria e unidade de terapia intensiva pediátrica, internadas no período de março de 1999 a junho de 2000, com doença do trato respiratório inferior, através de cultura viral e imunofluorescência direta de material de nasofaringe. O VSR foi identificado em 41% das crianças, havendo pico de ocorrência no outono, com extensão até o inverno.

Straliozzo *et al.*<sup>(57)</sup> avaliaram prospectivamente a ocorrência de infecções virais em 862 amostras de secreção de nasofaringe em crianças menores de 5 anos, atendidas no ambulatório, na emergência e hospitalizadas na enfermaria e unidade de terapia pediátrica em dois hospitais de Porto Alegre, RS, no período de maio de 1990 a dezembro de 2002, com doença do trato respiratório inferior, através da imunofluorescência direta do aspirado nasofaríngeo. O VSR foi identificado em 26,2% das amostras e em 74% delas as crianças tinham idade inferior a 1 ano.

Em estudo transversal realizado em Vitória, ES, no período de julho de 1997 a junho de 1998, Checon *et al.*<sup>(58)</sup> avaliaram 406 amostras de secreção de nasofaringe de crianças menores de 5 anos, atendidas ambulatorialmente, na emergência e hospitalizadas na enfermaria e unidade de terapia intensiva pediátrica, com doença do trato respiratório inferior, através da imunofluorescência direta do aspirado nasofaríngeo. O VSR foi identificado em 28% das amostras, com 85% das amostras positivas nos meses de fevereiro, março e abril de 1998 e, 64,5% das crianças tinham idade inferior a 1 ano.

A infecção pelo VSR tem significativo impacto na função das vias aeríferas. Stein *et al.*<sup>(59)</sup>, estudando uma coorte de 1246 crianças em Tucson Arizona (EUA), mostraram que ter tido infecção pelo VSR de vias aeríferas inferiores nos 3 primeiros anos de vida é um fator de risco independente para o desenvolvimento de chiado nos pulmões aos 11 anos.

Considerando a freqüência de ocorrência de doenças agudas do aparelho respiratório inferior causadas pelo VSR e a gravidade e letalidade dessas doenças em crianças menores de 5 anos, justifica-se plenamente estudar a freqüência desse vírus em crianças hospitalizadas por infecção de vias aeríferas inferiores, pois não foram encontrados na literatura nacional estudos associando dados epidemiológicos, clínicos e diagnósticos com esse agente viral. Além disso, o conhecimento da epidemiologia e circulação do VSR em São José do Rio Preto ainda é inexistente.

## **1.1 Objetivos**

Os objetivos deste foram:

1. Avaliar frequência do vírus sincicial respiratório (VSR) na secreção de nasofaringe de crianças de 0 a 6 anos hospitalizadas por doença aguda do aparelho respiratório inferior (DARI) em São José do Rio Preto, SP;
2. Avaliar a sazonalidade de ocorrência do VSR em crianças internadas por DARI;
3. Evidenciar possível associação de dados epidemiológicos, clínicos e diagnósticos a esse agente viral.

## 2. CASUÍSTICA E MÉTODO

---

## **2. CASUÍSTICA E MÉTODO**

### **2.1. Local do Estudo**

O estudo foi realizado no Hospital de Base (HB) de São José do Rio Preto, hospital universitário que presta atendimento de níveis secundário e terciário à população da cidade e à região noroeste do Estado de São Paulo, com aproximadamente 1.283.387 habitantes, distribuídos em 101 municípios.<sup>(60)</sup>

O município ocupa uma posição estratégica, tanto pelo seu potencial de desenvolvimento nas diversas áreas (econômica – indústria, comércios, agropecuária etc. – educação, saúde, etc.), como na organização do Sistema de Saúde, no Estado de São Paulo. Esta posição privilegiada se dá pelo seu potencial de serviços instalados de assistência à saúde nos diversos níveis de complexidade e pela sua localização geográfica, sendo considerado centro de referência no setor da saúde, tanto para os municípios vizinhos, como para municípios de outros estados.

O setor de Pediatria do HB conta com 101 leitos para internação de crianças, com 53 leitos na Enfermaria, 20 leitos na Neonatologia, 12 na Emergência, 10 na UTI Cardiologia e seis leitos na UTI Pediátrica. O Serviço de Pneumologia Pediátrica do HB é responsável pela assistência aos pacientes com idade inferior a 15 anos com doenças do aparelho respiratório.

## **2.2. Tipo de Estudo**

Trata-se de um estudo prospectivo sobre a freqüência do vírus sincicial respiratório nas doenças agudas do aparelho respiratório inferior (DARI) de crianças hospitalizadas.

## **2.3. Casuística**

O presente estudo avaliou a presença do vírus sincicial respiratório (VSR) em crianças de zero a seis anos de idade internadas com doenças agudas do aparelho respiratório inferior no Hospital de Base de São José do Rio Preto (SP).

### **2.3.1. Critérios de Inclusão**

Foram incluídas no estudo todas as crianças:

- de zero a seis anos de idade;
- portadoras de doença aguda do trato respiratório inferior (DARI) adquiridas na comunidade;
- internadas na enfermaria, na emergência e na unidade de terapia intensiva pediátrica do HB
- que estavam assintomáticas por um período de sete dias antes do início do quadro.

### **2.3.2. Período do Estudo**

O estudo foi realizado no período de 01 de maio de 2004 a 30 de setembro de 2005.

### **2.4. Aspectos Éticos**

Este projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, sob Processo N.º 3777/2001 e aprovado em 11 de Junho de 2001 com o Parecer N.º 062/2001 (Anexo 1).

Foi utilizado um formulário para a obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE - Apêndice 1).

### **2.5. Método**

#### **2.5.1. Critérios Diagnósticos**

O diagnóstico de doença aguda do aparelho respiratório inferior foi clínico e radiológico. Os parâmetros clínicos à propedêutica admissional incluíram a ocorrência simples ou associada de roncos, sibilos e crepitações com tosse, febre, taquipnéia e retração intercostal.<sup>(3)</sup> As radiografias de tórax foram realizadas em posições anteroposterior e perfil no Serviço de Radiologia do HB, sendo avaliadas por médicos radiologistas da instituição, e foram divididas em três categorias:<sup>(61,62)</sup> normal (ausência de sinais de lesão pulmonar); padrão

viral (presença de sinais de hiperinsuflação e/ou lesão intersticial peri-brônquica e/ou padrão reticular, ou seja, imagem formada por inúmeras linhas entrelaçadas, que sugere uma malha) e, padrão bacteriano (presença de sinais de opacidades segmentares e/ou lobares e sinais de efusão pleural em sua análise).

As doenças agudas do aparelho respiratório inferior foram classificadas de acordo com os critérios abaixo:<sup>(3,61,62)</sup>

- **Pneumonia:** ausculta pulmonar alterada com crepitações, roncos e/ou sibilos acompanhados de um ou mais dos sinais: tosse, febre, taquipnéia (> 50 mr/m) e tiragem intercostal. Radiografia de tórax com opacidade segmentar ou lobar. Não tiveram essa classificação aqueles casos associados a broncoespasmo ou derrame pleural, sendo classificados separadamente;
- **Bronquiolite:** ausculta pulmonar com sibilância bilateral, sem comprometimento do estado geral e ocorrência em crianças com idade inferior a 2 anos, sem antecedente similar. Radiografia de tórax com sinais de hiperinsuflação pulmonar difusa.
- **Crianças com sibilância aguda:** ausculta pulmonar com sibilância bilateral, sem crepitações, exame radiográfico com hiperinsuflação, padrão reticular, lesão intersticial peri-brônquica ou normal, ocorrência em crianças de qualquer idade.
- **Pneumonia com derrame pleural:** casos de pneumonia mais graves (dificuldade em se alimentar, cianose), acompanhados de toxemia e efusão pleural ao exame radiográfico.

### **2.5.2. Instrumentos Utilizados**

Foram utilizados dois instrumentos para coleta de dados, sendo um questionário com o histórico de dados gerais (Apêndice 2) e um instrumento de dados do quadro clínico atual (Apêndice 3). Os dados foram colhidos por 2 residentes do Serviço de Pneumologia Infantil do Hospital de Base, um em cada ano de estudo, devidamente orientados e treinados para a realização dessa pesquisa.

No questionário com o histórico dos dados gerais (Apêndice 2) as variáveis investigadas foram parâmetros demográficos (idade, gênero e estado nutricional - *National Center for Health Statistics*<sup>(63)</sup>), história clínica (diagnóstico, antecedentes pessoais e familiares história doença atual e progressa, internações anteriores).

As variáveis investigadas no questionário com os dados do quadro clínico atual (Apêndice 3) foram: diagnóstico de internação, exame físico atual (dados antropométricos, temperatura, frequência respiratória, frequência cardíaca, ausculta pulmonar), medicação usada antes e durante a internação e exame complementares realizados (radiografia de tórax AP e Perfil em todos os casos).

### **2.5.3. Procedimentos para Coleta dos Dados**

Os responsáveis pelas crianças foram informados sobre a importância e o objetivo do estudo. Após os esclarecimentos sobre o protocolo da pesquisa, o formulário do TCLE foi devidamente lido, esclarecido e assinado pelos

responsáveis pela criança, e posteriormente foram realizadas as coletas das amostras.

Na admissão os pacientes foram examinados por médico assistente do Serviço de Pneumologia Infantil do HB, sob supervisão do pesquisador responsável pelo estudo e que participou ativamente na seleção das crianças. Após o preenchimento dos critérios de inclusão da criança no estudo foram preenchidos os questionários (Apêndice 2 e 3).

As crianças selecionadas para o estudo, eram registradas com um número de protocolo e em seguida realizada a coleta da secreção de nasofaringe (swab e aspirado de nasofaringe).

Após a coleta, a evolução do quadro clínico e radiológico foi acompanhada diariamente até o momento da alta hospitalar, quando os dados foram registrados nos questionários.

#### **2.5.4. Procedimentos Terapêuticos**

As condutas terapêuticas não foram pré-estabelecidas, sendo adotadas segundo os parâmetros clínicos e radiográficos de cada caso.

#### **2.5.5. Procedimentos para Coleta, Armazenamento e Processamento das Amostras de Secreção Nasofaríngea**

A coleta do material da secreção de nasofaringe foi realizada por um aspirado que seguiu os seguintes passos: após a fluidificação da secreção nasal com 1 mL de Ringer-lactato, foi coletado material nasal com swab e sonda de aspiração neonatal. O material foi armazenado em frasco identificado

com nome e número de protocolo da criança, contendo 3 mL de Ringer-lactato e mantido em temperatura de 4°C. Após coletados, os aspirados foram acondicionados em caixas térmicas com gelo e encaminhados dentro de 1 hora ao laboratório para serem processados.

No Laboratório de Estudos Genômicos da Universidade Estadual Paulista (UNESP) foi realizado o processamento do material com as seguintes etapas: os aspirados foram divididos em três alíquotas. A primeira alíquota recebeu 500µl de meio para congelamento (meio MEM com 50% de soro fetal e glicerol 10%), e foi estocada em freezer -80°C para posterior cultura de células. Às duas alíquotas restantes foram adicionados 750µl de Trizol-LS (GIBCO) e o material foi estocado em freezer -70°C para posterior extração de RNA.

## **2.5.6. Diagnóstico por RT-PCR**

### **2.5.6.1. Extração do RNA**

Na extração, à alíquota de Trizol (1ml), foi adicionado 200µl de clorofórmio puro em seguida homogeneizada em vortex por 15 segundos e incubadas em gelo por cinco minutos. Seguiu-se então uma centrifugação a 12000rpm por 15 minutos a 4°C. Existia a separação de duas fases, sendo o sobrenadante transferido para outro tubo contendo 400µl de isopropanol gelado, em seguida homogeneizado em vórtex e incubado por 15 minutos em gelo. A seguir foi centrifugado novamente a 12000 rpm, por 15 minutos a temperatura de 4°C. O sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com 800µl de etanol 75%. Após homogeneizado em vortex foi submetido a uma

centrifugação de 8 minutos a 8000rpm. O sobrenadante foi mais uma vez descartado e o pellet seco por 10 minutos. Este foi ressuspendido em solução contendo 50µl de água tratada com DEPEC e 0,5 µl de RNase OUT – (*Invitrogen*).

### 2.5.6.2. Transcrição Reversa

Para a obtenção do cDNA foi utilizado o *kit High-Capacity cDNA Archive (Applied Biosystems)*. O cDNA foi feito a partir do RNA extraído (50µl) ao qual foi adicionado 10µl de 10X RT *Buffer*, 10µl de 10X *Random Primers*, 4µl de 25X dNTP *mixture*, 5µl de enzima *Multiscribe* e 21µl de água tratada com DEPEC. Esta reação foi levada ao termociclador, sendo submetida ao seguinte ciclo 25° C por 10', 37°C por 120' e 10°C ao final. O cDNA foi então estocado a 4°C.

### 2.5.6.3. Amplificação

No Quadro 1 estão apresentados os *primers* utilizados na amplificação.

Quadro 1. *Primers* utilizados na reação de amplificação.

<b>Primer</b>	<b>Posição</b>	<b>Seqüência (5'-3')</b>	<b>Referência</b>
F1AB (-)	3-22 – proteína F	CAACTCCATTGTTATTTGCC	Peret <i>et al.</i> <sup>(64)</sup>
FV (-)	163-186 – proteína F	GTTATGACACTGGTATACCAACC	Zeng <i>et al.</i> <sup>(65)</sup>
GAB (+)	504-524 - proteína G	YCAITTTGAAGTGTTCAACTT	Peret <i>et al.</i> <sup>(66)</sup>

## PCR

A amplificação foi efetuada em solução contendo 5,0µl de tampão (Tris-HCl 75Mm, KCl 50Mm, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> 20Mm), 1,5µl de MgCl<sub>2</sub> 50Mm, 0,5 de dNTP 10mM, 2,5µl de cada *primer* a 10pmol (GAB+ e FV-), 0,5 µl de Taq Polimerase (*Biotools* 5U/µl) e água Milli-Q tratada com DEPC q.s.p 32,5µl, sendo adicionada ao final 5µl de cDNA. As amostras então foram submetidas ao termociclador passando por uma etapa inicial a 94°C por 5', em seguida de 94°C por 1', 55°C por 1' e 72°C por 1', 72°C por 7', sendo estes ciclo repetido mais 35 vezes, ao término desta etapa as amostras eram mantidas a 10°C até que fossem retiradas do termociclador.

## Semi Nested – PCR

Para aumentar a sensibilidade e especificidade de amplificação das seqüências gênicas de interesse as amostras negativas na amplificação anterior foram submetidas à reação semi nested – PCR.

As reações foram realizadas em volume final de 50µL, contendo 5 µl do produto da 1ª PCR diluído em 27,25µl de H<sub>2</sub>O, 5µl de tampão 10X, 1,5µl (1,5mM) de MgCl<sub>2</sub><sup>+</sup> 50 mM, 8µl (0,2 Mm) de dNTP 1,25 mM, 1,5µl (0,3pmol) de *primer* F1AB (10pmol ) e 1,5µl (0,3pmol) de *primer* GAB (10pmol ) Quadro 1 e 0,25µl (1,25unidade) *Taq DNA Polimerase* (5 unidade) *Biotools*.

A reação compreendeu uma etapa inicial de 5 minutos a 95°C, 40 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 55°C e 1 minuto a 72°C além de 7 minutos a 72°C para extensão final. Ao término desta etapa as amostras eram mantidas a 10°C até que fossem retiradas do termociclador.

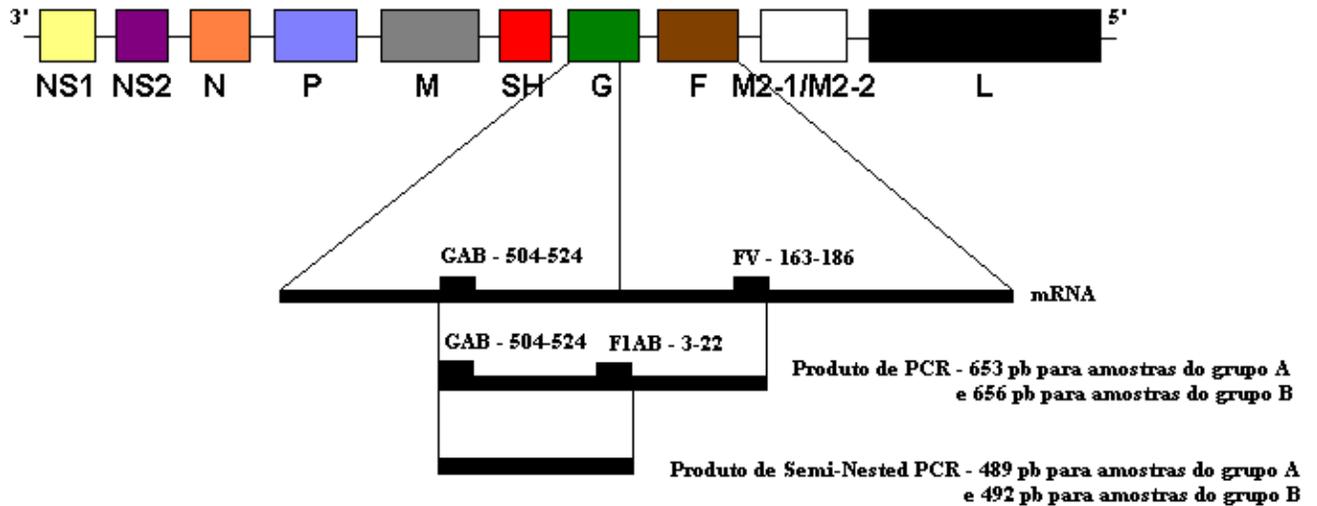


Figura 1. Desenho esquemático da região utilizada para a realização do PCR e da Semi-nested PCR realizada para identificar a presença do Vírus Sincicial Respiratório.

#### 2.5.6.4. Análise dos Produtos Amplificados

Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1%. Foi aplicado 3 $\mu$ l de PCR Dye (Azul de Bromofenol, Xileno Cianol e Glicerol) e 5 $\mu$ l de produto amplificado em gel de agarose 1% (*Gibco BRL*) em tampão Tris-Borato-EDTA 1x (90 mM de Tris-Borato e 2mM de EDTA - pH 8,0) com adição de Brometo de Etídeo numa concentração final de 0,5  $\mu$ g/ml. O resultado foi visualizado em aparelho de fotodocumentação submetendo o gel a transiluminação por luz Ultra Violeta.

## **2.6. Análise dos Dados**

Os dados do estudo foram digitados numa planilha, utilizando o programa *Excel*.

A análise dos dados foi realizada com o programa *Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows* versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) para obter as freqüências e para comparar as variáveis. Os resultados são expressos em porcentagem ou mediana, com faixa de variação. As comparações foram feitas pelos métodos de Fischer, qui-quadrado ou Mann-Whitney, conforme apropriado, considerando significativo valor-p menor ou igual a 0,05.

### 3. RESULTADOS

---

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Caracterização da Amostra

Todas as crianças de zero a seis anos, internadas com diagnóstico de doença aguda do aparelho respiratório inferior (DARI) no período de 01 de maio de 2004 a 30 de setembro de 2005 participaram do estudo. Não houve recusa dos pais ou responsáveis quanto à participação das crianças. Nesse período, 291 crianças preencheram o critério de inclusão e foram internadas uma ou mais vezes. Nas amostras colhidas de 13 crianças não foi possível a pesquisa de vírus sincicial respiratório (VSR), pois no transporte houve perda e/ou deterioração do material coletado, sendo quatro em dezembro/2004, quatro em janeiro/2005, quatro em fevereiro/2005 e uma em março/2005, foram considerados como perda e não foram analisadas.

Na evolução dos casos observou-se um óbito, ocorrido em uma criança de três meses de idade internada com quadro de pneumonia e cardiopatia congênita, que evoluiu com insuficiência respiratória, insuficiência renal, choque séptico e parada cardíaca após dois meses de hospitalização.

Do total de crianças estudadas (n=278), em 11 houve mais de uma internação no período de estudo, sendo 10 com duas internações e uma com três internações, totalizando 290 internações por doença aguda do trato respiratório inferior.

A caracterização sócio-demográfica e antecedentes pessoais dos pacientes pediátricos estudados são apresentados na Tabela 1. Também nessa tabela são mostradas frequências observadas nas crianças com e

sem o VSR. Para aquelas com mais de uma internação durante o estudo, considerou-se criança com VSR positivo aquela em que em pelo menos uma das internações foi detectado esse vírus.

Dentre as crianças com quadro de infecção respiratória, houve predomínio do gênero masculino (57,6% dos casos) e da etnia branca (93,2% dos casos). Em relação à idade, predominaram os lactentes e a mediana de idade foi 13,5 meses.

Quanto ao número de pessoas que moram junto com as crianças, observou-se mediana de quatro. Embora o número de irmãos tenha variado de 0 a 7, a maioria das crianças tinha apenas um irmão. Em 69,1% das famílias, a renda familiar era de aproximadamente até três salários mínimos.

Com relação aos antecedentes pessoais das crianças, 66,9% nasceram de parto cesariana e 15,8% foram prematuras ao nascer. A maioria (83%) foi amamentada, mas a mediana de tempo de amamentação foi de apenas de três meses.

A análise das crianças que apresentaram ou não infecção pelo VSR mostrou que a única variável com diferença significativa foi parto cesariana (valor-p = 0,04), mais freqüente nas crianças com VSR positivo. Embora a diferença não tenha sido significativa (valor-p = 0,08), as medianas de idade nos grupos com e sem VSR foram de 9,2 e 14,5 meses, respectivamente.

Tabela 1. Características sócio-demográficas e antecedentes pessoais das crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=278	Crianças VSR+* N= 84	Crianças VSR- N=194	Valor-p**
	n (%)	n (%)	n (%)	
<b>Gênero</b>				
Masculino	160 (57,6)	43 (51,2)	117 (60,3)	0,15
<b>Cor</b>				
Branca	259 (93,2)	77 (91,7)	182 (93,8)	0,51
<b>Idade (meses)</b>				
Mediana min e max	13,5 (0,3-78,2)	9,2 (0,3-70,3)	14,5 (0,7-78,2)	0,08
<b>Nº Pessoas na Casa</b>				
Mediana min e max	4 (2-11)	4,0 (2 – 11)	4,0 (2 – 11)	0,85
<b>Nº Irmãos</b>				
Mediana min e max	1 (0-7)	1 (0-7)	1 (0-4)	0,75
<b>Salário da Família</b>				
< 3 salários	192 (69,1)	61 (72,6)	131 (67,6)	0,59
<b>Tipo de Parto</b>				
Cesariana	186 (66,9)	66 (78,6)	120 (61,9)	0,04
Prematuro	44 (15,8)	16 (19,0)	28 (14,4)	0,21
<b>Aleitamento Materno</b>				
Frequência	241(83,1)	74(87,1)	167(81,5)	0,25
<b>Tempo</b>				
Mediana min e max	3 (0-48)	2 (0-48)	3 (0-24)	0,29

\* crianças VSR+: aquelas com pelo menos uma internação por infecção por VSR durante período de estudo; \*\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR min = valor mínimo; max = valor máximo

À internação, a maioria das crianças (76,4%) era eutrófica (peso acima do percentil 10, segundo curva da *National Center Health Statistic* (NCHS)).<sup>(63)</sup> Não houve diferença no estado nutricional de crianças com e sem infecção pelo VSR.

Os antecedentes familiares das crianças são mostrados na Tabela 2. Cerca de um terço das crianças conviviam com fumantes em casa e tinham pessoas com rinite na família. Asma foi referida em 46% das famílias das crianças. Não houve associação entre ter tido infecção por VSR e antecedentes familiares (fumantes em casa, asma, rinite e eczema na família).

Tabela 2. Características de antecedentes familiares para doença respiratória aguda das crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=278	Crianças VSR+* N=84	Crianças VSR - N=194	Valor-p**
	n (%)	n (%)	n (%)	
Fumantes em casa	106 (38,1)	34 (40,5)	72 (37,1)	0,34
Asma na família	129 (46,4)	36 (42,9)	93 (47,9)	0,25
Rinite na família	87 (31,3)	32 (38,1)	55 (28,4)	0,07
Eczema na família	1 (0,4)	00 (0)	01 (0,5)	0,69

\* crianças VSR+: aquelas com pelo menos uma internação por infecção por VSR durante período de estudo; \*\* valor- p - comparação entre casos com e sem VSR.

Os antecedentes pessoais para doença respiratória crônica (displasia bronco pulmonar, fibrose cística, asma, rinite), cardiopatia e uso de oxigênio neonatal, foram pouco freqüentes e não houve associação entre ocorrência de infecção por VSR e esses antecedentes (Tabela 3).

Tabela 3. Características de antecedentes pessoais para doença respiratória crônica, cardiopatia e uso de oxigênio neonatal das crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=278	Crianças VSR+* N=84	Crianças VSR- N=194	Valor-p**
	n(%)	n (%)	n (%)	
Cardiopatia	11 (4,0)	3 (3,6)	8 (4,1)	0,56
Displasia broncopulmonar	2 (0,7)	0 (0,0)	2 (1,0)	0,48
Fibrose cística	0 (0,0)	-	-	-
Asma	17 (6,1)	5 (6,0)	12 (6,2)	0,59
Rinite	15 (5,4)	2 (2,4)	13 (6,7)	0,11
Uso de oxigênio neonatal	29 (10,4)	7 (8,3)	22 (11,3)	0,30

\* crianças VSR+: aquelas com pelo menos uma internação por infecção por VSR durante período de estudo; \*\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR.

As características da história anterior de enfermidades respiratórias das crianças encontram-se na Tabela 4. A maioria delas teve IVAS (80,6%), chiado recorrente (62,9%) e referiu ter feito inalação (79,9%). Cerca de metade das crianças teve IVAS recorrente e pelo menos uma internação

anterior por doença respiratória. Dentre esses parâmetros, a frequência de IVAS e inalação nas crianças que apresentaram infecção por VSR foi significativamente menor do que naquelas em que este vírus não foi detectado (73,8% versus 83,5% e 69,0% versus 84,5%, respectivamente).

Tabela 4. Características da história anterior de enfermidades respiratórias nas crianças internadas no Hospital de Base por doença aguda do aparelho respiratório inferior, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=278	Crianças VSR+* N=84	Crianças VSR- N=194	Valor-p**
	n (%)	n (%)	n (%)	
Teve IVAS	224 (80,6)	62 (73,8)	162 (83,5)	0,04
Tem IVAS recorrente	131 (47,1)	39 (46,4)	92 (47,4)	0,492
Fez inalação	222 (79,9)	58 (69,0)	164 (84,5)	0,03
Chiado recorrente	175 (62,9)	55 (65,5)	120 (61,9)	0,33
Internações anteriores por doença respiratória	119 (42,8)	33 (39,3)	86 (44,3)	0,25

\* crianças VSR+: aquelas com pelo menos uma internação por infecção por VSR durante período de estudo; \*\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR

### **3.2. Internações por Doença Aguda do Aparelho Respiratório Inferior**

No período estudado do total de 58.485 internações no Hospital de Base incluindo todas as faixas etárias, observou-se que 5.320 (9,1%) internações foram de crianças na faixa de 0 a 6 anos. Dessas internações as identificadas por doenças respiratórias (CID J) totalizaram 1.431 (26,9%) internações. Desse total, foram avaliados 290 (20,3%) internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior em 278 (19,4%) crianças. Foi considerado uma nova internação, independente do anterior, se ocorria há pelo menos sete dias após a criança estar assintomática. Durante esse período 11 crianças apresentaram mais de uma internação: 10 crianças com duas internações e uma foi internada por três vezes.

Para pesquisa de VSR foram coletadas 305 amostras de secreção da nasofaringe por meio de aspirado durante as primeiras 48 horas de internação. Em 13 amostras não foi possível a pesquisa de VSR, pois houve perda e/ou deterioração do material. Por isso, foram analisadas 290 amostras de secreção da nasofaringe.

Das 290 internações analisadas no estudo, o VSR foi detectado em 85 (29,3%). Uma criança teve duas internações em que o vírus foi detectado, sendo a primeira internação em março de 2005 e a segunda em agosto do mesmo ano.

Como mostrado na Figura 2, pode-se observar que as internações por doença respiratória foram mais freqüentes entre junho e novembro de 2004

(meses de inverno e primavera). Em 2005, as internações ocorreram principalmente a partir de março, com queda em setembro, último mês de estudo. Em janeiro não houve internações e em fevereiro apenas uma criança foi internada com doença aguda do aparelho respiratório inferior. Considerando a frequência de internações por mês, observamos que ocorreram mais internações em 2005 quando comparado com 2004. Em relação às internações observadas por mês, a proporção daqueles com VSR foi notadamente maior em 2004, isso pode ser melhor observado na Figura 3.

Não foi observada relação entre positividade do VSR e médias de temperatura do ar observadas em 2004 e 2005 (Figura 4). Em relação à umidade relativa do ar nota-se que houve queda da mesma nos meses de julho a setembro de 2004, sem relação de positividade do VSR nesse período estudado.

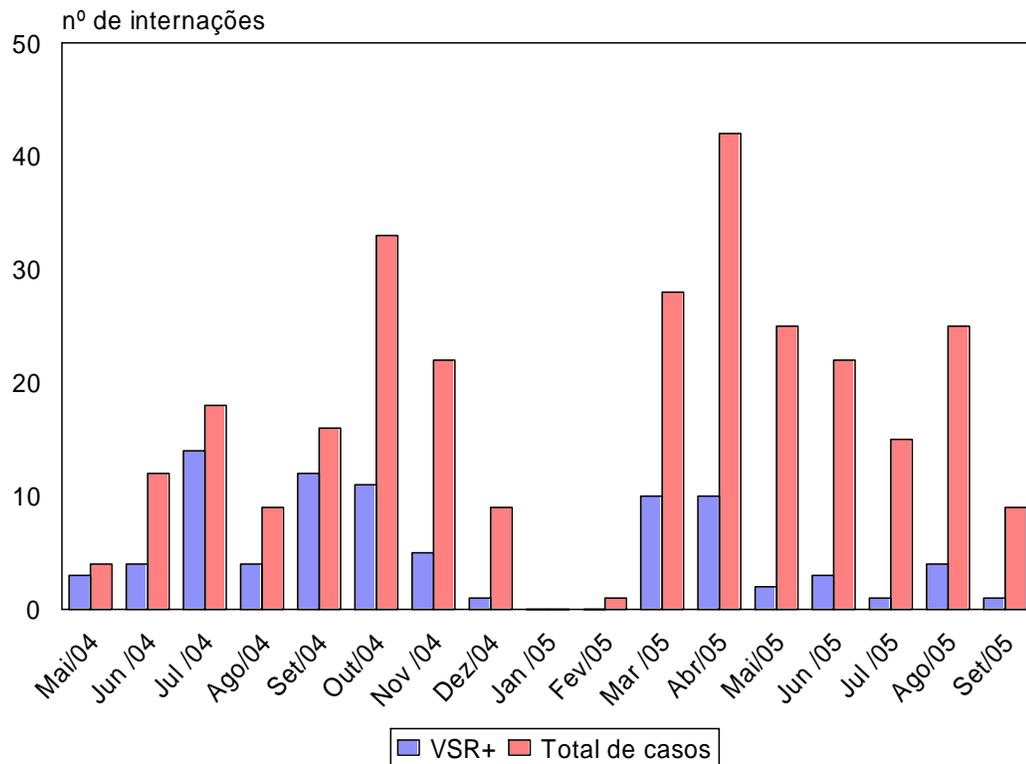


Figura 2. Número de internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior das crianças no Hospital de Base por mês com VSR positivo e numero total de internações no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto.

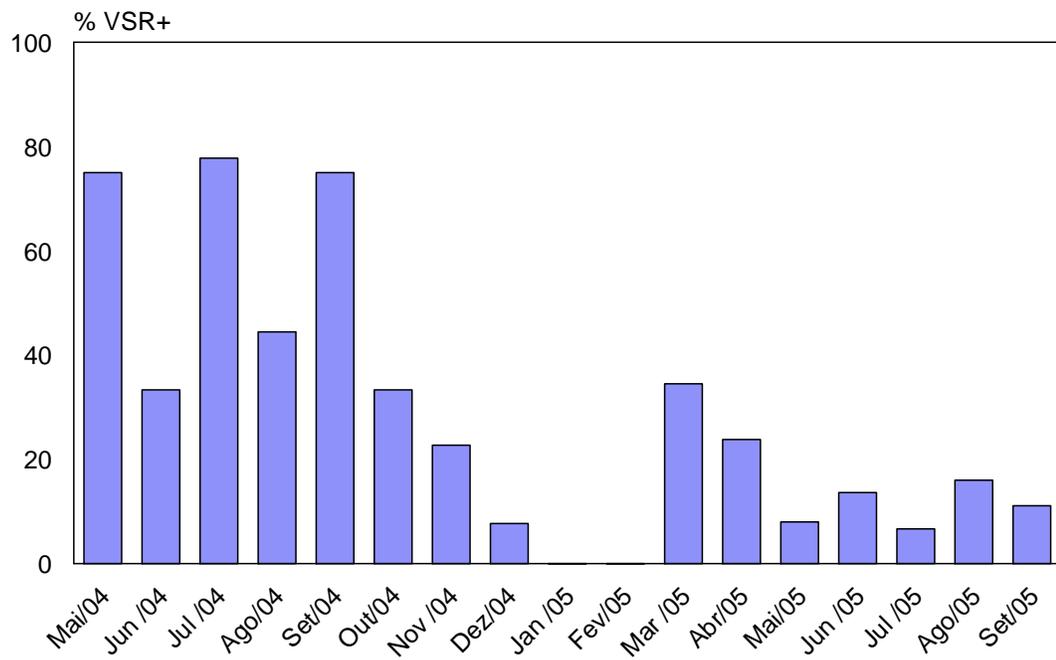


Figura 3. Frequência de internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior das crianças no Hospital de Base por mês com VSR positivo, em relação ao total de internações, no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto.

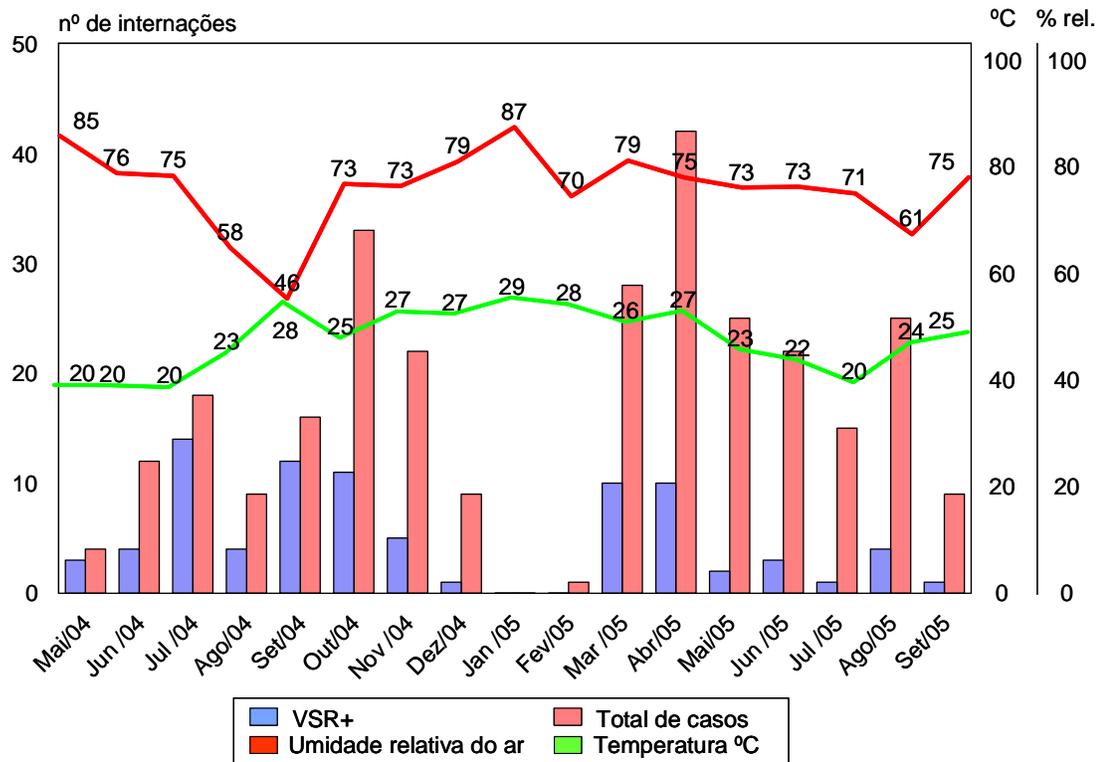


Figura 4. Distribuição das internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior das crianças no Hospital de Base por mês com VSR positivo, número total de internações no período e médias mensais de temperatura e umidade relativa do ar no período de maio/2004 a setembro/2005 na região de São José do Rio Preto.

Do total de internações (n=290), 274 (94,5%) ocorreram na enfermaria, 14 (4,8%) na emergência e apenas dois casos na UTI, sendo que a totalidade das crianças com infecção pelo VSR foi internada na enfermaria. A mediana do período de internação foi cinco dias (mínimo=1 e máximo=62) e entre os VSR+ a mediana foi cinco dias (1-36).

Das 290 internações, os motivos foram pneumonia isolada em 48,6% dos casos, pneumonia com derrame pleural em 10,7%, crianças com sibilância aguda em 23,4% e bronquiolite em 17,2%

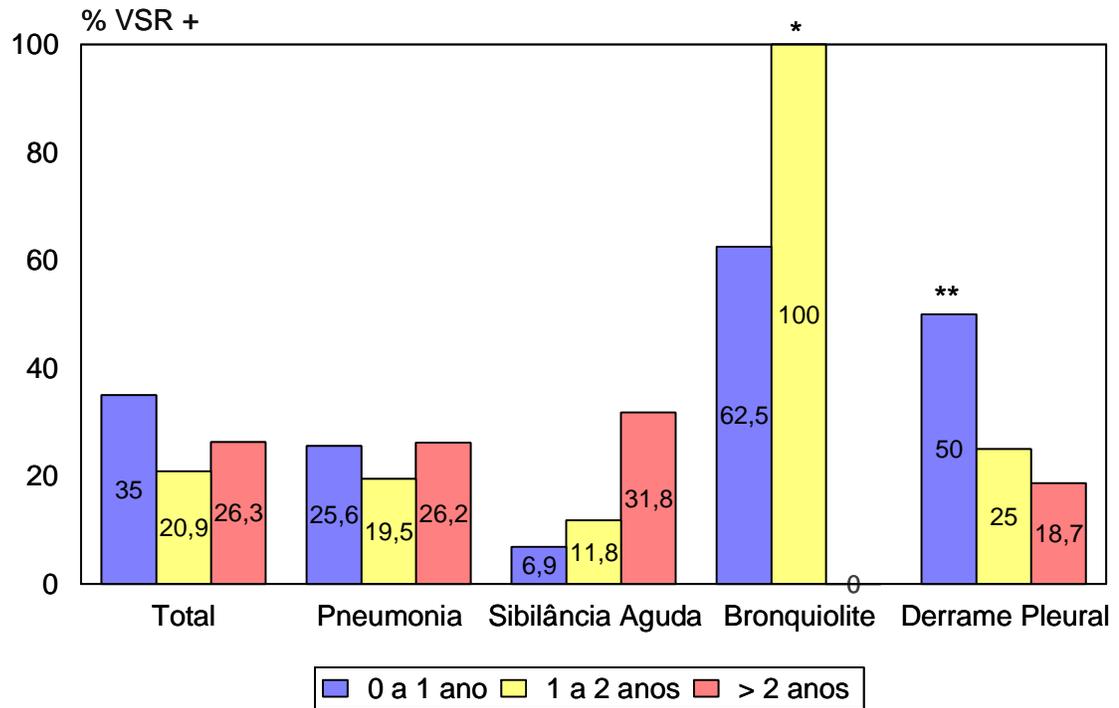
A Tabela 5 mostra freqüência de internações por VSR, considerando diagnóstico de internação. Nota-se que o VSR foi mais freqüente em episódios de bronquiolite (64%) e menos freqüente em episódios de crianças com sibilância aguda (16,2%).

Tabela 5. Características por diagnóstico e freqüência de VSR dos 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Diagnóstico	Total	VSR positivo	
		N	%
Pneumonia	141	34	24,1
Pneumonia + Derrame pleural	31	8	25,8
Crianças com Sibilância Aguda	68	11	16,2
Bronquiolite	50	32	64,0

Na análise da internação por diagnóstico e faixa etária (Figura 4) observa-se que o VSR foi positivo em 35% das internações em crianças de 0 a 11 meses de vida; em 20,9% das internações em crianças de 13 a 24 meses e em 26,3% dos casos em crianças com mais de 24 meses de vida.

Com relação ao diagnóstico das crianças VSR+, nota-se que nas pneumonias a ocorrência foi semelhante nas faixas etárias estudadas. Nas crianças com sibilância aguda houve aumento na frequência do VSR conforme aumento da faixa etária. Na bronquiolite o VSR foi mais freqüente em crianças na faixa de 0 a 1 ano. Houve redução na frequência de VSR com o aumento da idade nos casos de pneumonia com derrame pleural.



\* Apenas 2 casos; \*\* Apenas 4 casos

Figura 5. Distribuição da presença do vírus sincicial respiratório por diagnóstico e faixa etária dos 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto.

A análise dos sinais presentes nas internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior (Tabela 6) mostra que os mais freqüentes foram tosse (93,1%), febre (91%) e coriza (62,1%). A obstrução nasal esteve presente em metade e espirros em um terço das internações. Durante o período de internação, a maioria das crianças apresentou bom estado geral (77,2%). Tosse foi o único sinal que mostrou associação estatisticamente significativa com relação à infecção por VSR, embora a diferença encontrada não seja clinicamente relevante (88,2% *versus* 95,4% de presença de tosse em internações com e sem VSR, respectivamente).

Tabela 6. Características de sinais para doença respiratória aguda das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=290	Internações VSR+ N=85	Internações VSR- N=205	Valor-p*
	n(%)	n (%)	n (%)	
Febre	264 (91,0)	74 (87,1)	190 (92,7)	0,13
Tosse	270 (93,1)	75 (88,2)	195 (95,4)	0,04
Coriza	180 (62,1)	52 (61,2)	128 (62,4)	0,84
Obstrução nasal	119 (41,0)	34 (40)	85 (41,5)	0,82
Espirro	102 (35,2)	29 (34,1)	73 (35,6)	0,81
Prurido nasal	13 (4,5)	5 (5,9)	8 (3,9)	0,53
Olhos vermelhos	44(15,2)	9 (10,6)	35 (17,1)	0,16
<b>Estado geral</b>				
Bom	224 (77,2)	70 (82,4)	154 (75,1)	
Regular	64 (21,1)	14 (16,5)	50 (24,4)	0,28
Ruim	2 (0,7)	1 (1,2)	1 (0,5)	

\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR

Durante as internações, falta de ar (72,4%) e chiado (71%) foram as manifestações clínicas pulmonares mais freqüentes apresentadas pelas crianças com doença aguda do aparelho respiratório inferior, conforme mostrado na Tabela 7. Estertores e sibilos estiveram presentes em metade das crianças internadas. Houve associação significativa entre infecção por VSR e ocorrência de retração intercostal (valor-p= 0,03).

Tabela 7. Manifestações clínicas pulmonares das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=290	Internações VSR+ N=85	Internações VSR – N=205	Valor-p*
	n (%)	n (%)	n (%)	
Falta de ar	210 (72,4)	58 (68,2)	152 (74,1)	0,31
Chiado	206 (71,0)	58 (68,2)	148 (72,2)	0,50
Sibilos	161 (55,5)	40 (47,1)	121 (59,0)	0,06
Estertores	163 (56,2)	47 (55,3)	116 (56,6)	0,40
Retração intercostal	62 (21,4)	25 (29,4)	37 (18,0)	0,03
Apnéia	2 (0,7)	0 (0,0)	2 (1,0)	1,00
Estridor	18 (6,2)	5 (5,9)	13 (6,3)	0,88
Frequência respiratória alterada	112 (38,4)	34 (40,0)	78 (37,7)	0,40

\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR

Com relação ao uso de medicação antes da internação (Tabela 8), a maioria das crianças tinha utilizado antitérmicos (91%). Metade das crianças usou antibiótico prévio e um terço delas foi medicada com xaropes para tosse e broncodilatadores.

Tabela 8. Características do uso de medicação antes da internação das crianças com doença aguda do aparelho respiratório inferior no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=290	Internações VSR+ N=85	Internações VSR- N=205	Valor-p*
	n (%)	n (%)	n (%)	
Antitérmico	264 (91,0)	75 (88,2)	189 (92,2)	0,28
Antibiótico prévio	151 (52,1)	44 (51,8)	107 (52,2)	0,95
Xarope para tosse	105 (36,2)	29 (34,1)	76 (37,1)	0,63
Broncodilatador	96 (33,1)	33 (38,8)	63 (30,7)	0,18
Antiinflamatório	43 (14,8)	13 (15,3)	30 (14,6)	0,89
Oxigênio	42 (14,5)	12 (14,1)	30 (14,6)	0,91
Droga anti-refluxo gastroesofágico	40 (13,8)	10 (11,8)	30 (14,6)	0,52

\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR

Quanto ao uso de medicação durante as internações (Tabela 9), a maioria das crianças recebeu inalação com  $\beta$ 2 adrenérgicos (86,9%) e com brometo de ipratrópio (86,9%), oxigênio inalatório (84,1%) e antibióticos (78,3%). Mais da metade das crianças (64,8%) recebeu corticóides durante as internações por infecção aguda de vias aeríferas.

Tabela 9. Características do uso de medicação durante a internação das crianças com doença aguda do aparelho respiratório inferior no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=290	Internações VSR+ N=85	Internações VSR – N=205	Valor-p*
	n (%)	n (%)	n (%)	
$\beta_2$ adrenérgico	252 (86,9)	69 (81,2)	183 (89,3)	0,06
Brometo de ipratrópio	252 (86,9)	69 (81,2)	183 (89,3)	0,06
Corticóide	188 (64,8)	56 (65,9)	132 (64,4)	0,81
Antibiótico	227 (78,3)	67 (78,8)	160 (78,0)	0,88
Aminofilina	04 (1,4)	0 (0,0)	4 (2,0)	0,33
Oxigênio	244 (84,1)	66 (77,6)	178 (86,8)	0,05
Drogas anti-refluxo	42 (14,5)	10 (11,8)	32 (15,6)	0,40

\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR.

As características da investigação diagnóstica por exame complementar de 290 internações encontram-se na Tabela 10.

A radiografia de tórax mostrou padrão viral na maioria dos casos (56,2%). Nas internações com VSR+, 30,6% dos casos apresentavam padrão bacteriano.

Na investigação diagnóstica, não houve associação significativa entre exame radiográfico e infecção pelo VSR.

Tabela 10. Características da investigação diagnóstica por exame complementar das 290 internações por doença aguda do aparelho respiratório inferior nas crianças no Hospital de Base, no total e naquelas com e sem VSR, no período de maio/2004 a setembro/2005 em São José do Rio Preto.

Variáveis	Total N=290		Internações VSR+ N=85		Internações VSR- N=205		Valor-p**
	N total*	n(%)	N VSR+*	n(%)	N VSR-*	n(%)	
Radiografia tórax	290		85		205		
Normal		24 (8,2)		7 (8,2)		17 (8,3)	
Viral		164(56,2)		52(61,2)		112(54,6)	0,56
Bacteriano		102(35,2)		26(30,6)		76 (37,1)	

\* Número de exames realizados; \*\* valor-p - comparação entre casos com e sem VSR.

## 4. DISCUSSÃO

---

#### 4. DISCUSSÃO

Na presente pesquisa foram estudados a freqüência do vírus sincicial respiratório (VSR) em crianças de 0 a 6 anos hospitalizadas por doença aguda do aparelho respiratório inferior (DARI) em São José do Rio Preto, SP, e a associação de dados epidemiológicos, clínicos e diagnósticos com esse agente viral.

Neste estudo, houve predomínio entre crianças do gênero masculino e com idade menor ou igual a 24 meses. As crianças do grupo VSR+ eram pouco mais jovens que os VSR-. Entretanto, a diferença entre VSR+ e VSR- em ambas variáveis não foi estatisticamente significativa.

Com relação ao gênero, o resultado desta pesquisa é concordante com a literatura. Holberg *et al.*<sup>(67)</sup> verificaram que o gênero masculino esteve associado a maior risco de DARI pelo VSR em crianças de 1 a 3 meses. No estudo de Jonhson *et al.*<sup>(68)</sup> a relação masculino:feminino encontrada em crianças abaixo de 6 meses foi 2,9:1, contrastando com a de crianças maiores, que foi de 1,1:1. Calegari *et al.*<sup>(69)</sup> em estudo semelhante ao nosso, encontraram leve aumento na freqüência do gênero masculino (52,6%), a qual já foi reportada previamente.<sup>(47,56,70-72)</sup>

No entanto, Serafino *et al.*<sup>(73)</sup> verificaram distribuição similar quanto ao gênero e idade em estudo realizado em Aracaju, SE, em crianças menores de 5 anos, internadas com DARI. Estudo com crianças hospitalizadas em Washington, EUA, por doenças respiratórias causadas pelo VSR mostrou prevalência viral similar em ambos os gêneros, entretanto, uma proporção

significativamente maior de meninos foi hospitalizada por pneumonia, bronquiolite e laringo-bronquite causadas pelo VSR.<sup>(74)</sup>

Noyola *et al.*<sup>(75)</sup> em estudo realizado no México com crianças menores de 15 anos, portadores de DARI, relataram que 71,3% da amostra analisada foi constituída por menores de 1 ano, com predomínio significativo nas VSR+ (4,3 meses de idade) em relação às VSR- (6,3 meses). Em estudo com crianças e adolescentes de 0 a 15 anos atendidos em hospital público de São Paulo, Vieira *et al.*<sup>(47)</sup> encontraram predominância significativa do VSR entre crianças com idade inferior a 1 ano (54,1%), principalmente nos recém-nascidos (92,9%). A freqüência do VSR diminuiu com o aumento da idade, não sendo encontrado esse vírus em crianças acima de 3 anos.

Checon *et al.*,<sup>(58)</sup> analisando 406 amostras de secreção de nasofaringe em crianças menores de 5 anos internadas com DARI, constataram alta freqüência do VSR em pacientes menores de 1 ano, especialmente em recém-nascidos (60% da amostra). A ocorrência de DARI em recém-nascidos serve como alerta para os médicos sobre essa apresentação clínica não usual.<sup>(47,58)</sup> Nessa idade as doenças causadas pelo VSR são descritas como limitadas às vias aeríferas superiores ou apresentando sinais não específicos como letargia e dificuldade para mamar. No presente estudo, a amostra foi constituída de crianças menores de 6 anos, o que provavelmente pode ter influenciado no resultado.<sup>(47,58)</sup>

Neste trabalho, o parto por cesárea predominou nas crianças com DARI, sendo significativamente mais freqüente nas crianças com VSR+. Na literatura não foram encontradas informações sobre relação entre esse tipo de parto e

infecção por VSR. Em 16% (n = 44) das crianças com DARI aqui estudadas, o parto foi prematuro, sendo pouco mais freqüente em VSR+ em relação a VSR-. Apesar do pequeno tamanho da amostra analisada, a maior freqüência de VSR+ indica que essas crianças devem ter atenção especial, pois apresentam elevado risco de infecção grave.<sup>(11,18)</sup>

Nesta pesquisa, as infecções por VSR ocorreram com maior freqüência em 2004 entre os meses de junho a novembro (inverno e primavera), com picos em julho e setembro e em 2005 entre os meses de março a agosto (outono e inverno), com picos em março e abril, similar ao verificado em Ribeirão Preto, SP, por Cintra *et al.*,<sup>(76)</sup> em Vitória, ES, por Checon *et al.*,<sup>(58)</sup> e Uberlândia, MG, por Costa *et al.*<sup>(77)</sup>

Os resultados de estudos realizados nas cidades de São Paulo<sup>(56)</sup> e Rio de Janeiro<sup>(71)</sup> mostraram período epidêmico do VSR desde o final de março ou início de abril, durando cerca de 5 meses (setembro), semelhante às regiões de clima subtropical. Moura *et al.*<sup>(78)</sup> em 4 anos de estudo prospectivo em crianças de todas as idades portadoras de DARI em Fortaleza, CE, que apresenta temperatura e umidade relativa do ar constantes durante o ano, relataram que durante esses anos o pico da infecção pelo VSR ocorreu em abril, maio e junho quando foram registradas mais de 72% de todos os casos.

Investigando a presença dos grupos A e B do VSR num período de 7 anos em Porto Alegre, RS, Stralio *et al.*<sup>(79)</sup> constataram circulação do VSR na comunidade durante o ano todo, incluindo o verão. Em seus estudos, somente o grupo B circulou durante o verão, geralmente aparecendo mais cedo que o grupo A. Esses dados mostram que o vírus circula durante todo o ano, mas com

variações antigênicas durante os surtos. Nesta pesquisa observou-se a presença do VSR durante todo o ano, exceto o verão, sugerindo que a categorização em grupos A e B pudesse ter sido utilizada.

Assim, a sazonalidade das doenças agudas do aparelho respiratório inferior e a ocorrência de infecções por VSR observadas neste estudo, embora apresente algumas variações, estão de acordo com outros estudos brasileiros.<sup>(56,58,71,77-81)</sup>

Neste estudo, nas 290 internações de DARI estudadas durante 19 meses, o VSR foi positivo em 29,3% dos casos. Na literatura o trabalho com características semelhantes a este é o de Costa *et al.*<sup>(77)</sup> que avaliando 379 internações por DARI em crianças menores de 5 anos de Uberlândia, MG, no período de 2001 a 2004, região de clima similar ao nosso, encontraram positividade do VSR em 26,4% dos casos.

O percentual de isolamento viral de crianças com doença do aparelho respiratório inferior está associado ao quadro clínico avaliado.<sup>(56,82)</sup> Nesta pesquisa, nas pneumonias com derrame pleural o VSR foi encontrado em 26% dos casos, enquanto nas bronquiolites esse vírus foi detectado em 64% dos casos. Esses achados estão de acordo com a literatura.<sup>(56,83,84)</sup> Também a fase evolutiva da doença tem importância na fração de casos com isolamento viral obtido, sendo o percentual maior nos primeiros dias de infecção respiratória.<sup>(56,85)</sup> Neste estudo, a realização da coleta de secreção da nasofaringe nas primeiras 36 horas de internação pode ter contribuído para que identificação de casos positivos fosse bem-sucedida.

A taxa de isolamento viral depende também de adequada padronização e técnica de coleta de amostras, assim como o transporte e processamento dos materiais, como as que foram adotadas neste estudo.<sup>(86)</sup>

No presente trabalho, a utilização da técnica de RT-PCR contribuiu para a identificação segura do VSR. Apesar dessa técnica não ser tão rápida como a imunofluorescência, é mais sensível (sensibilidade de 95-100%) e específica (especificidade maior que 97%), porém de custo elevado e, em geral, não disponível na prática clínica.<sup>(34-36)</sup>

Vários trabalhos têm demonstrado que o VSR é freqüente causador de infecções respiratórias agudas em crianças menores de 5 anos, com incidência atingindo 21 a 68% dos casos investigados.<sup>(57,58,73,76,77,81,87)</sup> Essa ampla variação pode ser explicada tomando-se como base as diferentes metodologias empregadas no diagnóstico, local de estudo, doenças estudadas, duração do estudo, período do ano, idade dos pacientes incluídos, número de amostras, local de atendimento e internação dos pacientes.

Nesta pesquisa, à internação alguns sinais como falta de ar, sibilância e retração intercostal foram freqüentes. Entretanto, esses dados clínicos não se associaram à presença de infecção pelo VSR. Nas infecções por VSR+ em que as crianças apresentavam sibilância houve aumento da freqüência do VSR com o aumento da idade.

Na literatura, falta de ar e sibilância são relatados por diversos autores em crianças com DARI. Kabra *et al.*<sup>(88)</sup> em estudo com 200 crianças menores de 5 anos encontraram como freqüentes a presença de roncos e falta de ar em crianças com VSR+. Serafino *et al.*<sup>(73)</sup> em dois anos de estudo de

hospitalizações de crianças menores de 5 anos verificaram distribuição similar de tosse, coriza e falta de ar. Em estudo com 126 crianças menores de 2 anos Miyao *et al.*<sup>(56)</sup> constataram ação patogênica preferencial do VSR sobre os brônquios, a partir do encontro do agente em 72,2% das 72 crianças que apresentavam sibilos pulmonares. D'Elia *et al.*<sup>(89)</sup> encontraram sibilância em 86% dos seus pacientes VSR+. Em todos esses trabalhos os sinais clínicos apresentados também não foram suficientes para a identificação da infecção pelo VSR.

Com relação à bronquiolite, os resultados mostraram que dentre as crianças que tiveram essa doença, o VSR esteve presente em 64% dos casos, sendo 62,5% dos casos em menores de 1 ano. Esses dados indicam que esse agente viral foi o principal causador de infecções do aparelho respiratório inferior. Esses achados também foram encontrados por diversos autores.<sup>(47,56,71,77,87,90)</sup>

No presente estudo, nos casos de pneumonia as infecções por VSR+ tiveram ocorrência semelhante em relação à faixa etária, contrariando a literatura. Na maioria dos trabalhos a infecção pelo VSR é associada à ocorrência de pneumonia em crianças menores de 2 anos.<sup>(18,25,27)</sup> Parrott *et al.*<sup>(74)</sup> analisando crianças hospitalizadas com infecção pelo VSR, observaram que a incidência de pneumonia diminuiu com o aumento da idade.

Nesta investigação, o fato de que 35% das infecções pelo VSR ocorreram em crianças menores de 1 ano mostra, como na literatura, que pacientes nessa faixa etária são mais vulneráveis a essas infecções.<sup>(70)</sup>

No presente trabalho não houve associação entre alterações nos exames radiográficos e etiologia da infecção viral. Esse resultado é concordante com Bordley *et al.*<sup>(38)</sup>, que em revisão sistemática sobre diagnóstico da bronquiolite causada pelo VSR, ressaltaram que a indicação e utilidade do exame radiográfico de tórax, hemograma completo e testes de isolamento do VSR necessitam de mais estudos.<sup>(38)</sup>

Por outro lado, Vieira *et al.*<sup>(47)</sup> verificaram que a maioria dos pacientes com infecção pelo VSR apresentou na radiografia de tórax mais envolvimento bronquial / bronquiolar que alveolar isolado e, que poucos casos tiveram envolvimento intersticial como relatado na literatura.<sup>(91,92)</sup>

Com relação à mortalidade, apesar das doenças agudas do aparelho respiratório inferior serem responsáveis por elevados índices de morbidade e mortalidade infantil em todo o mundo,<sup>(3,6)</sup> no presente estudo observou-se 1 óbito de uma criança com 3 meses de idade VSR- internada com quadro de pneumonia e cardiopatia congênita, que evoluiu com insuficiência respiratória, insuficiência renal, choque séptico e parada cardíaca após 2 meses de hospitalização.

Finalmente, no presente estudo observou-se que uma parcela significativa das doenças graves do aparelho respiratório inferior em crianças hospitalizadas, está associada à infecção pelo VSR, como descrito para a população de diferentes países. Esses achados indicam a necessidade de desenvolver medidas profiláticas adequadas às crianças mais jovens, grupo mais acometido.

Essa pesquisa mostrou que os critérios clínicos e radiológicos não foram suficientes para fornecer a etiologia da infecção por VSR. Estudos em outras localidades, incluindo de preferência pacientes atendidos nas emergências e hospitalizados, seriam importantes para determinar variações regionais do comportamento clínico e epidemiológico do VSR, uma vez que em nosso país existem poucos trabalhos sobre o tema.

Neste estudo as crianças receberam antibióticos com frequências elevadas antes e durante a hospitalização, semelhante nos grupos VSR+ e VSR-. Na prática clínica diária os antibióticos são prescritos com frequência, havendo uso descontrolado dos mesmos.<sup>(6,29,93,94)</sup> O uso inadequado desses medicamentos pode causar superinfecção bacteriana em crianças com infecções virais, origina formas resistentes de bactérias, aumenta a ocorrência de efeitos colaterais e eleva os custos do tratamento.<sup>(29,46,52,94)</sup> Existe a necessidade de utilização da técnica RT-PCR para identificar a infecção viral. Apesar dessa técnica ser muito cara e demorada, é altamente sensível e específica. Considerando que o quadro clínico e os resultados dos exames radiográficos e laboratoriais não identificaram as crianças com infecção pelo VSR, o uso de quantidade excessiva de antibióticos confirma a necessidade de mais pesquisas sobre a relevância do diagnóstico viral e seu respectivo tratamento medicamentoso.

A investigação laboratorial demonstrou ser importante para a identificação do VSR nas doenças do aparelho respiratório inferior nas crianças hospitalizadas de São José do Rio Preto, SP. Entretanto, esforços contínuos são necessários para consolidar vigilância epidemiológica dos principais vírus

que afetam as crianças. Este estudo representa a primeira informação da região de São José do Rio Preto em crianças hospitalizadas com infecção respiratória.

## 5. CONCLUSÕES

---

## **5. CONCLUSÕES**

Com base nos resultados obtidos, pôde-se chegar às seguintes conclusões:

1. A freqüência do vírus sincicial respiratório (VSR) em crianças de 0 a 6 anos hospitalizadas por doença aguda do aparelho respiratório inferior em São José do Rio Preto, SP, foi 29,3%;
2. As internações por doenças agudas do aparelho respiratório inferior foram mais freqüentes entre junho e novembro de 2004. Em 2005, as internações ocorreram principalmente a partir de março, com queda em setembro;
- 3.a Houve predomínio do VSR em crianças de 0 a 2 anos, crianças do gênero masculino e naquelas com bronquiolite. A freqüência do VSR nas internações foi maior em 2004 que em 2005;
- 3.b Nas infecções VSR+ os casos de pneumonia tiveram ocorrência semelhante nas faixas etárias estudadas. Houve redução da freqüência do VSR com aumento da idade nos casos de pneumonia com derrame pleural e aumento nos casos de sibilância aguda; na bronquiolite a maioria dos casos VSR+ ocorreu em crianças menores de 1 ano;
- 3.c Os dados clínicos e radiológicos encontrados não permitiram a identificação correta da infecção pelo VSR, havendo necessidade do exame laboratorial pela técnica RT-PCR para sua identificação.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hilman BC. Clinical assessment of pulmonary disease in infants and children. In: Hilman BC, editor. Pediatric respiratory disease: diagnosis and treatment. Cidade: W.B. Saunders Company; 1993. p. 57-67.
2. Berman S. Epidemiology of acute respiratory infections in children of developing countries. Rev Infec Dis 1991; 13:454-62.
3. WHO. Management of childhood illness. Geneva: World Health Organization; 1995.
4. Holman RC, Shay DK, Curns AT, Lingappa JR, Anderson LJ. Risk factors for bronchiolitis-associated deaths among infants in the United States. Pediatr Infect Dis J 2003; 22:483-9.
5. Iwane MK, Edwards KM, Szilagyi PG, Walker FJ, Griffin MR, Weinberg GA, *et al.* Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. Pediatrics 2004; 113:1758-64.
6. Chidgey SM, Broadley KJ. Respiratory syncytial virus infections: characteristics and treatment. J Pharm Pharmacol 2005; 57:1371-81.

7. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de normas para infecção respiratória aguda. Sociedades Brasileiras de Pediatria e Pneumologia; 1991.
8. OPAS/OMS. Infecciones respiratorias agudas en las Américas. Washington; 1992.
9. Simões EAF. Respiratory syncytial virus infection. *Lancet* 1999; 354:847-52.
10. Schlesinger C, Koss MN. Bronchiolitis: update 2001. *Curr Opin Pulm Med* 2002; 8:112-6.
11. Welliver RC. Respiratory syncytial virus and other respiratory viruses. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22(Supl):6-12.
12. Greenough A. Respiratory syncytial virus infection: clinical features, management, and prophylaxis. *Curr Opin Pulm Med* 2002; 8:214-7.
13. Sinaniotis CA. Viral pneumoniae in children: incidence and aetiology. *Paediatr Respir Rev* 2004; 5(Supl):197-200.
14. Subcommittee on Diagnosis and Management of Bronchiolitis. Diagnosis and Management of Bronchiolitis. *Pediatrics* 2006; 118: 1774-1793.

15. CEPAL. Comisión Económica para América Latina y el Caribe. Anuário estadístico de América latina y el Caribe, 2006. Disponível em: <http://www.eclac.org/estadisticas>. Acessado em: 06/07/2007.
16. Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS, 2006. Disponível em <http://www.datasus.gov.br>. Acessado em: 06/07/2007.
17. SEADE. Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados. Mortalidade Infantil no Estado São Paulo em 2006. Disponível em: <http://www.seade.gov.br/produtos/spdemog/ago2007/>. Acessado em: 10/09/2007.
18. Collins CL, Pollard AJ. Respiratory syncytial virus infection in children and adults. *J Infect* 2002; 45:10-17.
19. Ogra PL. Respiratory syncytial virus: the virus, the disease and the immune response. *Paediatr Respir Rev* 2004; 5(Supl):119-26.
20. Brooks GF, Butel JS, Morse SA, Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Microbiologia médica*. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
21. Santos NTO, Ramanos MTV, Wigg MD. *Introdução à virologia humana*. Rio de Janeiro: Guanabara; 2002.

22. Bricks LF. Prevention of respiratory syncytial virus infections. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 2001; 56:79-90.
23. Yusuf S, Piedimonte G, Auais A, Demmler G, Krishnan S, Welliver R, *et al.* The relationship of meteorological conditions to the epidemic activity of respiratory syncytial virus. *Epidemiol Infect* 2007; 135:1077-90.
24. Guthrie EW. Common pediatric respiratory illnesses. *US Pharm* 2005; 7(Supl):2-8.
25. Malhotra A, Krilov LR. Influenzae and respiratory syncytial virus: update on infection, management, and prevention. *Pediatr Clin North Am* 2000; 47:353-72.
26. Weissembacher MC, Ávila MM. Os vírus como causa de IRA alta e baixa em crianças: características gerais e diagnóstico. In: Benguigui Y, Schmunis G, Yunes J, editores. *Infecções respiratórias em crianças*. Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; 1998. p. 91-103
27. Maggon K, Barik S. New drugs and treatment for respiratory syncytial virus. *Rev Med Virol* 2004; 14:149-68.
28. Bale JR. Creation and research program to determine the etiology and e epidemiology of acute respiratory tract infection among children in developing countries. *Rev Infect Dis* 1990; 12(Supl 18):861-6.

29. Van Woensel JBM, Van Aalderen WMC, Kimpen JLL. Viral lower respiratory tract infection in infants and young children. *BMJ* 2003; 327:36-40.
30. Ngai P, Bye MR. Bronchiolitis. *Pediatr Ann* 2002; 31:90-7.
31. Costello M, Yungbluth M. Viral infections. In: Henry JB, editor. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 19<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 1083-114.
32. Ray CG, Minnich LL. Efficiency of immunofluorescence for rapid detection of common respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1987; 25:355-7.
33. Doing KM, Jerkofsky MA, Dow EG, Jellison JAI. Use of fluorescent-antibody staining of cytocentrifuge-prepared smears in combination with cell culture for direct detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2112-4.
34. Paton AW, Paton JC, Lawrence AJ, Goldwater PN, Harris RJ. Rapid detection of respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates by reverse transcription and polymerase chain reaction amplification. *J Clin Microbiol* 1992; 30:901-4.
35. Tantivanich S, Suphanaranonda K, Balachanda K, Anderson R. Detection of respiratory syncytial virus from clinical specimens: comparison between

- reverse transcription polymerase chain reaction and tissue culture. South Asian J Trop Med Public Health 1995; 26:684-8.
36. Puppe W, Weigl JAI, Aron G, Gröndhl B, Schmitt HJ, Niesters HGM. Evaluation of a multiples reverse transcriptase PCR ELISA for the detection of nine respiratory tract pathogens. J Clin Virol 2004; 30:165-74.
37. Storch GA. Diagnostic virology. In: Fields BN, editor. Virology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raveen; 1996.
38. Bordley WC, Viswanathan M, King VJ, Sutton SF, Jackman AM, Sterling L, *et al.* Diagnosis and testing in bronchiolitis: a systematic review. Arch Pediatr Adolesc Med 2004; 158:119-26.
39. Morris JA, Blount RE, Savage RE. Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 92:544-9.
40. Channoc R, Roizman B, Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of virus related to chimpanzee coryza agent (CCA): I - Isolation properties and characterization. Am J Hyg 1957; 66:281-90.
41. Channoc R, Roizman B, Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of virus related to chimpanzee coryza agent (CCA): II - Epidemiologic aspects of infection in infants and young children. Am J Hyg.1957; 66:291-300.

42. Hacking D, Hull J. Respiratory syncytial virus: viral biology and the host response. *J Infect* 2002; 45:18-24.
43. Collins PL, Chanock RM, Murphy BR. Respiratory syncytial virus. In: Fields BN, editor. *Virology*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott-Raveen; 1996.
44. Paes BA. Current strategies in the prevention of respiratory syncytial virus disease. *Paediatr Resp Rev* 2003; 4:21-7.
45. Levinson W, Jawetz E. *Microbiologia médica e imunológica*. 4<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1998.
46. Kafetzis DA. Prophylaxis, therapy and prevention of viral respiratory infections. *Paediatr Resp Rev* 2004; 5(Supl A):185-9.
47. Vieira SE, Stewien KE, Queiroz DAO, Durigon EL, Torok TJ, Anderson LJ, *et al*. Clinical patterns and seasonal trends in respiratory syncytial virus hospitalizations in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2001; 43:125-31.
48. Denny Jr FW. The clinical impact of human respiratory virus infections. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(Supl):4-12.
49. Domachowskek JB, Rosenberg HF. Advances in the treatment and prevention os severe viral bronchiolitis. *Pediatr Ann* 2005; 34:35-41.

50. Scarfone RJ. Controversies in the treatment of bronchiolitis. *Curr Opin Pediatr* 2005; 17:62-6.
51. Panitch HB. Respiratory syncytial virus bronchiolitis: supportive care and therapies designed to overcome airway obstruction. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22(Supl):83-8.
52. Kneyber MCJ, Moll HA, Groot R. Treatment and prevention of respiratory syncytial virus infection. *Eur J Pediatr* 2000; 159:399-411.
53. Welliver RC. Respiratory syncytial virus infection: therapy and prevention. *Paediatr Respir Rev* 2004; 5(Supl A):127-33.
54. Reynolds EO, Cook CD. The treatment of bronchiolitis. *J Pediatr* 1963; 1205-7.
55. Chávez-Bueno S, Mejias A, Jafri HS, Hasan SJ, Ramilo O. Respiratory syncytial virus: old challenges and new approaches. *Pediatr Ann* 2005; 34:63-8.
56. Miyao CR, Gilio AE, Vieira SE, Hein N, Pathl MMC, Betta SL, *et al.* Infecções virais em crianças internadas por doença aguda do trato respiratório inferior. *J Ped* 1999; 75:334-44.

57. Straliootto SM, Siqueira MM, Muller RL, Fischer GB, Cunha MLT, Nestor SM. Viral etiology of acute respiratory infections among children in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2002; 35:283-91.
58. Checon RE, Siqueira MM, Lugon AK, Portes S, Dietze R. Seasonal pattern of respiratory syncytial virus in a region with a tropical climate in Southeastern Brazil. *Am J Trop Hyg* 2002; 76:490-91.
59. Stein RT, Sherill D, Morgan WJ, Holberb CJ, Halonen M, Martinez FD, *et al.* Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354:541-5.
60. IBGE. Instituto de Brasileiro de Geografia e Estatística. População brasileira: Censo 2000;. [citado 10 set 2003 31 mai 2006 20 jan 2007]. Disponível em: <http://www.ibge.com.br/>. Acessado em: 06/07/2007.
61. Simpson W, Hacking PM, Court SDM. The radiological findings in Respiratory syncytial virus infection in children. Part II. The correlation of radiological categories with clinical and virological findings. *Pediatr Radiol* 1974; 2:155-60.
62. Souza JR AS, Araujo Neto C, Jasinovodolinsky D, Marchiori E, Kavakama J, Irion KL, *et al.* Terminologia para a descrição de tomografia computadorizada do tórax. *Radiol Bras* 2002; 35:125-8.

63. National Center for Health Statistics. NCHS Growth Charts, 1976. Monthly Vital Stat Rep 1976; (Supp):1-21.
64. Peret TC, Hall CB, Hammond GW, Piedra PA, Storch GA, Sullender WM, *et al.* Circulation patterns of group A and B human respiratory syncytial virus genotypes in 5 communities in North America. J Infect Dis. 1981; 181:1896-2000.
65. Zheng H, Peret TC, Randolph VB, Crowley JC, Anderson LJ. Strain-specific reverse transcriptase PCR assay: means to distinguish candidate vaccine from wild-type strains of respiratory syncytial virus. J Clin Microbiol 1996; 34:334-7.
66. Peret TC, Hall CB, Schnabel KC, Golub JA, Anderson LJ. Circulation Patterns of genetically distinct group a and b strains of human respiratory syncytial virus in a community. J Gen Virol 1998; 79:2221-9.
67. Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD, Ray CG, Taussig LM, Lebowitz MD. Risk factors for respiratory syncytial virus-associated lower respiratory illnesses in the first year of life. Am J Epidemiol 1991; 133:1135-51.
68. Jonhson AW, Aderale WI, Osinusi K, Gbadero DA, Fagbami AH, Rotowa NA. Acute bronchilitis in tropical Africa: a hospital-based perspective in Ibadan, Nigeria. Pediatr Pulmonol 1996; 22:236-47.

69. Calegari T, Queiroz DAO, Yokosawa J, Silveira HL, Costa LF, Oliveira TFM. Clinical-epidemiological evaluation of respiratory syncytial virus infection in children attended in a public hospital in midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis* 2005; 9:156-61.
70. Queiroz DAO, Duringon EL, Botosso VF, B Ejzemberg, SE Vieira, JR Mineo. Immune response to respiratory syncytial virus in young Brazilian children. *Braz J Med Biol Res* 2002; 35:1183-93.
71. Nascimento JP, Siqueira MM, Sutmoller F, Krawczuk MM, Farias V, Ferreira V, *et al.* Longitudinal study of acute respiratory diseases in Rio de Janeiro: occurrence of respiratory viruses during four consecutive years. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1991;33:287-96.
72. Riccetto AGL, Ribeiro JD, Silva MTN, Almeida RS, Arns CW, Baracat CE. Respiratory syncytial virus (RSV) in infants hospitalized for acute lower respiratory tract disease: incidence and associated risks. *Braz J Infect Dis* 2006; 10:357-61.
73. Serafino RL, Gurgel RQ, Dove W, Hart CA, Cuevas, LE. Respiratory syncytial virus and metapneumovirus in children over two seasons with a high incidence of respiratory infections in Brazil. *Ann Trop Paediatr* 2004; 24:213-7.

74. Parrott RH, Kim HW, Arrobio JO, Hodes DS, Murphy BR, Brandt CD, *et al.* Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in Washington, D.C. II: infection and disease with respect to age, immunologic status, race and sex. *Am J Epidemiol* 1973; 98:289-300.
75. Noyola DE, Rodríguez-Moreno G, Sánchez-Alvarado J, Martínez-Wagner R, Ochoa-Zavala JR. Viral etiology of lower respiratory tract infections in hospitalized children in México. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23:118-23.
76. Cintra OAL, Owa MA, Machado AA, Cervi MC, Figueiredo LTM, Rocha GM, *et al.* Occurrence and severity of infections caused by subgroup A and B respiratory syncytial virus in children in Southeast Brazil. *J Med Virol* 2001; 65:408-12.
77. Costa LF, Yokosawa J, Mantese OC, Oliveira TFM, Silveira HL, Nepopuceno LL *et al.* Respiratory viruses in children younger than five years old with acute respiratory disease from 2001 to 2004 in Uberlândia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101:301-6.
78. Moura FEA, Nunes IFS, Silva JR GB, Siqueira M M. Respiratory syncytial virus infections in Northeastern Brazil: seasonal trends and general aspects. *Am J Trop Med Hyg* 2006; 74:165-7.

79. Straliootto SM, Nestor SM, Siqueira MM. Respiratory syncytial virus groups A and B in Porto Alegre, Brazil, from 1990 to 1995 and 1998. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96:155-8.
80. Silva RECF. Contribuição ao estudo epidemiológico do vírus sincicial respiratório na região metropolitana de Vitória, ES, Brasil [dissertação]. Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo; 1999.
81. Calegari T, Queiroz DAO, Yokosawa J, Silveira HL, Costa LF, Oliveira TFM. Clinical-epidemiological evaluation of respiratory syncytial virus infection in children attended in a public hospital in Midwestern Brazil. *Braz J Infect Dis* 2005; 9:156-61
82. Jeng MJ, Lemen RJ. Respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am Fam Physician* 1997; 55:1139-46.
83. Bousso A, Terra CM, Martins FRP, Fernandes JC, Fernandes ICOF, Ejzenberg B, *et al.* Bronquiolite: revisão. *Rev Med HU-USP* 1996; 6:15-25.
84. Cirino LMI, Otoch JP, Garcia AE, Pereira PRB, Ejzenberg B, Margarido NF, *et al.* Etiologia dos derrames pleurais de má-evolução clínica. *Rev Med HU-USP* 1997; 7:24-9.

85. Ejzenberg B, Fernandes VO, Rodrigues Neto AJ, Baldacci ER, Grisi SJ, Belizzia Neto L. Infecções por vírus, bactérias e *Mycoplasma pneumoniae* em 42 crianças internadas por pneumonia. *Pediatr (S Paulo)*1986;8:141-7.
86. Barnes S, Leclair JM, Forman MS, Townsend TR, Laughlin GM, Charache P. Comparison of nasal brush and nasopharyngeal aspirate techniques in obtaining specimens for detection of respiratory syncytial virus antigen by immunofluorescence. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8:598-601.
87. Moura FEA, Borges LC, Souza LSF, Ribeiro DH, Siqueira MM, Ramos EAG. Estudo de infecções respiratórias agudas virais em crianças atendidas em um centro pediátrico em Salvador, Brasil. *J Bras Patol Med Lab* 2003; 39:275-82.
88. Kabra SK, Broor S, Lodha R, Maitreyi RS, Ghosh M, Pandey RM, *et al.* Can we identify acute severe viral lower respiratory tract infection clinically? *Indian Pediatr* 2004; 41:245-9.
89. D'Elia C, Siqueira MM, Portes SA, Sant'Ana CC. Infecções do trato respiratório inferior pelo vírus sincicial respiratório em crianças hospitalizadas menores de um ano de idade. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:7-10.
90. Tsuchiya LRRV, Costa LMD, Raboni SM, Nogueira MB, Pereira LA, Rotta I, *et al.* Viral respiratory infection in Curitiba, Brazil. *J Infect* 2005;51:401-7.

91. Gardner PS. How etiologic, pathologic, and clinical diagnosis can be made in a correlated fashion. *Pediat Res* 1977; 11:254-61.
92. Glezen WP, Taber LH, Frank AL, Kasel JA. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child* 1986;140:543-6.
93. Spurling GK, Fonseka K, Doust J, Del Mar C. Antibiotics for bronchiolitis in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 1:CD005189.
94. Migowski E. Infecções de vias aéreas: quase um sinônimo de virose, quase sempre indicação de antibioticoterapia. *Petit* 2005; 3:19.



## 7. ANEXO

### Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.



#### **FACULDADE DE MEDICINA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO**

Autarquia Estadual - Lei n.º 8899 de 27/09/94  
(Reconhecida pelo Decreto Federal n.º 74.179 de 14/06/74)

Parecer n.º 062/2001

#### **COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

O Protocolo n.º 3777/2001 sob a responsabilidade de Paula Rahal e Eloisa Helena Tajara da Silva, com o título “Rede de diversidade genética de vírus – Estudo sincicial respiratório como causa de infecções respiratórias, Hospital de Base de São José do Rio Preto - FAMERP”, está de acordo com a Resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde e foi aprovado pelo CEP-FAMERP.

São José do Rio Preto, 11 de junho de 2001.

**PROF. DR. JOSÉ PAULO CIPULLO**  
**COORDENADOR DO CEP/FAMERP**

*Prof. Dr. Antonio Carlos Pires*  
Coordenador do CEP - FAMERP

## 8. APÊNDICES

---

## 8. APÊNDICES

Apêndice 1. Modelo Termo de Consentimento utilizado no estudo.

### Termo de Consentimento

ESTUDO DO VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO COMO CAUSA DE INFECÇÕES  
RESPIRATÓRIAS, EM HOSPITAL DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_,  
responsável pelo menor \_\_\_\_\_,  
estou sendo informado(a) e esclarecido(a) sobre a importância dos micróbios que  
causam resfriados, IVASs, infecção pulmonar e dificuldade respiratória nas  
crianças.

Esses micróbios podem ser bactérias ou vírus, que causam uma doença  
muito parecida, só que o tratamento é diferente. Para diferenciar estes 2  
micróbios, alguns exames ajudam, como o RX de tórax e o exame de sangue.

Um dos vírus mais freqüentes em crianças pequenas chama-se vírus  
sincicial respiratório.

Neste estudo, queremos saber se o vírus respiratório sincicial é freqüente e  
grave nas crianças menores de 6 anos de idade problemas respiratórios.

Para pesquisar se a criança tem o vírus, colheremos secreção do nariz,  
procedimento realizado pelo médico responsável ou enfermeira capacitada, sem  
risco para a criança. Estou ciente de que se meu filho(a) não participar deste  
estudo ele(a) receberá toda a assistência que for necessária para seu tratamento  
e, caso eu consinta com a participação no estudo, posso solicitar e obter  
informações sobre a natureza do estudo, posso retirar o consentimento a  
qualquer momento e isto não irá interferir no tratamento oferecido ao meu filho.

Concordo que as informações obtidas neste estudo sejam divulgadas, desde  
que a identidade da criança não seja revelada.

Após ter sido suficientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o  
que me foi explicado, consinto de livre e espontânea vontade em participar deste  
estudo.

São José do Rio Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

## Apêndice 2. Modelo Protocolo VSR – Quadro Geral.

**Protocolo VSR – Quadro Geral**

Nº da Ficha Epidemiológica / Estudo \_\_\_\_/\_\_\_\_

Nº do Prontuário/ na Creche/UBS/Hospital:

<b>1- Identificação</b>			
Nome:			
Data de Nascimento:	____/____/____	gênero:	Fem ( ) Masc ( )

<b>2- História de Infecções Respiratórias</b>			
Tem IVAS / resfriado todo mês?	Sim ( )	Não ( )	
Já fez uso de inalação?	Sim ( )	Não ( )	
Caso (SIM), Local:	Pronto Socorro ( )	Farmácia ( )	Casa ( )

<b>3- Presença de Chiado</b>			
Quantos episódios no último ano ?	< 3 ( )	> 3 ( )	
Idade de Início:	____anos		
Desencadeantes:	( ) IVAS ( ) Fumaça de Cigarro ( ) Poeira ( ) Mudança de Tempo Outros ( ):		

<b>4- Internações Anteriores (por infecção respiratória)</b>			
Internações anteriores :	Sim ( )	Não ( )	
Quantas vezes ? :	< 1 ano:	> 1 ano:	
Quantas vezes na UTI ?:			

<b>5- Antecedentes Pessoais e Familiares</b>			
Renda familiar:	< 1 salário ( )	1 a 3 salários ( )	3 a 10 salários ( ) mais de 10 ( )
Tipo de Parto:	( ) normal	( ) cesárea	Peso ao nascer:
Prematuro:	( ) Não	( ) Sim :	____semanas
Leite materno – sim ( ):	____meses	não ( )	Exclusivo: ____meses
Freqüente Creche?	Sim ( ) qual:	Não ( )	
Freqüente UBS?	Sim ( ) qual:	Não ( )	
Nº de pessoas em casa: ____	Nº de irmãos: ____		
Quantos dormem no mesmo quarto? ____	Nº de fumantes na casa: ____fuma dentro de casa? Sim ( ) Não ( )		
Antecedentes familiares:	( ) Asma ( ) Rinite ( ) Eczema ( ) Outras alergias		
Antecedentes pessoais:	( ) Cardiopatia ( ) Displasia Broncopulmonar ( ) F. Cística ( ) Imunodeficiências		

Data da Coleta das Informações: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data da Entrevista na Creche: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data da Saída da Creche: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Apêndice 3. Modelo Protocolo VSR – Quadro Atual.

**Protocolo VSR – Quadro Atual**

Data da colheita: ____/____/____ Local da colheita: Creche/ UBS/ Hospital Nº do Protocolo: ____/____
--

**1-) Identificação**

Nome: \_\_\_\_\_  
**Hospital:** - Data da Admissão: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Data da Alta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**2-) Diagnóstico Internação/Atendimento UBS**

: \_\_\_\_\_  
**Local de Internação:** ( ) Enfermaria ( ) UTI ( ) Berçário  
**Hospital:** - Diagnóstico Alta:

**3-) História Atual:** Data do início dos sinais da doença atual:

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sinais – no momento do atendimento hospital/UBS		
Febre	Sim ( )	Não ( )
Tosse	Sim ( )	Não ( )
Coriza	Sim ( )	Não ( )
Obstrução nasal	Sim ( )	Não ( )
Espirros	Sim ( )	Não ( )
Chiado no Peito	Sim ( )	Não ( )
Falta de Ar	Sim ( )	Não ( )
Estridor	Sim ( )	Não ( )
Apnéia	Sim ( )	Não ( )
Prurido Nasal	Sim ( )	Não ( )
Olhos Vermelhos	Sim ( )	Não ( )

Data do início dos sinais na creche: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data do final dos sinais na creche: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**4-) Medicação (para o quadro atual) em uso antes desta Internação/ antes do Atendimento UBS/no momento da coleta na Creche: ( ) Sim ( ) Não**

Caso "Sim", quais ?

Anti-térmicos	Sim ( )	Não ( )
Antibióticos	Sim ( )	Não ( )
Xaropes para tosse	Sim ( )	Não ( )
Anti-inflamatório	Sim ( )	Não ( )
Broncodilatador	Sim ( )	Não ( )
Uso de O <sub>2</sub>	Sim ( )	Não ( )

**5) Medicação prescritos durante esta Internação/ Atendimento UBS:**

B <sub>2</sub> inalatório	Sim ( )	Não ( )
Brometo ipatropium	Sim ( )	Não ( )
Corticóides	Sim ( )	Não ( )
Antibióticos	Sim ( )	Não ( )
Aminofilina	Sim ( )	Não ( )
Uso de O <sub>2</sub>	Sim ( )	Não ( )

**6-) Dados da consulta – Exame Físico: do momento da coleta**

Estado Geral	Bom ( )	Regular ( )	Ruim ( )
Peso: _____	FC _____	Estatura: _____	FR: _____
Nutrição	Normal ( )	DPC I ( )	DPC II ( )
Retrações	Sim ( )	Não ( )	Local: _____
Sibilos	Sim ( )	Não ( )	Local: _____
Estertores	Sim ( )	Não ( )	Local: _____
Cianose	Sim ( )	Não ( )	Local: _____

**7-) Anotar resultados de exames laboratoriais: colhidos no momento da internação/atendimento UBS:**

Hemograma: \_\_\_\_\_

Proteína C reativa: \_\_\_\_\_

Hemocultura: \_\_\_\_\_

Rx de Tórax: \_\_\_\_\_