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;
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

1. **Introdução** .................................................................................................................. 01
   1.1. Objetivos .................................................................................................................... 14

2. **Casuística e Método** .................................................................................................. 15
   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

3. Resultados 27

4. Discussão 48

5. Conclusões 58

6. Referências Bibliográficas 60

7. Anexos 76

8. Apêndices 78
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.


✓ Aos residentes da Pneumologia Infantil: Eliane Cristina Mizue Ono, Fábio Luría Duarte, e Rosana Sabina Fiore, Junia Maria Moraes Faleiros e Dirço Teruo Yamamoto Junior.

Aos funcionários da pós-graduação da FAMERP: Rose, José Antônio, Fabiana, Guilherme, Luis Henrique e Eduardo.

Aos colegas de pós-graduação, especialmente Luciano Garcia Lourenço.

Ao professor Renato Braz de Araújo e a Profa. Adília Sciarra.

A funcionária Juceléa 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 número total de internações no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto........................................................................................................... 36

Figura 3. Freqüência 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
Quadro 1. *Primers* 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
<table>
<thead>
<tr>
<th>Abreviatura</th>
<th>Explicação</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>≥</td>
<td>maior ou igual</td>
</tr>
<tr>
<td>BOSTID</td>
<td>Board on Science and Technology for Internacional Development</td>
</tr>
<tr>
<td>CDC</td>
<td>Centers for Disease Control and Prevention</td>
</tr>
<tr>
<td>CEPAL</td>
<td>Comisión Económica para América Latina y el Caribe</td>
</tr>
<tr>
<td>DARI</td>
<td>Doenças agudas do aparelho respiratório inferior</td>
</tr>
<tr>
<td>HB</td>
<td>Hospital de Base</td>
</tr>
<tr>
<td>IgG</td>
<td>Imunoglobulina G</td>
</tr>
<tr>
<td>IgM</td>
<td>Imunoglobulina M</td>
</tr>
<tr>
<td>IVAS</td>
<td>Infecção das Vias Aeríferas Superiores</td>
</tr>
<tr>
<td>NCHS</td>
<td>National Center Health Statistic</td>
</tr>
<tr>
<td>OMS</td>
<td>Organização Mundial de Saúde</td>
</tr>
<tr>
<td>OPAS</td>
<td>Organização Panamericana de Saúde</td>
</tr>
<tr>
<td>PCR</td>
<td>Polimerase Chain Reaction</td>
</tr>
<tr>
<td>PIB</td>
<td>Produto Interno Bruto</td>
</tr>
<tr>
<td>RT-PCR</td>
<td>Reverse transcription and polymerase chain reaction amplification</td>
</tr>
<tr>
<td>TCLE</td>
<td>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</td>
</tr>
<tr>
<td>UNESP</td>
<td>Universidade Estadual Paulista</td>
</tr>
<tr>
<td>VSR</td>
<td>Vírus Sincicial Respiratório</td>
</tr>
</tbody>
</table>
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 freqüência 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 freqüência 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 freqüentes entre junho e novembro de 2004. Em 2005, as internações ocorreram principalmente a partir de março, com queda em setembro. Houve predominio do VSR em crianças de 0 a 2 anos, do gênero masculino e com bronquiolite. A freqüência 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 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. 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 (ALRDTD) 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 ALRDTD 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 ALRDTD, RSV was positive in 29.3%. ALRDTD 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. \(^1\) Essas doenças são responsáveis por altos índices de morbidade e mortalidade infantil em todo o mundo. \(^2\)-\(^6\) 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. \(^7\),\(^8\) 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. \(^9\) Dois terços dessas mortes ocorrem em menores de 1 ano e 90% nos países em desenvolvimento. \(^3\)

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. \(^10\),\(^11\) 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. \(^12\)
Nos países em desenvolvimento, as DARI são responsáveis por 3 a 18% das crianças hospitalizadas.\textsuperscript{(13)}

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.\textsuperscript{(12)} Em crianças menores de 1 ano, o custo estimado das hospitalizações por bronquiolite supera 700 milhões de dólares ao ano.\textsuperscript{(14)} 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).\textsuperscript{(15)} 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.\textsuperscript{(16)}

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.\textsuperscript{(17)}

A letalidade por infecção primária pelo VSR em crianças saudáveis situase entre 5-20/1000, em crianças hospitalizadas entre 1 e 3%, atingindo de 20 a 78% em imunodeprimidos e portadoras de doenças cardiopulmonares.\textsuperscript{(18,19)}

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

No Brasil, o VSR predomina nas estações outono e inverno, principalmente nos meses de abril a agosto/setembro de cada ano.\(^{(22)}\)

Yusuf et al.\(^{(23)}\) 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.\(^{(24-26)}\) O principal patógeno dessas doenças em crianças é o vírus sincicial respiratório (VSR), que possui distribuição mundial.\(^{(20,24,26)}\) 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.\(^{(18,25,27)}\) 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.\(^{(25)}\) A reinfecção é freqüente e aos 2 anos 50% das crianças já foram infectadas duas vezes.\(^{(18,27)}\)

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.\(^{(6,20,24,25)}\) 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.\(^{(20)}\) 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.\(^{(25)}\)

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.\(^{(13)}\) 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.\(^{(13,20)}\)

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.\(^{(28)}\) 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.\textsuperscript{(18,19,25,29,30)} Em até 1 semana, geralmente ocorre melhora no quadro clínico, exceto em casos mais graves.\textsuperscript{(13,26)}

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.\textsuperscript{(18)} 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%.\textsuperscript{(18)} A identificação do VSR por esse método leva de 4 a 14 dias, dificultando a sua utilização clínica.\textsuperscript{(18,31)}

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%.\textsuperscript{(32)} 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.\textsuperscript{(31,33)}

A técnica de \textit{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.\textsuperscript{(34-36)} 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.\textsuperscript{(34,35,37)} Na prática clínica, a maior parte dos diagnósticos de DARI
Introdução

por VSR é presumida por meio da apresentação clínica e do período epidêmico anual.º

O VSR foi descoberto em 1956 por Morris et al.º 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.º

Channoc et al.º 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 crupê. 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.º, 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.º
O genoma do VSR é composto por RNA de fita simples *sense* negativa, não segmentada, com cerca de 15.200 nucleotídeos.\(^{(42)}\) Possui 1 único RNA que codifica 10 proteínas e é transcrito em mRNAs poliadenilados monocistrônicos.\(^{(42)}\)

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.\(^{(11)}\) 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.\(^{(11,43)}\)

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.\(^{(11,43)}\)

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.\(^{(44)}\) O genótipo A está associado a uma maior gravidade da doença.\(^{(11,29,44)}\)

O VSR infecta predominantemente células epiteliais respiratórias da cavidade nasal e vias aeríferas inferiores.\(^{(42)}\) 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
Introdução

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.\(^{(19,45)}\)

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.\(^{(9)}\) 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.\(^{(18,44)}\) 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.\(^{(44,46)}\)

O VSR provoca infecções hospitalares em berçários e enfermarias pediátricas.\(^{(20)}\) 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.\(^{(20)}\)
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 bronquiolos terminais e alvéolos (bronquiolite).\(^{(9)}\)

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.\(^{(11,47)}\) Fatores ambientais como aglomerações e exposição passiva ao tabaco também estão associados com o desenvolvimento de doenças mais graves.\(^{(11,47)}\) 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.\(^{(11,47,48)}\)

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.\(^{(11,18)}\)

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.\(^{(6,14,18,29,46,49-51)}\)

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.\(^{(52-54)}\)

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.\(^{(6,14,46,52,53)}\) 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.\(^{(6,14,29,46,49-53,55)}\)

Pesquisas experimentais recentes estão avaliando outros agentes terapêuticos, incluindo antagonistas de leucotrienos, óxido nítrico, heliox, desoxiribonuclease recombinante humana, surfactantes e novos compostos antivirais.\(^{(6,27,53,55)}\)

A necessidade de uma vacina anti-VSR segura e eficaz motiva intensa pesquisa nessa área, embora nenhuma vacina esteja ainda disponível para uso clínico.\(^{(27,49,55)}\)

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.\(^{(19,29)}\) Surtos nosocomiais podem ser limitados pelo uso de jalecos, luvas, máscaras e adequada lavagem das mãos pelos cuidadores e profissionais da saúde.\(^{(19,21,29)}\)
No Brasil, estudos prospectivos realizados em crianças hospitalizadas mostram diferentes frequências de ocorrência do VSR. Miyao et al.\(^{(56)}\) 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.\(^{(47)}\) 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.

Straliotto et al.\(^{(57)}\) 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 nasofaringeo. 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.\textsuperscript{(58)} 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 significante impacto na função das vias aeríferas. Stein et al.\textsuperscript{(59)}, 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 freqüência 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.\(^{(60)}\)

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 frequência 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.\(^{(3)}\) 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: \(^{(61,62)}\) 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 lobar e sinais de efusão pleural em sua análise).

As doenças agudas do aparelho respiratório inferior foram classificadas de acordo com os critérios abaixo:\(^{(3,61,62)}\)

- **Pneumonia**: ausculta pulmonar alterada com crepitações, roncos e/ou sibilos acompanhados de um ou mais dos sinais: tosse, febre, taquipnéia (> 50 m/min) 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\(^{63}\), história clínica (diagnóstico, antecedentes pessoais e familiares história doença atual e pregressa, 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, freqüência respiratória, freqüência cardíaca, auscultação 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 Nasofaringea

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 4ºC. 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 –80ºC para posterior cultura de células. Às duas alíquotas restantes foram adicionados 750µl de Trizol-LS (GIBCO) e o material foi estocado em freezer –70ºC 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 4ºC. 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 4ºC. 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 ressuspensão 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Primer</th>
<th>Posição</th>
<th>Seqüência (5’-3’)</th>
<th>Referência</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>F1AB (-)</td>
<td>3-22 – proteína F</td>
<td>CAACTCCATTGTTATTTGCC</td>
<td>Peret et al.(64)</td>
</tr>
<tr>
<td>FV (-)</td>
<td>163-186 – proteína F</td>
<td>GTTATGACACTGGTATAC</td>
<td>Zeng et al.(65)</td>
</tr>
<tr>
<td>GAB (+)</td>
<td>504-524 - proteína G</td>
<td>YCAYTTTGAGTGTTCAACTT</td>
<td>Peret et al.(66)</td>
</tr>
</tbody>
</table>
PCR

A amplificação foi efetuada em solução contendo 5,0µl de tampão (Tris-HCl 75Mm, KCl 50Mm, (NH₄)₂ SO₄ 20Mm), 1,5µl de MgCl₂ 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 H₂O, 5µl de tampão 10X, 1,5µl (1,5mM) de MgCl²⁺ 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 95ºC, 40 ciclos de 1 minuto a 94ºC, 1 minuto a 55ºC e 1 minuto a 72ºC além de 7 minutos a 72ºC para extensão final. Ao término desta etapa as amostras eram mantidas a 10ºC 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 3µl de PCR Dye (Azul de Bromofenol, Xileno Cianol e Glicerol) e 5µl 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 µg/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 significante valor-p menor ou igual a 0,05.
3. RESULTADOS
3. **RESULTADOS**

3.1. **Caracterização da Amostra**


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 freqüências 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 significante foi parto cesariana (valor-p = 0,04), mais freqüente nas crianças com VSR positivo. Embora a diferença não tenha sido significante (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.

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

* 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). 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.

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

* 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.

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

* 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 freqüência 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.

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

* 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 frequentes 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 do 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 número total de internações no período de maio/2004 a setembro/2005, São José do Rio Preto.
Figura 3. Freqüência 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 frequência de internações por VSR, considerando diagnóstico de internação. Nota-se que o VSR foi mais frequente em episódios de bronquiolite (64%) e menos frequente em episódios de crianças com sibilância aguda (16,2%).

Tabela 5. Características por diagnóstico e frequência 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Diagnóstico</th>
<th>Total</th>
<th>VSR positivo</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>N</td>
</tr>
<tr>
<td>Pneumonia</td>
<td>141</td>
<td>34</td>
</tr>
<tr>
<td>Pneumonia + Derrame pleural</td>
<td>31</td>
<td>8</td>
</tr>
<tr>
<td>Crianças com Sibilância Aguda</td>
<td>68</td>
<td>11</td>
</tr>
<tr>
<td>Bronquiolite</td>
<td>50</td>
<td>32</td>
</tr>
</tbody>
</table>
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 frequente 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.
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.

* Apenas 2 casos; ** Apenas 4 casos
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 significante 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Variáveis</th>
<th>Total N=290</th>
<th>Internações VSR+ N=85</th>
<th>Internações VSR− N=205</th>
<th>Valor-p*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>n(%)</td>
<td>n (%)</td>
<td>n (%)</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Febre</td>
<td>264 (91,0)</td>
<td>74 (87,1)</td>
<td>190 (92,7)</td>
<td>0,13</td>
</tr>
<tr>
<td>Tosse</td>
<td>270 (93,1)</td>
<td>75 (88,2)</td>
<td>195 (95,4)</td>
<td>0,04</td>
</tr>
<tr>
<td>Coriza</td>
<td>180 (62,1)</td>
<td>52 (61,2)</td>
<td>128 (62,4)</td>
<td>0,84</td>
</tr>
<tr>
<td>Obstrução nasal</td>
<td>119 (41,0)</td>
<td>34 (40)</td>
<td>85 (41,5)</td>
<td>0,82</td>
</tr>
<tr>
<td>Espirro</td>
<td>102 (35,2)</td>
<td>29 (34,1)</td>
<td>73 (35,6)</td>
<td>0,81</td>
</tr>
<tr>
<td>Prurido nasal</td>
<td>13 (4,5)</td>
<td>5 (5,9)</td>
<td>8 (3,9)</td>
<td>0,53</td>
</tr>
<tr>
<td>Olhos vermelhos</td>
<td>44(15,2)</td>
<td>9 (10,6)</td>
<td>35 (17,1)</td>
<td>0,16</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**Estado geral**

<table>
<thead>
<tr>
<th></th>
<th>Total n=290</th>
<th>Internações VSR+ N=85</th>
<th>Internações VSR− N=205</th>
<th>Valor-p*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Bom</td>
<td>224 (77,2)</td>
<td>70 (82,4)</td>
<td>154 (75,1)</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Regular</td>
<td>64 (21,1)</td>
<td>14 (16,5)</td>
<td>50 (24,4)</td>
<td>0,28</td>
</tr>
<tr>
<td>Ruim</td>
<td>2 (0,7)</td>
<td>1 (1,2)</td>
<td>1 (0,5)</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

* 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 frequentes 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 significante 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.

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

* 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.

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

* 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 β2 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.

<table>
<thead>
<tr>
<th>Variáveis</th>
<th>Total N=290</th>
<th>Internações VSR+ N=85</th>
<th>Internações VSR – N=205</th>
<th>Valor-p*</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>n (%)</td>
<td>n (%)</td>
<td>n (%)</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>β₂ adrenérgico</td>
<td>252 (86,9)</td>
<td>69 (81,2)</td>
<td>183 (89,3)</td>
<td>0,06</td>
</tr>
<tr>
<td>Brometo de ipratrópio</td>
<td>252 (86,9)</td>
<td>69 (81,2)</td>
<td>183 (89,3)</td>
<td>0,06</td>
</tr>
<tr>
<td>Corticóide</td>
<td>188 (64,8)</td>
<td>56 (65,9)</td>
<td>132 (64,4)</td>
<td>0,81</td>
</tr>
<tr>
<td>Antibiótico</td>
<td>227 (78,3)</td>
<td>67 (78,8)</td>
<td>160 (78,0)</td>
<td>0,88</td>
</tr>
<tr>
<td>Aminofilina</td>
<td>04 (1,4)</td>
<td>0 (0,0)</td>
<td>4 (2,0)</td>
<td>0,33</td>
</tr>
<tr>
<td>Oxigênio</td>
<td>244 (84,1)</td>
<td>66 (77,6)</td>
<td>178 (86,8)</td>
<td>0,05</td>
</tr>
<tr>
<td>Drogas anti-refluxo</td>
<td>42 (14,5)</td>
<td>10 (11,8)</td>
<td>32 (15,6)</td>
<td>0,40</td>
</tr>
</tbody>
</table>

* 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 significante 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.

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

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 significante.

Com relação ao gênero, o resultado desta pesquisa é concordante com a literatura. Holberg et al.\(^{(67)}\) 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.\(^{(68)}\) 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.\(^{(69)}\) em estudo semelhante ao nosso, encontraram leve aumento na freqüência do gênero masculino (52,6%), a qual já foi reportada previamente.\(^{(47,56,70\text{-}72)}\)

No entanto, Serafino et al.\(^{(73)}\) 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
significamente maior de meninos foi hospitalizada por pneumonia, bronquiolite e laringo-bronquite causadas pelo VSR.\(^{(74)}\)

Noyola \textit{et al.}\(^{(75)}\) 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 significante 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 \textit{et al.}\(^{(47)}\) encontraram predominância significante do VSR entre crianças com idade inferior a 1 ano (54,1\%), principalmente nos recém-nascidos (92,9\%). A frequência do VSR diminuiu com o aumento da idade, não sendo encontrado esse vírus em crianças acima de 3 anos.

Checon \textit{et al.}\(^{(58)}\) analisando 406 amostras de secreção de nasofaringe em crianças menores de 5 anos internadas com DARI, constataram alta frequência 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.\(^{(47,58)}\)

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.\(^{(47,58)}\)

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 frequente em VSR+ em relação a VSR-. Apesar do pequeno tamanho da amostra analisada, a maior frequência de VSR+ indica que essas crianças devem ter atenção especial, pois apresentam elevado risco de infecção grave.\(^{(11,18)}\)

Nesta pesquisa, as infecções por VSR ocorreram com maior frequência 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.,\(^{(76)}\) em Vitória, ES, por Checon et al.,\(^{(58)}\) e Uberlândia, MG, por Costa et al.\(^{(77)}\)

Os resultados de estudos realizados nas cidades de São Paulo\(^{(56)}\) e Rio de Janeiro\(^{(71)}\) 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.\(^{(78)}\) 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, Straliotto et al.\(^{(79)}\) 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
Discussão

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.\textsuperscript{56,58,71,77-81}

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.\textsuperscript{77} 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.\textsuperscript{56,82} 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.\textsuperscript{56,83,84} 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.\textsuperscript{56,85} 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.\(^{(86)}\)

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.\(^{(34-36)}\)

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.\(^{(57,58,73,76,77,81,87)}\) 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.\(^{(88)}\) 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.\(^{(73)}\) 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.\(^{56}\) 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.\(^{89}\) 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.\(^{47,56,71,77,87,90}\)

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.\(^{18,25,27}\) Parrott et al.\(^{74}\) 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.\(^{70}\)
No presente trabalho não houve associação entre alterações nos exames radiográficos e etiologia da infecção viral. Esse resultado é concordante com Bordley et al.\(^{(38)}\), 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.\(^{(38)}\)

Por outro lado, Vieira et al.\(^{(47)}\) 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.\(^{(91,92)}\)

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,\(^{(3,6)}\) 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.
Discussão

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. O uso inadequado desses medicamentos pode causar superinfeção bacteriana em crianças com infecções virais, origina formas resistentes de bactérias, aumenta a ocorrência de efeitos colaterais e eleva os custos do tratamento. 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

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


35. Tantivanich S, Suphanaranonda K, Balachanda K, Anderson R. Detection of respiratory syncytial virus from clinical specimens: comparison between


7. ANEXO

Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.

FACULDADE DE MEDICINA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

Assunção 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 nº. 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

Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416 - 15090-000 - São José do Rio Preto - SP - Brasil
Tel: (17) 3281-4711 - Fax: (17) 3299-8294 - www.famerp.br
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 frequentes em crianças pequenas chama-se vírus sincicial respiratório.

Neste estudo, queremos saber se o vírus respiratório sincicial é frequente 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

### Protocolo VSR – Quadro Geral

<table>
<thead>
<tr>
<th>Nº da Ficha Epidemiológica / Estudo /</th>
<th>Nº do Prontuário/ na Creche/UBS/Hospital:</th>
</tr>
</thead>
</table>

### 1- Identificação

<table>
<thead>
<tr>
<th>Nome:</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Data de Nascimento: / /</td>
</tr>
<tr>
<td>gênero: Fem ( ) Masc ( )</td>
</tr>
</tbody>
</table>

### 2- História de Infecções Respiratórias

<table>
<thead>
<tr>
<th>Tem IVAS / resfriado todo mês?</th>
<th>Sim ( ) Não ( )</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Já fez uso de inalação?</td>
<td>Sim ( ) Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Caso (SIM), Local: Pronto Socorro ( ) Farmácia ( ) Casa ( )</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### 3- Presença de Chiado

<table>
<thead>
<tr>
<th>Quantos episódios no último ano?</th>
<th>&lt; 3 ( ) &gt; 3 ( )</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Idade de Início: anos</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Desencadeantes: IVAS ( ) Fumaça de Cigarro ( ) Poeira ( ) Mudança de Tempo Outros ( )</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

### 4- Internações Anteriores (por infecção respiratória)

| Internações anteriores: Sim ( ) Não ( ) |
| Quantas vezes?: < 1 ano: > 1 ano: |
| Quantas vezes na UTI?: |

### 5- Antecedentes Pessoais e Familiares

| Renda familiar: < 1 salário ( ) 1 a 3 salários ( ) 3 a 10 salários ( ) mais de 10 ( ) |
| Tipo de Parto: normal ( ) cesária ( ) Peso ao nascer: |
| Prematuro: Não ( ) Sim: semanas |
| Leite materno – sim ( ): meses não ( ) Exclusivo: meses |
| Freqüenta Creche? Sim ( ) qual: Não ( ) |
| Freqüenta UBS? Sim ( ) qual: Não ( ) |
| Nº de pessoas em casa: Nº de irmãos: |
| 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: / / |

**Protocolo VSR – Quadro Atual**

<table>
<thead>
<tr>
<th>Data da colheita: <em><strong><strong>/</strong></strong></em>/________</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Local da colheita: Creche/ UBS/ Hospital</td>
</tr>
<tr>
<td>Nº do Protocolo: <em><strong><strong>/</strong></strong></em>___</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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: _____/____/______

<table>
<thead>
<tr>
<th>Sinais – no momento do atendimento hospital/UBS</th>
<th></th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Febre</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Tosse</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Coriza</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Obstrução nasal</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Espirros</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Chiado no Peito</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Falta de Ar</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Estridor</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Apnéia</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Prurido Nasal</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Olhos Vermelhos</td>
<td>Sim ( )</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>Não ( )</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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 ?

<table>
<thead>
<tr>
<th>Medicação</th>
<th>Sim ( )</th>
<th>Não ( )</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Anti-térmicos</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Antibióticos</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Xaropes para tosse</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Anti-inflamatório</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Broncodilatador</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Uso de O2</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

5) Medicação prescritos durante esta Internação/ Atendimento UBS:

<table>
<thead>
<tr>
<th>Medicação</th>
<th>Sim ( )</th>
<th>Não ( )</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>B2 inalatório</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Brometo ipatropium</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Corticóides</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Antibióticos</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Aminofilina</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Uso de O2</td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

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

<table>
<thead>
<tr>
<th>Estado Geral</th>
<th>Bom ( )</th>
<th>Regular ( )</th>
<th>Ruim ( )</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Peso: FC</td>
<td>Estatura: FR:</td>
<td>Temperatura:</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>Nutrição</td>
<td>Normal ( )</td>
<td>DPC I ( )</td>
<td>DPC II ( )</td>
</tr>
<tr>
<td>Retrações</td>
<td>Sim ( )</td>
<td>Não ( )</td>
<td>Local:</td>
</tr>
<tr>
<td>Sibilos</td>
<td>Sim ( )</td>
<td>Não ( )</td>
<td>Local:</td>
</tr>
<tr>
<td>Estertores</td>
<td>Sim ( )</td>
<td>Não ( )</td>
<td>Local:</td>
</tr>
<tr>
<td>Cianose</td>
<td>Sim ( )</td>
<td>Não ( )</td>
<td>Local:</td>
</tr>
</tbody>
</table>

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

Hemograma: ____________________________________________________________
Proteína C reativa: ____________________________________________________
Hemocultura: __________________________________________________________
Rx de Tórax: __________________________________________________________